

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2016

VERONIKA BÁRTOVÁ



**Biodostupnost rtuti ve vysoce kontaminovaných
půdách a její přestup do hub**

Diplomová práce

Vedoucí práce:

doc. Mgr. Pavlína Pelcová, Ph.D.

Vypracovala:

Bc. Veronika Bártová

Zde bude vloženo zadání

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Biodostupnost rtuti ve vysoce kontaminovaných půdách a její přestup do hub vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne: 28. 4. 2016

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí mé diplomové práce doc. Mgr. Pavlíně Pelcové, Ph.D. za její odborné vedení, cenné rady a připomínky, trpělivost a vstřícnost, které mi pomohly při vypracovávání závěrečné práce.

Také děkuji Ing. Petře Vičarové, která mi pomáhala při práci v laboratoři a se zpracováním výsledků.

V neposlední řadě patří poděkování mé rodině a mým nejbližším za podporu během celého studia.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá biodostupností rtuti ve vysoce kontaminovaných půdách odebraných v lokalitě Jedová hora v Brdské vrchovině a jejím přestupem do hub.

Teoretická část se zabývá charakteristikou rtuti, její toxicitou a výskytem v životním prostředí se zaměřením na obsah rtuti v půdě a přestup rtuti do bioty (hub a mechů).

V praktické části je shrnuta vlastní analýza stanovení rtuti pomocí jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru AMA 254 a mobilních forem rtuti technikou difúzního gradientu v tenkém filmu – DGT.

Průměrné množství rtuti se v odebraných vzorcích půd pohybovalo v rozmezí $1,25 \pm 0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ – $276,18 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$. Z půdy do půdního roztoku přecházelo pouze 0,01 – 0,09 % rtuti. Z půdního roztoku bylo pro DGT jednotky a tedy i pro biotu dostupné pouze 0,10 – 4,47 % rtuti. Obsah rtuti v půdním roztoku ($r = 0,861$) i mobilních forem rtuti ($r = 0,980$) v půdách statisticky významně koreloval s celkovým obsahem rtuti v půdách i s celkovým obsahem síry v půdách ($r = 0,931$). Nejvyšší koncentrace rtuti v houbách byla stanovena u Holubinky sesterské (*Russula sororia* Fr.) $12,490 \pm 2,439 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny, u mechů byla nejvyšší koncentrace rtuti stanovena u Ploníku ztenčeného (*Polytrichum formosum*) $0,420 \pm 0,111 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny.

Klíčová slova:

Atomový absorpční spektrometr AMA 254, technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT), houby, mechy, půda, rtuť

ABSTRACT

This diploma thesis deals with bioavailability of mercury in high contaminated soils collected in the Jedová hora in the Brdská vrchovina and their change to mushrooms.

Theoretical part deals with parameters of mercury, its toxicity and appearance in Environment with focus on mercury content in the soil and change of mercury to the biota (to mushrooms and mosses).

In practical part was summarized own analysis of mercury assessment with assistance of dedicated atomic absorption spectrometer AMA 254 and mobile form of mercury by technology of diffuse gradient in thin film – DGT.

Average amount of mercury in collected samples of the soil moved between $1,25 \pm 0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ – $276,18 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$. From the soil to the soil solution passed only 0,01 – 0,09 % of mercury. From the soil solution was for DGT units, therefore for biota, available only 0,10 – 4,47 % of mercury. The mercury content in the soil solution ($r = 0,861$) and mobile forms of mercury ($r = 0,980$) in the soils significantly correlated with the total mercury content in soils and also with the total sulphur content in the soils ($r = 0,931$).

The highest concentration of mercury in mushrooms was detected in dry matter of Holubinka sestorská (*Russula sororia* Fr.) $12,490 \pm 2,439 \text{ mg.kg}^{-1}$ and highest concentration of mercury in mosses was measured in dry matter of Ploník ztenčený (*Polytrichum formosum*) $0,420 \pm 0,111 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Keywords:

Atomic absorption spectrometer AMA 254, Diffusive Gradients in Thin Films technique (DGT), mushrooms, mosses, soil, mercury

OBSAH

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | ÚVOD | 10 |
| 2 | CÍL PRÁCE | 11 |
| 3 | LITERÁRNÍ PŘEHLED | 12 |
| 3.1 | RTUŤ | 12 |
| 3.1.1 | Rtuť a její sloučeniny | 12 |
| 3.1.1.1 | <i>Elementární rtuť (Hg⁰)</i> | 12 |
| 3.1.1.2 | <i>Anorganické formy rtuti</i> | 13 |
| 3.1.1.3 | <i>Organokovové sloučeniny rtuti</i> | 14 |
| 3.1.2 | Toxicita | 14 |
| 3.1.2.1 | <i>Toxicita pro člověka</i> | 14 |
| 3.2 | RTUŤ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ | 17 |
| 3.2.1 | Atmosféra | 17 |
| 3.2.2 | Vodní ekosystém | 18 |
| 3.2.3 | Půda | 19 |
| 3.2.3.1 | <i>Methylace rtuti</i> | 20 |
| 3.3 | LOKALITY S VYSOKÝM OBSAHEM RTUTI V ČR | 21 |
| 3.3.1 | Jedová hora | 22 |
| 3.3.2 | Horní Luby | 22 |
| 3.3.3 | Svatá | 22 |
| 3.4 | TRANSPORT RTUTI Z PŮDY DO BIOTY | 23 |
| 3.4.1 | Rostliny | 23 |
| 3.5 | HOUBY A MECHY | 23 |
| 3.5.1 | Houby | 24 |
| 3.5.2 | Mechy | 28 |
| 3.6 | METODY STANOVENÍ MOBILNÍCH FOREM RTUTI V PŮDÁCH | 29 |
| 3.6.1 | Technika DGT | 30 |
| 3.6.1.1 | <i>Druhy gelů</i> | 30 |
| 4 | MATERIÁL A METODIKA | 35 |
| 4.1.1 | Místo odběru vzorků půdy | 35 |
| 4.1.2 | Odběr a úprava vzorků půdy, hub a mechů | 37 |
| 4.2 | INSTRUMENTACE | 37 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.2.1 | Použité chemikálie | 37 |
| 4.2.2 | Stanovení rtuti v půdách pomocí AMA 254..... | 38 |
| 4.2.2.1 | AMA 254 (<i>Advanced mercury analyser</i>)..... | 38 |
| 4.2.2.2 | Měření na přístroji AMA 254..... | 40 |
| 4.3 | STANOVENÍ SUŠINY | 41 |
| 4.3.1 | Sušina půd, hub a mechů | 41 |
| 4.4 | STANOVENÍ PH PŮD | 41 |
| 4.4.1 | pH půd stanovené ve vodě | 41 |
| 4.4.2 | pH půd stanovené v 1M KCl | 42 |
| 4.5 | STANOVENÍ ZRNITOSTNÍHO SLOŽENÍ PŮDY A CELKOVÉHO OBSAHU UHLÍKU, DUSÍKU A SÍRY VE VZORCÍCH PŮD..... | 42 |
| 4.6 | STANOVENÍ MOBILNÍCH FOREM RTUTI V PŮDÁCH POMOCÍ DGT. 42 | |
| 4.6.1 | Vzorkovací jednotka | 42 |
| 4.6.2 | Příprava gelů | 43 |
| 4.6.2.1 | Příprava difúzního gelu..... | 43 |
| 4.6.2.2 | Příprava sorpčního gelu Ambersep | 44 |
| 4.6.3 | Měření koncentrace rtuti v sorpčním gelu přístrojem AMA 254 | 46 |
| 5 | VÝSLEDKY A DISKUSE | 47 |
| 5.1 | STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU RTUTI V PŮDÁCH..... | 47 |
| 5.1.1 | Časová závislost sorpce rtuti do gelů DGT | 51 |
| 5.2 | STANOVENÍ RTUTI V HOUBÁCH | 54 |
| 5.2.1 | Stanovení sušiny | 54 |
| 5.2.2 | Obsah rtuti v jednotlivých druzích hub..... | 55 |
| 5.3 | STANOVENÍ RTUTI V MECHU..... | 56 |
| 5.3.1 | Stanovení sušiny | 56 |
| 5.3.2 | Obsah rtuti v mechu | 56 |
| 5.4 | KORELACE | 57 |
| 6 | ZÁVĚR..... | 62 |
| 7 | POUŽITÁ LITERATURA..... | 64 |
| 8 | SEZNAM OBRÁZKŮ..... | 72 |
| 9 | SEZNAM TABULEK | 73 |
| 10 | SEZNAM ZKRATEK..... | 74 |
| 11 | SEZNAM PŘÍLOH..... | 76 |

1 ÚVOD

V přirozeném prostředí se rtuť vyskytuje jen ve velmi nízkých koncentracích, její obsah ve všech složkách životního prostředí je však zvyšován činností člověka. Jedinou významnou rudou rtuti je cinabarit, neboli rumělka, HgS. V ČR se průměrná koncentrace rtuti v půdě pohybuje v rozmezí 0,02 – 0,2 mg.kg⁻¹, přičemž v organických půdách je množství rtuti vyšší než v půdách minerálních. Přesto i v ČR se vyskytují lokality s velmi vysokým obsahem rtuti (až stovky mg.kg⁻¹). Jedná se zejména o lokality s výskytem cinabaritu (rumělky), který zde byl dolován jako hlavní, či vedlejší produkt těžby železné rudy. Mezi tyto lokality náleží především Horní Luby u Chebu, Jedová hora u Hořovic a Svatá u Berouna.

Rtuť se v životním prostředí vyskytuje v několika formách – anorganické sloučeniny rtuti (Hg²⁺, Hg₂²⁺), elementární rtuť (Hg⁰) a organokovové sloučeniny. Toxické účinky rtuti závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech jednotlivých forem rtuti, především na jejich rozpustnosti, množství a mobilitě forem (čím je forma rtuti mobilnější, tím je toxičtější), intoxikační cestě a na době expozice.

Pro hodnocení možného toxikologického rizika a kvality půdy je důležitým kritériem stanovení mobilních forem rtuti v půdách, jde tzv. o formy potenciálně biologicky dostupné. V současnosti se ke stanovení mobilních forem rtuti používají techniky *in situ*, které umožňují omezit manipulaci se vzorkem, a tím jeho kontaminaci, ztrátu či změnu analytu. Pro stanovení mobilních (tzn. biologicky dostupných) forem rtuti se v současné době začíná využívat technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT). Technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT) umožňuje stanovit velké množství labilních specií stopových, minoritních a majoritních kovů v přírodních vodách, řekách, mořské vodě a využívá se i pro stanovení koncentračních gradientů a toků v sedimentech a půdách. Principem techniky DGT je difúze iontů z vnějšího prostředí přes difúzní na sorpční gel.

Jako bioindikátory čistoty životního prostředí bývají často využívány také houby spolu s mechy. Jsou velmi citlivé na prostředí, ve kterém rostou, neboť jsou schopny dobře kumulovat škodlivé látky a tyto látky nadále hromadí, aniž by došlo k jejich viditelnému poškození. V diplomové práci byla biologická akumulace rtuti sledována u 9 druhů hub – Bedla červenající, Pýchavka čokoládová, Muchomůrka růžová, Klouzek sličný, Hřib smrkový, Hřib kovář, Holubinka sesterská, Hřib žlutomasý, Hřib hnědý a 3 druhů mečů – Bělomech skalní, Ploník ztenčený, Bělomech sivý.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo:

1. Vypracování literární rešerše k tématu.
2. Příprava vzorků.
3. Stanovení celkového obsahu rtuti v půdách.
4. Optimalizace metody difúzního gradientu v tenkém filmu pro stanovení mobilních forem rtuti v půdách.
5. Stanovení mobilních forem rtuti v půdách.
6. Stanovení celkového obsahu rtuti v houbách.
7. Vyhodnocení a interpretace získaných výsledků.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Rtuť

3.1.1 Rtuť a její sloučeniny

Rtuť a její sloučeniny patří v životním prostředí mezi nejvíce toxické látky. Ať už jde o antropogenní, nebo přirozený původ těchto látek, vyskytují se v různém množství ve všech ekosystémech. (KENŠOVÁ et al., 2014) Mnohé sloučeniny rtuti se používaly jako antiparazitika, antiseptika, dezinficiencia, laxativa, jako fungicidy na moření obilí (sloučeniny fenylnyl- a ethylrtuti) a také v bateriích, manometrech, teploměrech a v elektrotechnice (výroba fluorescentních žárovek). Jejich používání bylo až do začátku 20. století dovoleno, později však bylo kvůli toxicitě zakázáno. Používání rtuti a jejich sloučenin je v některých případech nezbytné a je po zavedení bezpečnostních opatření povoleno, např. u polarografie a při některých elektrochemických aplikacích. (MODRÁ et al., 2014; LINHART, 2014). Rtuť se v životním prostředí vyskytuje v několika formách, mezi které patří anorganické sloučeniny rtuti (Hg^{2+} , Hg_2^{2+}), elementární rtuť (Hg^0) a organokovové sloučeniny. (KOMÍNKOVÁ, 2008)

3.1.1.1 Elementární rtuť (Hg^0)

Rtuť (Hg, latinsky Hydrargyrum, anglicky Mercury) patří spolu se zinkem a kadmíem mezi prvky II. B skupiny v periodické soustavě prvků. Vyskytuje se v oxidačních stavech 0, +I, +II, dobře vede elektrický proud, řadí se mezi nepřechodné prvky a její valenční elektrony se nachází v d-sféře. Za běžných podmínek je rtuť jediný kapalný kov, který se vyznačuje neobvykle vysokou hustotou ($13,534 \text{ g.cm}^{-3}$). Je to stříbrolesklá těkavá kapalina a bod tání má nejnižší ze všech těžkých kovů, taje při $-38,87 \text{ }^\circ\text{C}$, kdy se mění na velmi měkký kujný kov, který dá se krájet. Bod varu je za normálního tlaku $357,3 \text{ }^\circ\text{C}$, má však značnou tenzi par a vypařuje se již při pokojové teplotě. (COTTON, 1973; KENŠOVÁ et al., 2014) Při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ je ve vzduchu rovnovážná koncentrace rtuti 15 mg.m^{-3} a při $40 \text{ }^\circ\text{C}$ dokonce 68 mg.m^{-3} . Maximální povolená koncentrace rtuti je přitom $0,1 \text{ mg.m}^{-3}$. (PROKEŠ et al., 2005)

Rtuť se rozpouští pouze v oxidujících kyselinách, čímž se podobá Cd a Ag. K ostatním kyselinám je netečná (HESLOP et al., 1982). Rtuť se slučuje s kyslíkem při teplotě $300 \text{ }^\circ\text{C}$ za vzniku HgO , avšak při teplotě $400 \text{ }^\circ\text{C}$ se rozloží zpět na prvky.

Rtuťnaté soli, oxidy dusíku a síry vznikají rozpuštěním v koncentrované HNO_3 a horké koncentrované H_2SO_4 . Ve zředěné HNO_3 proběhne reakce daleko pomaleji, vzniká $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$. (GREENWOOD, 1984).

3.1.1.2 Anorganické formy rtuti

Sloučeniny rtuťné: Základem je rtuťný ion ($^+\text{Hg—Hg}^+$), který snadno vzniká redukcí rtuťnatých solí a lehce se na ně oxiduje. Ion se vyskytuje v několika různých sloučeninách, v nichž je délka vazby pokaždé jinak dlouhá. Sloučeniny jsou v pevném stavu i v roztoku diamagnetické. Nejznámějšími rtuťnými sloučeninami jsou halogenidy, kdy je chlorid, jodid a bromid rtuťný značně nerozpustný. Oproti tomu fluorid rtuťný je ve vodě nestabilní a hydrolyzuje se na neionizovaný hydroxid rtuťný a kyselinu fluorovodíkovou. Mezi ve vodě rozpustné rtuťné soli patří dusičnan a chloristan a mezi málo rozpustné soli chlorečnan, bromičnan, síran, octan a jodičnan. (FARA, 2004)

Sloučeniny rtuťnaté: mezi zástupce těchto sloučenin patří sulfid rtuťnatý HgS . V přírodě se vykytuje jako minerál metacinabarit. Při reakci s vodnými roztoky vzniká černá sraženina, která se zahříváním mění na formu červenou, identickou s nerostem rumělkou (oproti černé formě má deformovanou mřížku chloridu sodného s řetězcí Hg—S).

Dalším zástupcem je oxid rtuťnatý. Uměle ho lze připravit zahříváním alkalického roztoku K_2HgJ_4 , přímou reakcí kyslíku a rtuti za působení teplota $300 - 350\text{ }^\circ\text{C}$, či pyrolýzou dusičnanu rtuťného nebo rtuťnatého. Přirozeně se vyskytuje v podobě minerálu montroyditu.

Rtuť dále reaguje s halogenidy a vzniká fluorid rtuťnatý a ostatní halogenidy, které jsou na rozdíl od fluoridu schopny vytvářet kovalentní vazby, z nichž chlorid rtuťnatý má tuto schopnost nejvýraznější. Mezi ostatní rtuťnaté sloučeniny patří např. dusičnan, chloristan, síran, šťavelan, fosforečnan a thiokyanatan rtuťnatý. Charakteristické pro ion Hg^{2+} je tetraedrické a lineární uspořádání a hlavně velká snaha tvořit komplexy. Nejpevnější jsou komplexy rtuti s uhlíkem, dusíkem, sírou, fosforem a s halogeny. (FARA, 2004)

3.1.1.3 Organokovové sloučeniny rtuti

Tyto sloučeniny se získávají reakcí chloridu rtuťnatého a Grinardových činidel v určitých molárních poměrech. Sloučeniny obsahují jeden nebo dva uhlovodíkové zbytky a jsou typu $RHgX$ s R_2Hg .

$RHgX$ sloučeniny jsou krystalické látky, kdy R znamená uhlovodíkový zbytek (př. CH_3- , C_2H_5- , C_6H_5-) a X představuje atom nebo skupinu schopnou vytvářet se rtuť kovalentní vazby (př. Br, Cl, J, OH, CN, SCN). R_2Hg sloučeniny projevují k vodě, kyslíku, aktivnímu vodíku a k organickým sloučeninám velmi malou reaktivitu. (FARA, 2004; HOUSEROVÁ et al., 2006)

3.1.2 Toxicita

Toxické účinky rtuti závisí na chemických a fyzikálních vlastnostech jednotlivých forem rtuti, především na jejich rozpustnosti, množství a mobilitě forem, intoxikační cestě a době expozice. Přitom čím mobilnější forma rtuti je, tím je toxičtější.

Nejvíce toxické jsou organické sloučeniny rtuti, anorganické sloučeniny jsou méně toxické. Toxický účinek je výsledkem reakce rtuti se sulhydrilovými skupinami molekul, kdy se změní permeabilita buněčných membrán a dochází k poškození nitrobuněčných enzymů. (HOUSEROVÁ et al., 2006; KENŠOVÁ et al., 2014)

3.1.2.1 Toxicita pro člověka

Toxicita rtuti závisí na množství dávky, které člověk přijme. V malém množství rtuť pro člověka nebezpečná není, avšak překročíme-li prahovou dávku, můžou nastat zdravotní komplikace. (NAVRÁTIL et al., 2014)

Nejčastější cesta expozice u lidí je cestou inhalační, dermální a orální. Vystavení účinkům rtuti má neurologické, imunologické, reprodukční, genotoxické a karcinogenní účinky, které mohou vést až ke smrti. (HOUSEROVÁ et al., 2006)

Člověk je běžně vystaven působení nízkých, ale přesto kumulujících se dávek rtuti. Ať už jde o konzumaci mořských ryb, či vakcíny proti chřipce, které se běžně konzervují přípravkem thiomersalu (ethyl-2-sulfanylbenzoátohydrargyria). (LINHART, 2014; CLARKSON, 2002)

K dalšímu kontaktu se rtuť dochází ve zdravotnictví, převážně v zubním lékařství. Podle Světové zdravotnické organizace (WHO 1991) se odhaduje, že asi 3 % z celkové spotřeby rtuti je použito pro zubní amalgámy. Zubní amalgám obsahuje přibližně 50 % kovové rtuti, 35 % stříbra, 9 % cínu, 6 % mědi a stopové množství zinku. Je prokázáno,

že amalgámové výplně časem podléhají korozi a uvolňuje se z nich rtuť. Příznaky chronické otravy rtutí však v souvislosti se zubními amalgamovými výplněmi nebyly zjištěny. (SYVERSEN et al., 2012, CLARKSON, 2002) V roce 2008 byly tyto výplně zakázány ve třech evropských zemích (Dánsko, Švédsko, Norsko). Roční spotřeba rtuti na zubní výplně v Evropské unii se pohybuje mezi 55 až 95 tunami, z toho je pro ČR asi 3,6 tuny. (ATSDR, 1999; NAVRÁTIL et al., 2014)

Elementární (kovová) rtuť: orální toxicita je téměř nulová, protože elementární rtuť obtížně proniká do organických tkání – z gastrointestinálního traktu se vstřebá asi jen 0,01 %. (PROKEŠ, 2005) Naopak páry elementární rtuti jsou daleko toxičtější. Protože jsou tyto páry 7 krát těžší než vzduch, mohou hromadit v níže položených oblastech, či v místnostech s nedostatečným odvětráváním. (ANONYM 1)

Do organismu se elementární rtuť dostává po vdechnutí a je snadno absorbována plícemi. Po vdechnutí mohou nastat respirační a neurologické potíže. Elementární rtuť je schopna přejít přes hemoencefalickou bariéru a dostat se až do mozku, kde narušuje nervovou komunikaci. U chronické expozice je zasažen centrální nervový systém a dochází ke třem charakteristickým příznakům: záněty dásní, emoční nestabilita (poruchy spánku, únava, bolesti hlavy, vznětlivost), nakonec třes rukou a následně celého těla. Při akutní otravě jsou postiženy ledviny a trávicí soustava. (KOMÍNKOVÁ, 2008; KENŠOVÁ et al., 2014; LINHART, 2014, GOCHFELD, 2003)

Anorganické sloučeniny: k hromadění dochází v ledvinách a v gastrointestinálním traktu. Nejznámější je otrava chloridem rtuťnatým (HgCl_2 , sublimát), kdy smrtelná dávka odpovídá 0,2 – 1,0 g.kg^{-1} hmotnosti člověka. Otravu rtutí doprovází zvracení, bolesti břicha, krvavé průjmy, pálení v ústech a zánět dutiny ústní. (TICHÝ, 1998) U malých dětí může chronická otrava vyvolat syndrom akrodynie (růžová nemoc), která se projevuje ekzémem, otoky, loupáním kůže a zimnicí. Onemocnění po přerušení expozice vymizí. (HOUSEROVÁ et al., 2006; KENŠOVÁ et al., 2014)

Organokovové sloučeniny: nejrozšířenější sloučeninou je methylrtuť (MeHg). Je silně lipofilní, a proto dobře prostupuje biomembránami. Organokovové sloučeniny se do organismu mohou dostat už pouhým kontaktem s pokožkou, proto jsou velmi nebezpečné. Jsou 10 krát toxičtější než anorganické formy a jsou schopny pronikat skrze placentu a bariéru krev – mozek. Ke kumulaci dochází zejména v ledvinách, vlasech a méně v játrech a slezině. (ANONYM 1; HOUSEROVÁ et al., 2006)

Při akutní či chronické otravě poškozují alkylsloučeniny centrální nervový systém (KENŠOVÁ et al., 2014). Mezi příznaky otravy patří poruchy řeči, sluchu, chůze a periferního vidění, špatná koordinace pohybů a svalová slabost. Vystavení parám organokovových sloučenin Hg způsobuje akutní zánět plic, poškození ledvin a zvýšený krevní tlak. Z organických sloučenin rtuti je nejtoxičtější dimethylrtuť (dimethylhydrargium), jejíž smrtelná dávka pro dospělého člověka je pouze 0,1 ml.kg⁻¹ hmotnosti člověka této kapalné látky. V těle se demethyluje na methylrtuť (methylhydrargium) a projde i běžnými ochrannými rukavicemi. Ion methylrtuti má větší prostupnost biomembránami a v gastrointestinálním traktu se vstřebává daleko rychleji než Hg^{II} (z gastrointestinálního traktu se vstřebá až 90 %). (GREENWOOD, 1984; PROKEŠ, 2005; KOMÍNKOVÁ, 2008).

Významná expozice člověka rtutí byla zaznamenána v Minamatě v Japonsku, kdy došlo k masivní otravě lidí po pozření kontaminovaných ryb vylovených v zálivu, kam místní továrna na plasty vypouštěla odpadní vody obsahující sloučeniny rtuti používané při výrobě vinylchloridu a k syntéze acetaldehydu. V moři následně docházelo k chemické a biochemické přeměně na sloučeniny methylrtuti, jež jsou schopny se rychle akumulovat. Počet obětí se vyšplhal na číslo 1784. Podobná tragedie se stala i v japonské Niigatě, zde zemřelo 700 lidí. (PECORA, 1970; KOMÍNKOVÁ, 2008; GOCHFELD, 2003)

Neméně známou událostí je případ ze sedmdesátých let 20. století z Iráku, kdy byla do země dovezeno osivo pšenice ošetřené fungicidy. Pšenice však byla použita pro výrobu chleba. To způsobilo rozsáhlou epidemii mezi lidmi, ale i mezi zvířaty, která byla pšenicí zkrmována. Výsledkem bylo 460 mrtvých a 40 000 hospitalizovaných lidí. (NAVRÁTIL et al., 2014)

Tab. 1 *Absorpce různých typů sloučenin rtuti do organismu různými cestami vstupu (MODRÁ, 2014)*

| | Elementární rtuť (Hg ⁰) | Anorganické soli | Organické sloučeniny |
|-------|-------------------------------------|------------------|----------------------|
| Plíce | téměř 100 % | různě | téměř 100 % |
| GIT | zanedbatelně | 10 – 40 % | téměř 100 % |
| Kůže | zanedbatelně | zanedbatelně | středně až vysoce |

3.2 Rtuť v životním prostředí

Rtuť se vyskytuje ve více než dvaceti minerálech, především v sulfidech spolu s mědí, zinkem, železem a dalšími kovy. (KENŠOVÁ et al., 2014) Jedinou významnou rudou rtuti je cinabarit, neboli rumělka, HgS (sulfid rtuťnatý). Je to jemnozrnný karmínově červený až hnědočervený minerál, jehož žíly lze nalézt ve vápencích, pískách a slínech. V rumělce se nachází více než 86 % rtuti, kterou získáme působením vysoké teploty, kdy HgS přejde na oxid, který se následně při 500 °C rozloží a rtuť se vydestiluje. (COTTON, 1973; ŠIMEK, 2003)

V přirozeném prostředí se rtuť vyskytuje jen ve velmi nízkých koncentracích. Z celkového obsahu rtuti, která se do životního prostředí dostane, je přes 80 % vlivem člověka. (MODRÁ et al., 2014) Rtuť uvolněná do životního prostředí, je schopna kontaminovat vodu a půdu i několik tisíc kilometrů od zdroje znečištění. (MLČOCH, 2008)

Nejvýznamnějšími přirozenými zdroji rtuti jsou oceány (51 %), dále, už méně významné, lesní požáry (13 %), emise zalesněných a zatravněných ploch (13 %), ložiska rud (10 %) a vulkanická činnost (2 %). U antropogenních zdrojů, převládá spalování fosilních paliv (36 %), dále těžba zlata (17 %), výroba neželezných kovů (13 %), výroba cementu (10 %), spalování odpadů (8 %) a chemická výroba louhů (7 %). Tyto údaje byly zjištěny kvalifikovanými odhady. (NAVRÁTIL et al., 2014)

3.2.1 Atmosféra

V atmosféře se rtuť nachází ve třech různých podobách: elementární plynná Hg(0), reaktivní plynná v podobě sloučenin Hg(II) a adsorbovaná na pevné částice Hg(p). Do atmosféry se dostává spalováním fosilních paliv, spalováním odpadu, z hutního a důlního průmyslu, vulkanickou činností, či z oceánů a vegetace. Srážkové vody, které odstraňují rtuť z ovzduší, průměrně obsahují 0,2 $\mu\text{g.l}^{-1}$ rtuti. (KENŠOVÁ et al., 2014; NAVRÁTIL et al., 2014; MODRÁ et al., 2014) Vyhláška č. 415/2012 Sb. uvádí, že nesmí být překročena úhrnná hmotnostní koncentrace 0,05 mg.m^{-3} rtuti pro spalovny odpadu.

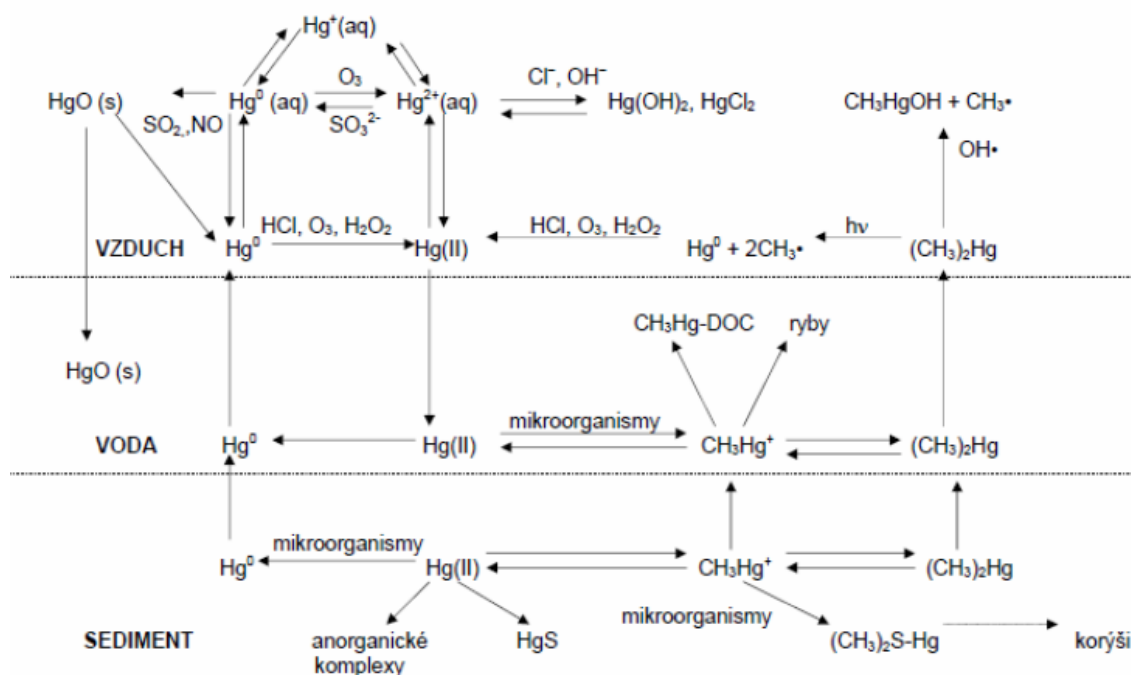
Lidskými zdroji se do atmosféry ročně dostane přibližně 2300 tun rtuti, oproti tomu přirozenými globálními zdroji je to až 5200 tun ročně, což je s nejvyšší pravděpodobností způsobeno zásahem člověka do koloběhu přírody. (NAVRÁTIL et al., 2014)

3.2.2 Vodní ekosystém

Za normálních podmínek je koncentrace rtuti ve vodách velmi nízká, obvykle v řádu desetin nanogramů na litr, v porovnání s obsahem kadmia, či olova je to až 3 krát méně. U povrchových sladkých vod se rtuť váže na suspendované, koloidně rozptýlené, či rozpuštěné organické látky. V mořské vodě se nejčastěji vyskytuje rtuť v podobě chlorkomplexů, protože se zde vyskytuje velké množství chloridů.

Nejvyšší mezní limit rtuti v povrchových vodách je stanoven na $0,07 \mu\text{g.l}^{-1}$ dle Vyhlášky č. 401/2015 Sb. kterou se stanoví hodnoty a ukazatele přípustného znečištění povrchových a odpadních vod.

U sladkovodních vod má rtuť vázaná na koloidní a suspendované částice tendenci sedimentovat na dno a zde za nepřístupu kyslíku dochází pomocí redukčních bakterií (např. bakterie rodu *Methanobacterium*) k její methylaci za vzniku kationtu MeHg (methylrtuť). Methylrtuť se dostává do okolního prostředí, kde se vzhledem ke své lipofilní povaze snadno akumuluje v tukové tkáni ryb. Nejvyšší koncentrace methylrtuti se nachází na vrcholu potravního řetězce: orel mořský, mořští predátoři (mečouni, žraloci, ale i tuňáci), vydra, sladkovodní ryby (štika, candát) a člověk. Rtuť, která se nachází ve svalovině ryb a u ichtyofágních ptáků v kontaminovaných oblastech, je převážně ve formě methylrtuti (75 – 95 %). Kdežto u mořských savců, jako jsou kytovci a tuleni, byla ve svalovině nalezena převážně rtuť anorganická. Z toho vyplývá, že tito savci mohou demetylovat (pravděpodobně v játrech) rtuť přijatou z ryb v podobě organortuťnatých sloučenin a ukládají ji ve formě anorganické. (NAVRÁTIL et al, 2014; KALÁČ et al., 1998; ALEXANDER, 2104; GOCHFELD, 2003)



Obr. 1 Přeměny sloučenin rtuti ve složkách vodního ekosystému.

(aq – kapalná fáze, DOC – rozpuštěné organické látky, s – pevná fáze)

(ATSDR, 1999)

3.2.3 Půda

Půda je zásadní složkou ekosystému, reguluje koloběh látek a funguje jako úložiště, dezaktivátor, ale též jako zdroj rizikových látek. Kromě přirozeně se vyskytujících toxických látek, je zde i velké množství látek z vnějšího prostředí, např. organické a anorganické látky pocházející ze zemědělství, průmyslu, těžby a automobilové dopravy. (PROKEŠ, 2005)

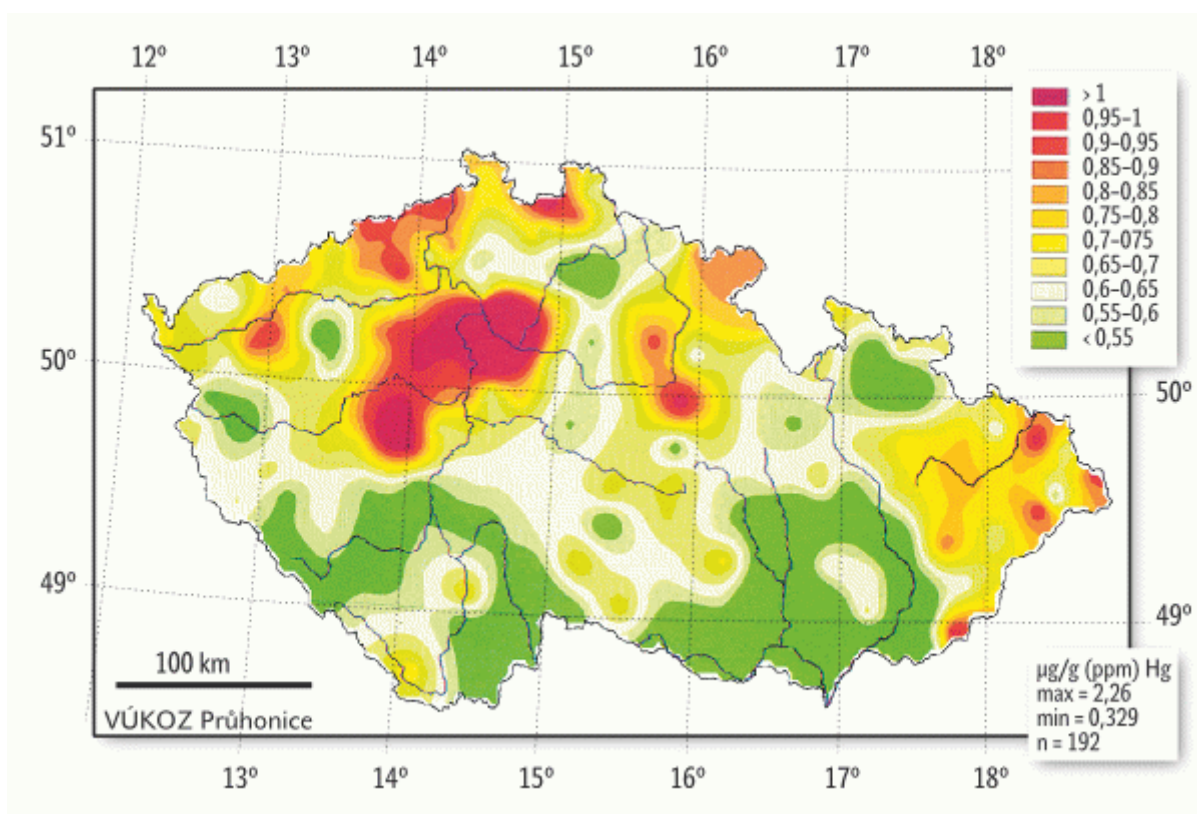
Půda spolu se sedimenty představuje rovnovážný heterogenní systém, který je tvořen organickou i anorganickou hmotou (živou i neživou) ve stavu drobných částic či v koloidním stavu, a dále plyny a vodou. Mezi hlavní minerální složky půdy patří jíly, silty a písky. V horním půdním horizontu se nachází přibližně 2 – 5 % organické hmoty. (KOPLÍK et al., 1997)

Průměrné množství rtuti v zemské kůře je $0,1 - 0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$. (MLČOCH, 2008) U nás se průměrná koncentrace rtuti v půdě pohybuje v rozmezí $0,02 - 0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$. V organických půdách je vyšší množství rtuti než v půdách minerálních. Rtuť se v půdě vyskytuje ve sloučeninách, především ve formě Hg(OH)_2 za zásaditých podmínek a HgCl_2 za podmínek kyselých, anebo se váže na humusové

látky. Rtuť se také váže na síru, nejčastější sloučeninou je HgS a v silně alkalickém prostředí se tvoří i HgS_2^{2-} . Většina rtuti se do půdy dostává adsorpcí na organické látky a jílové minerály. Nejlepší podmínky pro adsorpci HgOHCl^0 jsou při $\text{pH} = 7$. Kromě adsorpce dochází v půdě i k vymývání rtuti a k vypařování elementární rtuti a organokovových sloučenin rtuti. Kvůli vypařování se v povrchových vrstvách nachází méně rtuti než ve vrstvách spodních (BOLLEN et al., 2008; ŠIMEK, 2003)

Vyhláška č. 13/1994 Sb. stanovuje limitní hodnoty pro rtuť stanovenou rozkladem lučavkou královskou na: $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny pro lehké půdy a na $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny pro ostatní půdy.

Na obrázku č. 2 je znázorněna mapa obsahu rtuti v lesním humusu. Mapa byla vytvořena z měření na 192 vzorcích. Údaje v legendě jsou v mg.kg^{-1} .



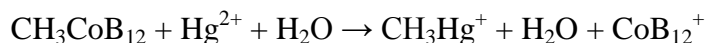
Obr. 2 Mapa obsahu rtuti v lesním humusu v roce 1995

(NAVRÁTIL et al., 2014)

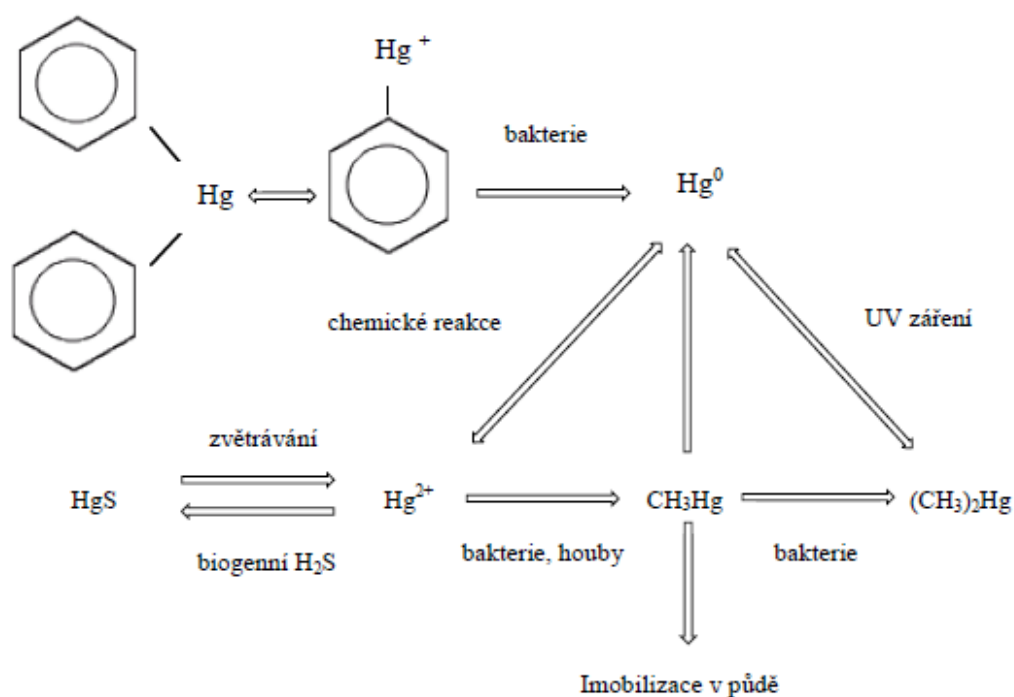
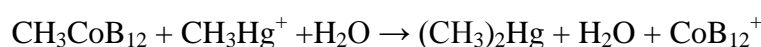
3.2.3.1 Methylace rtuti

Rtuť, spolu s jinými kovy a polokovy (Pb, Sn, Ni, Sb, As, Se, Ge), může být činností mikroorganismů vázána na alkylové sloučeniny a následně tvořit organokovové sloučeniny. Methylace spočívá ve vazbě kovu s $-\text{CH}_3$ skupinou, kdy je metylace rtuti jedním z nejprozkoumanějších procesů bioalkylace. K methylaci rtuti v půdě dochází

neenzymatickou methylací rtuťnatých iontů methylkobalaminovými sloučeninami ($\text{CH}_3\text{CoB}_{12}$) za přítomnosti mikroorganismů především bakterií redukujících sulfáty: *Desulfovibrio* a *Desulfuromonas*. Methylace nejčastěji probíhá za anaerobních podmínek v sedimentech, zaplavených půdách a kalech. (HOUSEROVÁ et al., 2006; ŠIMEK, 2003)



Jako produkt reakce vznikla sůl methylrtuti. Ta se dále methyluje na těkavou dimethylrtuť (ŠIMEK, 2003):



Obr. 3 Přeměna rtuti v půdě
(ŠIMEK, 2003)

3.3 Lokality s vysokým obsahem rtuti v ČR

Na našem území jsou tři historicky významné lokality s výskytem cinabaritu (rumělký), který zde byl dolován jako hlavní, či vedlejší produkt těžby železné rudy. Jsou to Horní Luby u Chebu, Jedová hora u Hořovic a Svatá u Berouna. Jsou známa ještě dvě místa těžby, Jesenný u Semil a Bezručice u Mariánských Lázní, která měla spíše lokální význam. (VELEBIL, 2009)

3.3.1 Jedová hora

Jedová hora (537 m n. m.) se nachází v Brdské vrchovině poblíž obce Hořovice ve Středočeském kraji. Jedová hora, nebo též Dědova hora, byla významným ložiskem železné rudy, která se zde těžila jako vedlejší produkt od 14. století do roku 1857. Z Jedové hory byli lidé v 18. a 19. století schopni vytěžit více než 15 tun cinabaritu. Důl je v dnešní době nepřístupný, avšak dochovalo se ústí do nejznámější šachty zvané Barbora (původní hloubka 72 metrů) a v jejím okolí lze nalézt mnoho výsypek s hlušinami, které stále obsahují rumělkou. Obsah rtuti okolo výsypek dosahuje hodnot 33 – 107 mg Hg/kg půdy. (NAVRÁTIL et al., 2014; VELEBIL, 2003)

3.3.2 Horní Luby

Obec se nachází v Krušných horách na Chebsku v Karlovarském kraji. Nejstarší dochované zmínky o dolování rtuti pochází z 1. poloviny 15. století. Tato lokalita byla u nás pro těžbu cinabaritu nejvýznamnější, rtuť zde byla získávána jako hlavní produkt a v první polovině 16. století byly Horní Luby dokonce jedním z hlavních dodavatelů rtuti v Evropě. Tou dobou byly vytvořeny dva hlavní doly, Zvěstování panny Marie a Tři králů. Dohromady tvořily důlní komplex, který zahrnoval 5 šachet. Časem se množství vydolované rudy rtuti menšilo a po roce 1570 bylo množství vytěžené rtuti zanedbatelné. (VELEBIL, 2009)

3.3.3 Svatá

Svatá, obec nacházející se nedaleko Berouna ve Středočeském kraji, je třetí nejvýznamnější naleziště cinabaritu u nás, přesto není množství vytěžené rudy tolik významné. V okolí výsypek je 0,7 – 1,2 mg Hg/kg půdy. Těžba zde probíhala od roku 1548 do 17. století, poté byl důl opuštěn. Kolem roku 1715 došlo k úspěšnému obnovení dolu ve Svaté a dostal název Jan Evangelista. Další doly byly pojmenovány Anna Marie (původně Helena), Josef (oba o hloubce 60 metrů). Přibližně v roce 1760 dolování ustává. (VELEBIL, 2004)

3.4 Transport rtuti z půdy do bioty

3.4.1 Rostliny

Rtuť se do rostlin dostává přes kořenový systém vstřebáváním látek z půdního roztoku. Druhou možností vstupu rtuti do rostliny je přes nadzemní část. Aplikací rtuťnatých fungicidů proniká rtuť přes pletiva do celé rostliny a následně i do plodů a hlíz, které vstupují a dále slouží jako potrava pro živočichy. (PECORA, 1970) V letech 1992 – 1993 bylo však používání fungicidů obsahujících rtuť v ČR zakázáno. Zakázán byl i chlorid fenylrtuťnatý, jímž bylo mořeno osivo. (ČERNÁ, 2004)

To, jak rostlina kov přijme, ovlivňují půdní vlastnosti i sama rostlina. Příjem kovů není lineárně závislý na celkovém obsahu kovů v půdě, ale na jeho biologické dostupnosti. Enzymatické procesy, koncentrace a forma výskytu kovu, jeho toxicita, iontová kompetice a interakce, to vše ovlivňuje příjem a transformaci prvku v rostlině. Látky z půdního roztoku se do rostliny nejlépe dostávají přes kořenový systém, zejména přes kořenové vlásky a dále pak přes listy a ostatní nadzemní části rostliny. Přes kořenový systém mohou látky procházet aktivním (metabolickým) a pasivním transportem. (TLUSTOŠ et al., 2007; UHLÍŘOVÁ et al., 1999)

Zvýšený obsah rtuti lze najít zejména u vodních rostlin v proudících vodách. U rostlin ve vodách stojatých a rostlin suchozemských je množství kumulované rtuti daleko nižší. (CIBULKA et al., 1991) V půdě se často vyskytují kovy vázané v organických sloučeninách, které nepředstavují pro rostliny přímé riziko. Nebezpečí nastává v případě, kdy se z těchto organických látek, díky příhodným podmínkám uvolní kovový ion, naváže se na půdní koloidy a stane se tak přístupný pro půdní mikrofaunu, mikroflóru a rostliny. Mobilitu prvků a jejich transport ovlivňují chemické a mineralogické charakteristiky půdy, jako jsou redox potenciál, pH půdy, stupeň provzdušnění půdy, kationová výměnná kapacita, kvalita a kvantita organické hmoty a oxidů jílových minerálů. Kovy jsou rostlinami lépe přijímány při nižším pH. (SPOSITO, 2008; UHLÍŘOVÁ et al., 1999)

3.5 Houby a mechy

Houby i mechy jsou velice citlivé na prostředí, ve kterém rostou, a proto jsou často využívány jako přímé bioindikátory čistoty prostředí. Řadí se mezi kumulativní bioindikátory – škodlivé látky z prostředí po přijetí hromadí, aniž by došlo k jejich viditelnému poškození. (CIBULKA, 1991; ULBRICHOVÁ, 2007)

3.5.1 Houby

V první fázi transportu dochází k vazbě iontu kovu na vnější stěnu myceliového vlákna a v druhé fázi dochází k průniku do buňky, kdy se kovový iont může uvnitř buňky navázat na sulfhydrylové skupiny specifických bílkovin – metalothioneinů. Tyto specifické molekuly bílkovin vážící kovy v houbách jsou svou stavbou odlišné od molekul metalothioneinů, které jsou schopni syntetizovat savci. (CIBULKA, 1996)

Rozmístění rtuti v plodnicích hub je nerovnoměrné, nejvíce rtuti se nachází ve výtrusorodých orgánech, méně ve zbývajících částech klobouku a nejméně ve třeni (noze). Rozdílná je i kumulační schopnost rtuti mezi druhy hub – saprofytické houby (získávají živiny z odumřelých těl rostliny a živočichů) jsou schopné akumulovat rtuť daleko lépe než houby mykorhizní (získávají živiny z kořenů vyšších rostlin). Saprofytické houby jsou navíc schopné transformace anorganických forem rtuti na metylrtuť. (CIBULKA, 1999; FALANDYSZ et al., 2008; ALEXANDER, 2014)

Zpravidla nejvyšší obsahy toxických prvků se vyskytují u hub čeledi čirůvkovitých, žampionovitých a hřibovitých. To souvisí i se stářím mycelia a zvýšenou časovou prodlevou mezi fruktifikacemi, kdy je množství kovů v plodnicích vyšší. U Pečárky dvouvýtrusé (*Agricus bisporus*) byla při druhé fruktifikaci zaznamenána vyšší koncentrace prvků. (KALÁČ, 2008; KALÁČ et al., 2004) Houby v čerstvém stavu obsahují přibližně 85 – 95 % vody. Během sušení se hmotnost plodnic, díky odparu vody, až desetkrát sníží, čímž dochází ke koncentrování látek v houbách. Zajímavé je, že se až 70 % rtuti z hub ztrácí během tepelné úpravy, kdežto pomalým sušením zůstává množství rtuti v houbách takřka stejné i po několikaletém skladování. (CIBULKA, 1996; ŠVÉDOVÁ, 2014) Koncentrace těžkých kovů v houbách je ovlivněna jejich koncentrací v půdě, hodnotou pH půdy, ale také např. obsahem organické hmoty a dalších látek v půdě. (GERHARDT, 2006)

Na území České republiky byl na ploše ICP Forests (International Co-operative Programme on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests) - Mezinárodní kooperativní program pro posuzování a monitorování vlivu znečištění ovzduší na lesy, v letech 1995 až 1996 proveden monitoring cizorodých látek v lesním ekosystému u vzorků půdy, jehličí a sušených hub. Obsahy rizikových kovů byly porovnány s limity ve Vyhlášce 298/1997 Sb. V současné době není limit pro obsah rtuti v houbách stanoven. Ve Vyhlášce 298/1997 Sb. uvádí nejvyšší povolené množství rtuti v houbách pro:

houby čerstvé $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$

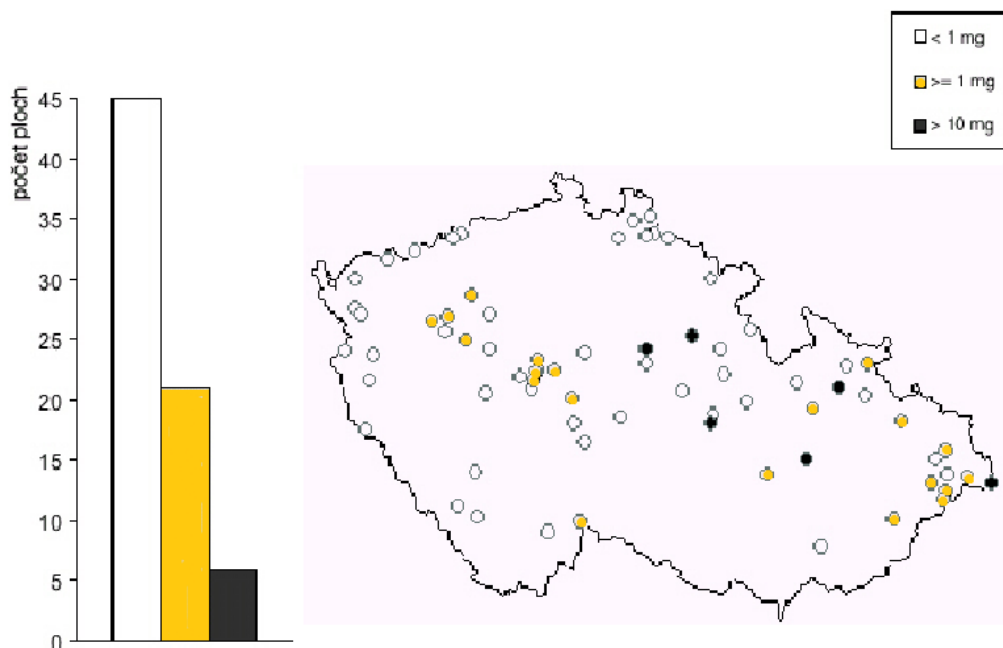
houby sušené $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$

houby pěstované čerstvé $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$

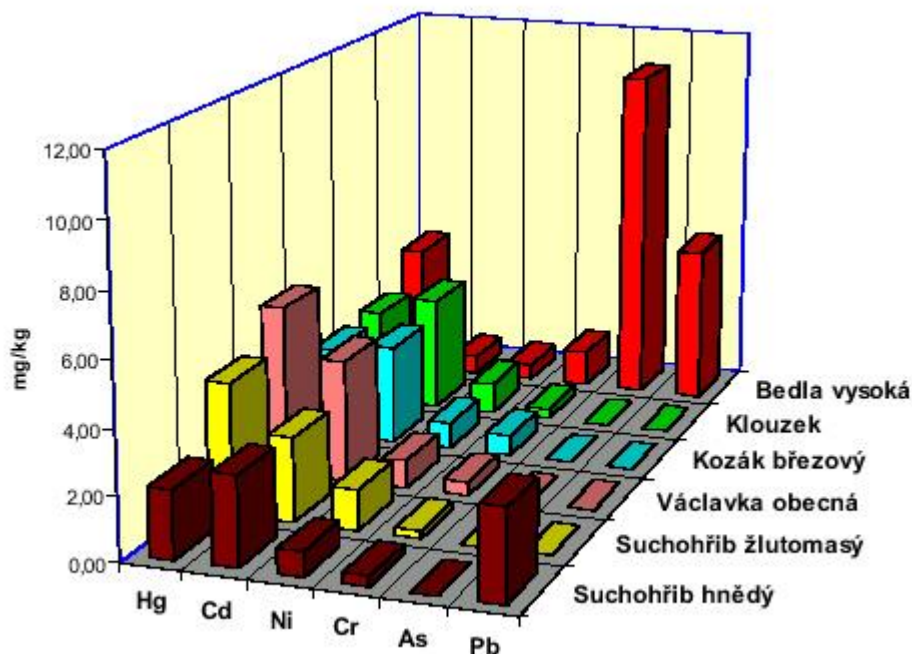
houby pěstované sušené $1,0 \text{ mg.kg}^{-1}$

Výsledky jsou zaznamenány na obrázku č. 4 a 5. Z obrázku č. 4 je patrné, že na 5 místech v ČR je koncentrace rtuti v sušině jedlých hub nad 10 mg.kg^{-1} a u dalších 20 míst je koncentrace stejná a/nebo vyšší než 1 mg.kg^{-1} . Houby ze 45 oblastí obsahovaly méně než 1 mg.kg^{-1} rtuti tudíž limit splňovaly. (UHLÍŘOVÁ et al., 1999)

Na obrázku č. 5 je graficky znázorněn průměrný obsah rtuti u jednotlivých druhů hub a jak je vidět, ani jeden průměrný vzorek nesplnil limit o obsahu rtuti.

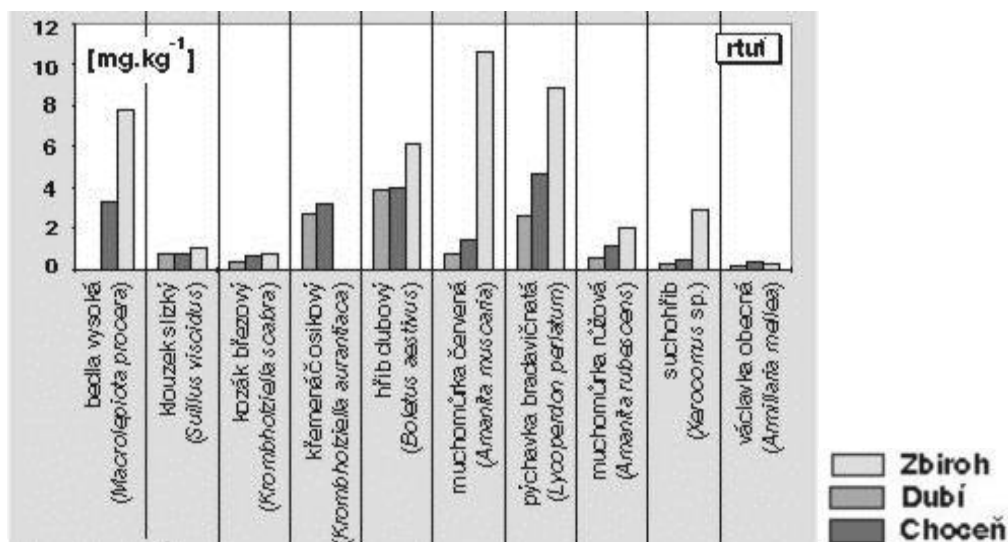


Obr. 4 Koncentrace rtuti v sušině jedlých hub na plochách ICP Forests vybraných plochách v rekreačních oblastech ČR
(upraveno dle UHLÍŘOVÁ et al., 1999)



Obr. 5 Průměrné obsahy As, Cd, Cr, Hg, Ni Pb v jednotlivých druzích čerstvých hub (UHLÍŘOVÁ et al., 1999)

Na obrázku č. 6 je uveden obsah rtuti u různých druhů hub měřený v několika lokalitách v ČR. Z obrázku lze vyčíst, že nejvyšších koncentrací rtuti v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny dosahovala Muchomůrka červená, Muchomůrka růžovka a Bedla vysoká v oblasti Zbirohu. (CIBULKA, 1996)



Obr. 6 Obsah rtuti u různých hub měřený v několika lokalitách v ČR (CIBULKA, 1996)

Podle italského výzkumu v provincii Reggio Emilia měly zvýšený obsah rtuti tyto houby (průměrné hodnoty v mg.kg^{-1} čerstvé hmoty): Pačárka ovčí (*Agaricus arvensis*) 4,19; Pečárka opásaná (*Agaricus Subgenus Flavoagaricus*) 8,05; Pečárka dvouvýtrusá (*Agaricus bisporus*) 3,94; Pečárka hlíznatá (*Agaricus essettei*) 4,40; Pečárka velkovýtrusá (*Agaricus macrosporus*) 6,56; Pečárka hajní (*Agaricus sylvicola*) 3,69; Muchomůrka růžovka (*Amanita rubescens*) 3,77; Hřib bronzový (*Boletus aereus*) 3,29; Hřib borový (*Boletus pinophilus*) 4,96; Čirůvka májovka (*Calocybe gambosa*) 4,52; Pýchavka dlabatá (*Calvatia utriformis*) 3,55; Čirůvka fialová (*Lepista nuda*) 6,25; Strmělka veliká (*Clitocybe geotropa*) 4,93; Bedla červenající (*Macrolepiota rachodes*) 5,26. Naopak limitům vyhovovaly: Václavka obecná (*Armillariella mellea*) 0,19; Liška obecná (*Cantharellus cibarius*) 0,16; Závojenka saundersová (*Entoloma saundersii*) 0,18; Jidášovo ucho (*Hirneola auricula-judae*) 0,18; Lakovka obecná (*Laccaria affinis*) 0,12; Smrž polovolný (*Mitrophora hybrida*) 0,08; Smrž obecný (*Morchella esculenta*) 0,09; Kačenka česká (*Ptychoverpa bohemica*) 0,12; Klouzek žíhaný (*Suillus collinitus*) 0,18. (COCCHI, 2006)

V neznečištěných švýcarských lesích na severu a jihovýchodě země byly nejvyšší hodnoty zjištěny u (data jsou uvedena v mg.kg^{-1} sušiny): Holubinka namodralá (*Russula cyanoxantha*) 5,61; Holbinka černající (*Russula nigricans*) 3,06; Penízovka skvrnitá (*Collybia maculata*) 3,44; Strmělka přehnutá (*Lepista inversa*) 2,76; Bedla vysoká (*Macrolepiota procera*) 4,78. Naopak nejnižších hodnot dosahovaly tyto houby: Pýchavka hruškovitá (*Lycoperdon pyriforme*) 0,02; Šafránka červenožlutá (*Tricholomopsis rutilans*) 0,11; Holubinka fialová (*Russula purpurata*) 0,03; Stroček trubkovitý (*Craterellus cornucopioides*) 0,03; Václavka cibulkotřenná (*Armillaria cepistipes*) 0,09; Václavky (*Armillaria sp.*) 0,07. (RIEDER et al., 2011)

Výzkum na obsah rtuti v houbách proběhl také v Polsku v oblasti Boreckého lesa. Všechny houby monitorované v tomto experimentu splňovaly limit pro obsah rtuti v houbách a obsahovaly uvedené koncentrace rtuti v mg.kg^{-1} sušiny: Klouzek sličný (*Suillus flavus*) 0,60; Kozák habrový (*Leccinum griseum*) 0,86; Muchomůrka červená (*Amanita muscaria*) 0,97; Křemenáč osikový (*Leccinum rufum*) 0,0013; Kozák březový (*Leccinum scabrum*) 0,0012; Pýchavka obecná (*Lycoperdon perlatum*) 0,0034. (FALANDYSZ et al., 2002)

Obsah rtuti v Klouzku obecném (*Suillus luteus*), byl sledován v rámci střední, východní a severní Evropy. Měření bylo zaměřeno na stanovení obsahu rtuti v klobouku a ve třeni. Ve Švédsku, v regionu Umeå, byly naměřeny hodnoty rtuti v klobouku

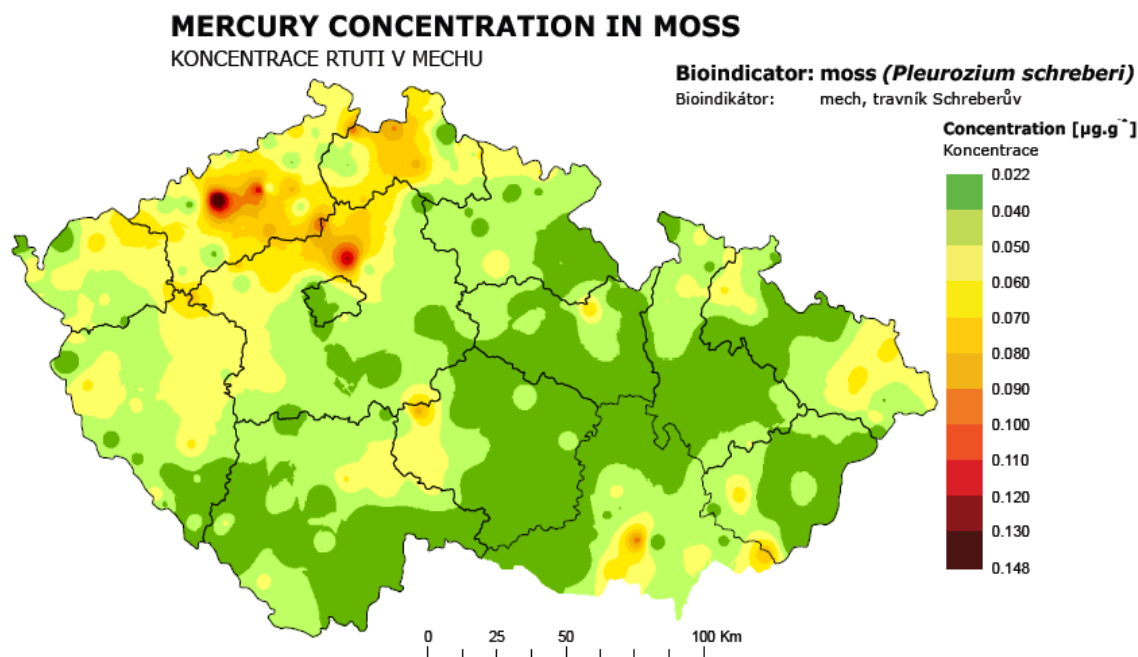
0,075 – 0,17 mg.kg⁻¹ sušiny a ve třeni 0,054 – 0,074 mg.kg⁻¹ sušiny. V Bělorusku v okolí měst Borysów a Kostryca obsahoval klobouk 0,09 – 0,15 mg Hg/kg sušiny a třeň 0,038 – 0,073 mg Hg/kg sušiny. V Polsku pocházely vzorky hub převážně ze severních částí země a výsledné množství rtuti bylo v klobouku 0,07 – 0,33 mg.kg⁻¹ sušiny a ve třeni 0,014 – 0,097 mg.kg⁻¹ sušiny. Přestože byly vzorky hub odebrány ve třech různých zemích, obsahovaly podobné koncentrace rtuti v klobouku i třeni. (SABA et al., 2016)

3.5.2 Mechy

Mechy spolu s lišejníky jsou často využívány jako bioindikátory pro biomonitoring kovů v životním prostředí. Ionty kovů mohou lehce projít do buněčné stěny, protože mechy neobsahují kutikulu ani epidermis. V mezibuněčných prostorech pak dochází k vazbě iontů na funkční skupiny pektinů. Mechy patří mezi necévnaté rostliny. Nemají pravé kořeny, ale přichytná vlákna (rhizoidy), jimiž se přichytávají k podkladu. Živiny, vodu a minerální látky přijímají převážně z atmosféry. Mechy mají podobné chování jako iontoměniče – akumulují kovy pasivním transportem. (CIBULKA, 1991; SZCZEPANIAK et al., 2003)

Také na plochách ICP Forests proběhl monitoring obsahu rtuti v mechách. Jako bioindikátor byl použit epifytický mech Rokyt cypřišovitý (*Hypnum cupressiforme*), u něhož byl nalezen obsah rtuti o průměru 0,222 mg.kg⁻¹ sušiny (0,117 – 0,557 mg.kg⁻¹) a Dvouhrotec chvostnatý (*Dicranum scoparium*), s průměrným obsahem rtuti 0,235 mg.kg⁻¹ sušiny (0,122 – 0,475 mg.kg⁻¹). (UHLÍŘOVÁ et al., 1998)

Na obrázku č. 7 jsou vidět místa s nejvyšší koncentrací rtuti v mechu na území České republiky. Údaje pochází z roku 2002. Obsahy rtuti se ve vzorcích mechu pohybovaly v rozmezí 0,020 – 0,105 µg.g⁻¹ sušiny, průměr byl kolem 0,052 µg.g⁻¹. Podle studie tyto hodnoty indikují rozmezí průměrného ročního spadu rtuti 4 – 18 µg.m⁻²/rok. Vyšší koncentrace rtuti byly zjištěny v černouhelné oblasti, na středozápadu Čech a na jižní Moravě, úroveň spadu byla v rozmezí 9 - 18 µg.m⁻²/rok. (ADAMEC, 2006)



Obr. 7 Koncentrace Hg v mechu na území ČR

(www.norwaygrantcz0074.eu)

V rámci Evropy proběhl monitoring u několika druhů mechu (Trávník Schreberův (*Pleurozium schreberi*), Rokyt cypřišovitý (*Hypnum cupressiforme*), Rokyt světlý (*Hylocomium splendens*), Lazovec čistý (*Pseudoscleropodium purum*)). Nejvyšší koncentrace rtuti v mechu byla nalezena v Albánii a Makedonii (některé hodnoty nad $0,20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), dále v Itálii (region Bolzano), na jihovýchodě Polska a na severu Francie. V průměru se obsah rtuti pohyboval v rozmezí $0,50 - 0,057 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny. (HARMENS et al, 2015)

3.6 Metody stanovení mobilních forem rtuti v půdách

Stanovení mobilních (tj. potenciálně biodostupných) forem rtuti v půdách je důležitým kritériem pro hodnocení kvality půdy. K tomuto stanovení jsou zapotřebí analytické metody, které jsou schopny změřit i velmi nízké koncentrace (jednotky $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$, případně $\text{ng}\cdot\text{dm}^{-3}$) rtuti v půdě, přičemž se musí zajistit, aby nedocházelo k možné kontaminaci, ztrátám, či fyzikálně-chemickým změnám vzorku při odběru, transportu a při jeho samotné úpravě k analýze. Proto se používají techniky *in situ*, kdy se omezí manipulace se vzorkem a zabrání se tak jeho případné kontaminaci, ztrátě a změně. Metody *in situ* jsou výhodné díky tomu, že mají prekoncentrační schopnost, umožňují přesnou analýzu při nízkých koncentracích, mohou měřit koncentrační gradienty a toky

látek i v méně přístupných oblastech a proti ostatním metodám nejsou tolik nákladné. (SZKANDERA et al., 2013) Pro stanovení mobilních forem rtuti se nejčastěji používají sekvenční extrakce a technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT).

3.6.1 Technika DGT

Vzorkovací gelová technika difúzního gradientu v tenkém filmu – DGT (Diffusive Gradients in Thin films technique) byla vyvinuta v roce 1994 na Lancasterské univerzitě ve Velké Británii a jejími zakladateli jsou Hao Zhang a William Davison. Tato technika dokáže stanovit velké množství labilních specií stopových, minoritních a majoritních kovů v přírodních vodách, řekách, mořské vodě a využívá se i pro stanovení koncentračních gradientů a toků v sedimentech a půdách. Mimo to výsledky poskytují také informace o kinetice procesů probíhajících v sedimentech či půdách a o formách kovů, které se vyskytují v pozorovaných systémech. (SZKANDERA et al., 2013; ŘEZÁČOVÁ-SMETKOVÁ, 2005)

DGT technika pro stanovení rtuti využívá jednoduchou vzorkovací jednotku ve tvaru pístu, kdy jsou mezi spodním plastovým pístem a horním plastovým víčkem uzavřeny dvě vrstvy hydrogelů spolu s membránovým filtrem. Hydrogel přiléhající k pístu je sorpční povahy a druhý gel je difúzní. Difúzní gel je překryt membránovým filtrem, aby nedocházelo k poškození vnějšími vlivy. Principem techniky DGT je difúze iontů z vnějšího prostředí přes difúzní na sorpční gel. K difúzi dochází tak dlouho, dokud není kapacita sorpčního gelu nasycena. (DIVIŠ, 2013; DOČEKALOVÁ, 2003)

3.6.1.1 Druhy gelů

Volbou sorpčního media a difúzního gelu jsme schopni určit, které formy kovů budou technikou DGT měřeny.

Difúzní gel: jeho základní vlastností je velikost pórů, která určuje, jak velké specie mohou gelem procházet – můžeme tedy zvolit, zda bude možná difúze anorganických forem kovů, popřípadě difúze kovů v malých či velkých komplexech. Velikost pórů se zvolí při jeho přípravě výběrem síťovadla a monomeru.

Při technice DGT se nejčastěji používá polyakrylamidový gel (APA), jehož příprava spočívá v polymerizaci směsi monomerního akrylamidu a agarózového síťovadla po dodání iniciátoru polymerizační reakce $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$ a katalyzátoru (*N,N,N',N'*-tetramethyl-ethylendiamin). Vzniklý polyakrylamidový gel má velikost pórů je 2 – 5 nm. Používání polyakrylamidového difúzního gelu se pro stanovení

mobilních forem rtuti se v literatuře nedoporučuje, protože dochází k vazbě sloučenin rtuti na jeho amidové skupiny. (PELCOVÁ, 2014)

Pro stanovení mobilních forem rtuti je doporučován agarózový gel (AGA). Agaróza je lineární polysacharid tvořený jednotkami agarobiosy, které se opakují a jsou složeny z β -D-galaktopyranosy a 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranosy. Agaróza se v horké vodě rozpouští a vytváří dvoušroubovice, které se chlazením roztoku seskupují do trojrozměrné struktury pomocí hydrofobních interakcí a vodíkových vazeb. Velké póry agarózového gelu (póry nad 20 nm) jsou schopny propustit i větší soubor komplexů s huminovými a fulvovými kyselinami.

Druhé základní kritérium pro difúzní gely je jejich tloušťka. Čím víc se tloušťka gelu zvýší, tím delší je doba difúze (D – difúzní koeficient analytu v gelu ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), t = doba difúze v sekundách, Δg - tloušťka difúzní vrstvy (difúzní gel + membránový filtr) v cm, konstanta $\pi = 3,14$):

$$t = \frac{\Delta g^2}{D \times \pi} \quad (1)$$

Kineticky labilní komplexy se při difúzi gelem disociují a následně dochází k vazbě kovu na funkční skupiny iontoměniče na sorpčním gelu. Širší difúzní gely se využívají v případě, chceme-li umožnit průchod stabilnějším komplexům, které se při průchodu difúzním gelem stihnou disociovat. (DIVIŠ et al., 2005)

Sorpční gel: výběr sorpčního gelu souvisí s povahou měřených látek. Volbou iontoměniče s vyšší afinitou můžeme ovlivnit stabilitu kovových komplexů. Mezi hlavní požadavky při výběru iontoměniče patří jeho stabilita v prostředí při různém pH, kapacita a selektivita. (MARHOL, 1976) Ionty, které difundovaly z roztoku přes difúzní gel, jsou zachyceny na iontoměniči spodní vrstvy gelu. Po navázání iontů na sorpční medium se vytvoří lineární koncentrační gradient, jenž se v difúzním gelu ustanoví za velmi krátkou dobu. Pokud je koncentrace kovu v systému během analýzy konstantní, zůstává konstantní i koncentrační gradient. Pomocí 1. Fickova zákona difúze lze vypočítat tok iontu F přes difúzní vrstvu ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}$) o tloušťce Δg podle následující rovnice:

$$F = D \times \frac{dc}{dx} = \frac{D \times (c - c_0)}{\Delta g} \quad (2)$$

kde D – difúzní koeficient analytu v gelu ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), c – koncentrace analytu v měřeném roztoku, c_0 – koncentrace analytu na povrchu sorpčního gelu ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) a cd/dx je koncentrační gradient ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-4}$). Tok iontů přes difúzní vrstvu o tloušťce Δg (v cm) lze definovat jako M – množství kovu, které za čas t difúzí prošlo do difúzního gelu o ploše A v cm^2 (DIVIŠ, 2013; GÓMEZ et al., 2012):

$$F = \frac{M}{A \times t} \quad (3)$$

Sloučením rovnic 2 a 3 dostaneme rovnici 4 pro výpočet koncentrace v měřeném systému:

$$c = \frac{M \times \Delta g}{D \times A \times t} \quad (4)$$

Tento vzorec je platný pro výpočet koncentrace analytu v pórové vodě sedimentu (půdy), pokud je analyt ze sedimentu do pórové vody uvolňován dostatečně rychle a dochází k rychlému vyrovnání deficitu koncentrace analytu, který vznikne poté, co jednotka DGT nasaje analyt.

V případě, že nedojde k rychlému vyrovnání koncentrační změny analytu v pórové vodě a půdě, je difúze dána rovnicí 2. Fickova zákona:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \times \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (5)$$

Současnou aplikací dvou jednotek DGT o odlišné tloušťce difúzní vrstvy gelu (Δg_1 a Δg_2 (kdy $\Delta g_1 > \Delta g_2$)) nebo pomocí poměru R zjistíme, jak moc je z tuhé fáze půdy doplňován analyt do pórové vody. V rovnici 6 představuje c_{DGT} – obsah kovů, které jsme změřili za pomoci techniky DGT a $c_{solution}$ (někdy též c_{pv}) – celkovou koncentraci kovu v půdním roztoku. Pro výpočet poměru R je nutné, aby koncentrace analytu v pórové vodě byla stanovena pomocí jiné dostupné a srovnatelné techniky.

$$R = \frac{c_{DGT}}{c_{solution}} \quad \{0 < R < 1\} \quad (6)$$

Pokud je hodnota R blízko číslu 1, znamená to, že je kov přítomen v labilních formách, půda dokáže rychle doplnit kov z pevné fáze a vyrovnat jeho koncentraci kolem DGT jednotky. Blíží-li se hodnota R k 0, znamená to, že k doplnění kovu z pevné fáze půdy nedochází a koncentrace kovu kolem DGT jednotky klesá v závislosti na čase. (DIVIŠ et al., 2005; NOWACK et al., 2004)

Pro stanovení mobilních forem rtuti se nejčastěji používají sorpční polyakrylamidové gely obsahují pryskyřice s thiolovými funkčními skupinami. Jsou to např. Spheron – Thiol, Duolite GT73, Ambersep GT74, Iontosorb AV-MP, gel se silikagelem obsahující 3 – merkaptopropylové funkční skupiny (SH-KG gel). Gel Ambersep GT74 a Duolite GT73 mají velmi podobnou selektivitu pro stanovení kovů a to v následujícím pořadí: $Hg > Ag > Cu > Pb > Cd > Ni > Co > Fe > Ca > Na$. Spheron – Thiol je vhodný pro měření vod s pH 6 – 8. V poslední době se často používá gel s nanočásticemi oxidu titaničitého (TiO_2), ten je nevhodný pro měření mořské vody, kvůli chloridům, které pevně vážou rtuť ve stabilních chlorokomplexech. Sorpční gely mají různou sorpční schopnost, která klesá následovně: Duolite GT73 > Spheron Thiol > Iontosorb AV-MP > TiO_2 . Existují i další druhy gelů, např. Sumichelate Q10 a Chelex 100. Sumichelate Q10 spolu se Spheron – Thiolem se již nevyrábí. Nepoužívá se ani Chelex 100, který je pro stanovení forem rtuti vázaných v huminových kyselinách nevhodný. Chelex 100 je vhodný pouze pro stanovení rtuti vázané ve slabých anorganických sloučeninách obsahujících například uhličitany, chloridy a hydroxidy. Sorpční gel se silikagelem obsahující 3 – merkaptopropylové funkční skupiny (SH-KG gel) spolu s agarózovým gelem je vhodný pro stanovení methylrtuti. (DIVIŠ, 2013; PELCOVÁ et al., 2015; SZKANDERA et al., 2013)

Množství zachyceného kovu na sorpčním gelu je možné stanovit běžnými instrumentálními analytickými metodami, např. metodou ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), ICP-AES (atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem), ET-AAS (atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací), nebo pomocí přístroje AMA 254 (jednouúčelový atomový absorpční spektrometr). (DIVIŠ, 2013; DOČEKALOVÁ, 2003; DOČEKALOVÁ et al, 2013)

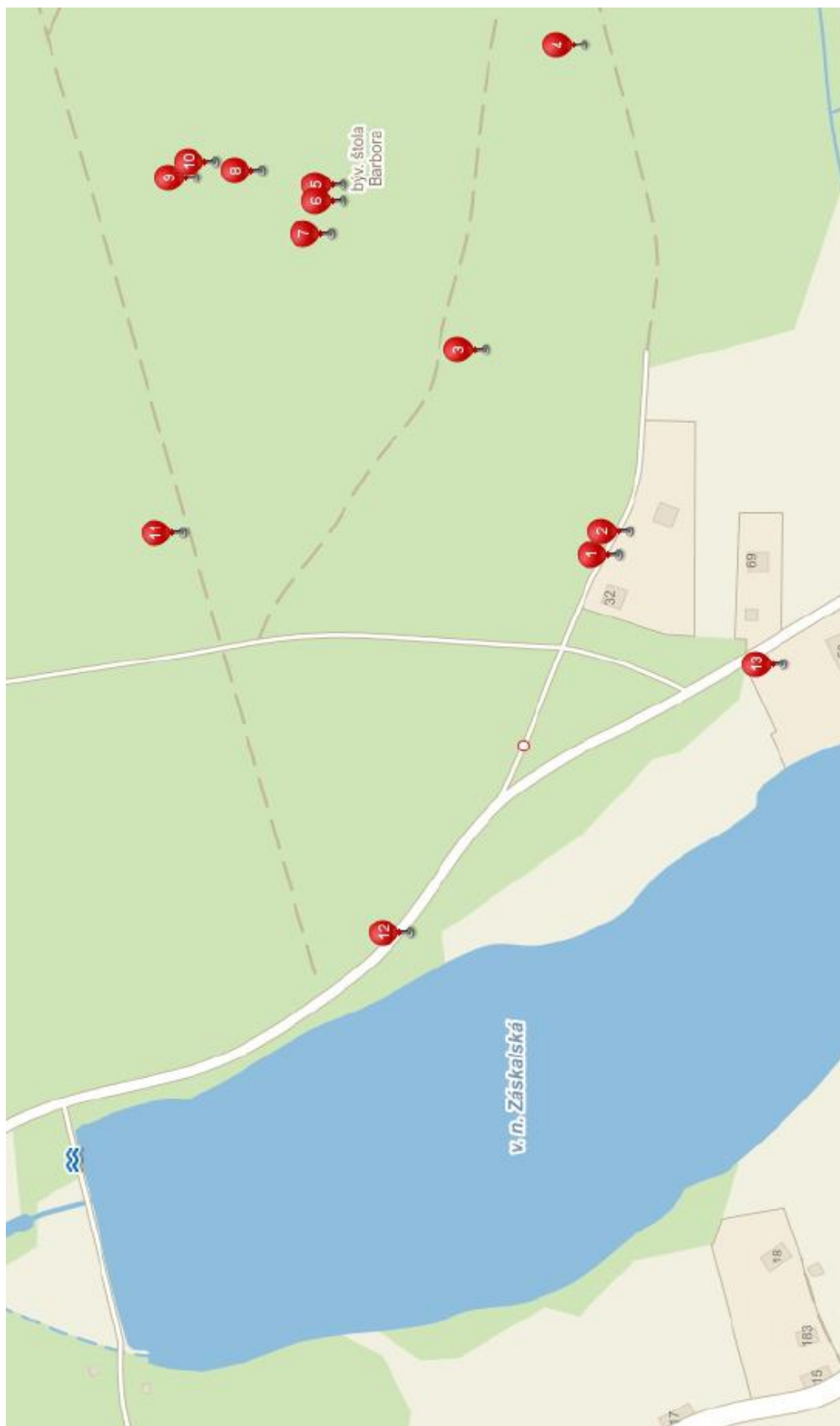


Obr. 8 *Vzorkovací jednotka pro DGT*
(www.dgtresearch.com)

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1.1 Místo odběru vzorků půdy

Vzorky půdy byly odebrány v okolí Jedové hory, která se nachází v Brdské vrchovině poblíž obce Hořovice ve Středočeském kraji. Hlavním využitím jižního svahu Jedové hory byla ve 14. století těžba železné rudy, ke které se v 18. a 19. století přidala i těžba cinabaritu neboli rumělky. Bylo odebráno celkem 13 vzorků půd, na obrázku č. 9 jsou vyznačeny jako červené body s čísly, 9 druhů hub (5 vzorků od každého druhu) – Bedla červenající, Pýchavka čokoládová, Muchomůrka růžová, Klouzek sličný, Hřib smrkový, Hřib kovář, Holubinka sesterská, Hřib žlutomasý, Hřib hnědý a 3 druhy mechů (4 vzorky od každého druhu – Bělomech skalní, Ploník ztenčený, Bělomech sivý. Vzorky hub a mechů pocházely z oblasti okolo štoly Barbora.



Obr. 9 Místa odběru vzorků půdy
(www.mapy.cz)

4.1.2 Odběr a úprava vzorků půdy, hub a mechů

Odběr vzorků se uskutečnil v srpnu roku 2014. Jednotlivé vzorky půdy byly získány po odstranění drnové vrstvy v hloubce přibližně 10 cm. Poté byly uloženy do plastových vzorkovnic a odvezeny do laboratoře, kde byl nejprve oddělen cizorodý materiál (kořeny, větve, kameny a jiný organický materiál). Následně byly vzorky rozmělněny, rozprostřeny a za laboratorních podmínek usušeny. Vysušené vzorky byly poté prosety na síť s rozměry ok 2 mm. Frakce, které zůstaly pod sítí, byly uchovány v plastových šroubovacích dózách pro analýzu a byly opatřeny číslem vzorku a datem odběru.

Vzorky hub a mechů byly po odebrání uloženy do plastových sáčků, dovezeny do laboratoře a uchovány při -18 °C. Před analýzou byly při teplotě laboratoře rozmrazeny, nakrájeny a změřeny na přístroji AMA 254.

4.2 Instrumentace

4.2.1 Použité chemikálie

Na experiment byly použity tyto chemikálie:

vysoce čistá demineralizovaná voda produkovaná pomocí systému Millipore Mili Q (Millipore, Bedford, MA, USA)

kyselina dusičná (Penta, Česká republika)

hydroxid sodný (Penta, Česká republika)

dusičnan sodný (Penta, Česká republika)

kyselina chlorovodíková (Penta, Česká republika)

agaróza pro elektroforézu (Merck, Německo)

agarózové síťovadlo (DGT Research Ltd., Quernmore, Lancater, Velká Británie)

peroxosíran amonný p.a. (Sigma-Aldrich, Německo)

akrylamid (Sigma-Aldrich, Německo)

N, N, N', N' - tetramethyldiamin (TEMED), (Sigma-Aldrich, Německo)

DGT cross-linker síťovadlo (DGT Research Ltd., Quernmore, Lancater, Velká Británie)

Ambersep GT74 (Rohm a Hass, Philadelphia, PA, USA)

standardní roztok Hg 1000 ± 0,2 mg.l-1 (Český metrologický institut, Česká republika)

kyslík (respirox), (Linde Technoplyn a.s., Česká republika).

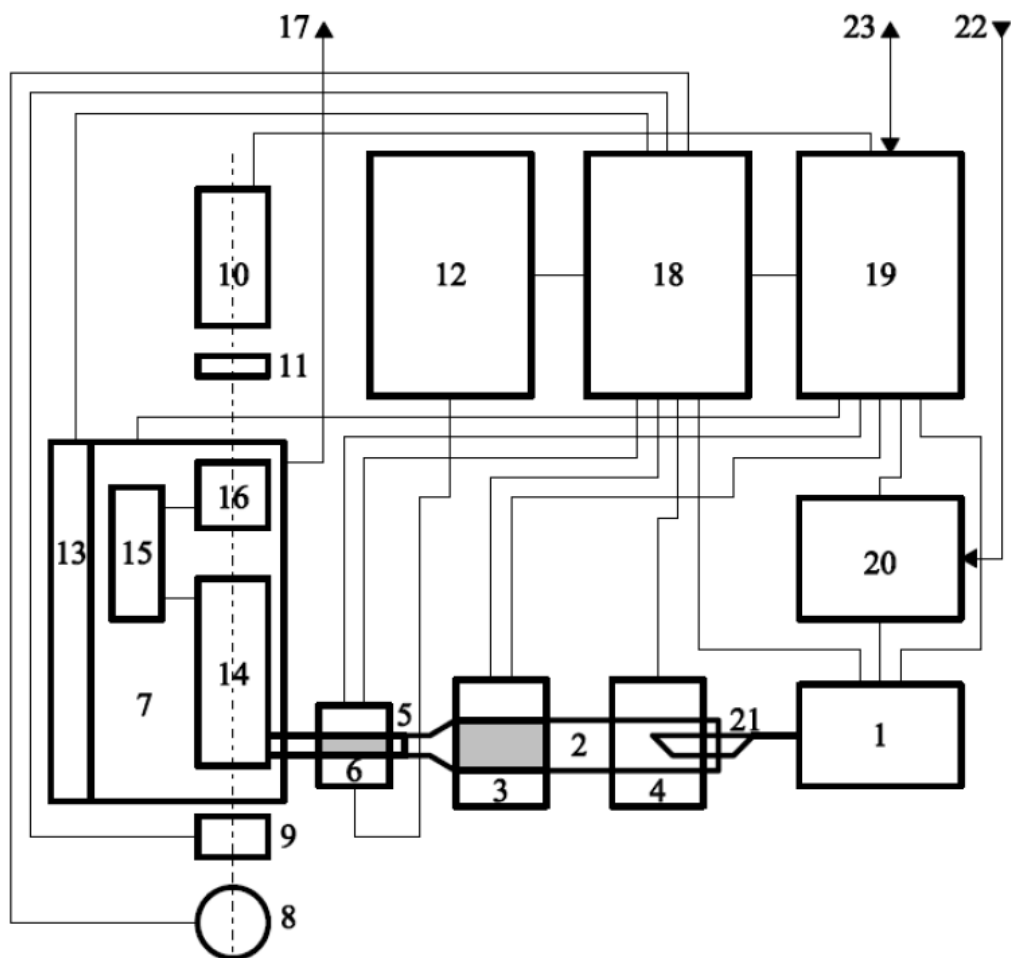
4.2.2 Stanovení rtuti v půdách pomocí AMA 254

4.2.2.1 AMA 254 (*Advanced mercury analyser*)

AMA 254 je jednoúčelový atomový absorpční spektrometr vyvinutý v České republice firmou Altec. Používá se pro přímé stanovení rtuti v pevných i kapalných vzorcích bez nutnosti chemické úpravy vzorků (separace, rozklad, mineralizace apod.).

AMA 254 využívá metody tepelného rozkladu vzorku v proudu nosného plynu – kyslíku, kdy se z rozloženého vzorku ve spalovací trubici uvolní veškeré sloučeniny rtuti a následně dochází k redukci na elementární rtuť, jejíž páry jsou po průchodu katalytickou trubicí zachyceny a zakoncentrovány na zlatém amalgamátoru. Z amalgamátoru je rtuť uvolněna ohřevem ve vypuzovací peci a přivedena k systému kyvet, kde dochází k měření absorbance atomových par rtuti při vlnové délce 253,65 nm.

Množství použitého vzorku k detekci záleží na předpokládaném množství rtuti ve vzorku. Nejčastěji je to 100 mg (nebo 150 µl) vzorku. Měřený vzorek o určité navážce se vloží do niklové spalovací lodičky a je vsunut do spalovací trubice, kde se ohřevem v proudu kyslíku vysuší a spálí. Rozkladné produkty putují ke katalyzátoru vyhřívanému na konstantní teplotu 550 °C, kde dochází k dokončení oxidace a zachycení látek kyselé povahy (halogeny, oxidy síry atd.), a dále ke zlatému amalgamátoru. Celý prostor plynové cesty až po výstup z bloku měřících kyvet je vyhříván na teplotu 120 °C, aby se zabránilo kondenzaci vody. Na amalgamátoru se selektivně zachycená rtuť krátce zahřeje a vzniklé rtuťové páry jsou pomocí nosného plynu vedeny na delší měřící kyvetu (zaznamenáno jako 1. pík) a poté přes zpožďovací nádobku (zaznamenáno jako minimum mezi píky) na menší měřící kyvetu (zaznamenáno jako 2. pík). Jako zdroj záření se používá nízkotlaká rtuťová výbojka. Detektor (Si UV dioda) s interferenčním filtrem měří absorbanci záření atomy rtuti o vlnové délce 253,65 nm a provádí se vyhodnocení metodou externí kalibrace, kdy se získaná data pošlou do řídicího počítače a jsou vyhodnocena. (ALTEC, 2002)



Obr. 10 Schéma přístroje AMA 254
(ALTEC, 2002)

| | | |
|-----------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| 1 dávkovací zařízení | 9 clonka | 17 vstupní kyslík |
| 2 spalovací trubice | 10 detektor | 18 analogová elektronika |
| 3 katalytická pec | 11 interferenční filtr | 19 mikropočítač 8051 |
| 4 spalovací pec | 12 chladič čerpadlo | 20 regulátor průtoku kyslíku |
| 5 amalgamátor | 13 topení bloku měř. kyvet | 21 dávkovací lodička |
| 6 vypuzovací pec | 14 delší měř. kyveta (2. rozsah) | 22 vstup kyslíku |
| 7 blok měřících kyvet | 15 zpoždovací nádobka | 23 komunikace s PC |
| 8 rtuťová výbojka | 16 kratší měř. kyveta (1. rozsah) | |

Tab. 2 *Technické parametry AMA 254 (ALTEC, 2002)*

| | |
|--|--|
| Uspořádání | jednopaprskový přístroj, sériové uspořádání měřicích kyvet |
| Zdroj záření - vlnová délka | nízkotlaká Hg výbojka 253,65 nm |
| Detektor - mez detekce - opakovatelnost | křemíková UV dioda 0,01 ng Hg < 1,5 % |
| Nosný plyn - vstupní tlak - průtok | kyslík 200 – 250 kPa 200 ml.min ⁻¹ |

4.2.2.2 Měření na přístroji AMA 254

Před vlastní analýzou vzorku je nutné provést vyčištění přístroje AMA 254 od zbytkové kontaminace po předešlém měření. Nejprve otevřeme přívod kyslíku (průtok 200 ml.min⁻¹), zapneme přístroj AMA 254 a PC a počkáme přibližně 30 minut, než se podmínky v peci přístroje ustálí. Spustíme program CLEAN určený pro vyčištění přístroje, který má tři fáze – sušení 300 sekund, termický rozklad 250 sekund, čekání 45 sekund, a vsuneme niklové dávkovací lodičky do spalovací trubice pomocí dávkovacího zařízení. Proces čištění opakujeme do dosažení konstantní hodnoty absorbance.

Po vyčištění přístroje následovalo vlastní měření vzorků. Vzorky půdy, hub a mechů byly naváženy na vyčištěné niklové lodičky a pomocí pinzety přeneseny na dávkovací zařízení přístroje AMA 254. Protože vzorky půdy obsahovaly velmi vysoké koncentrace rtuti, bylo před vlastní analýzou provedeno jejich naředění půdou s obsahem rtuti nižším než LOD metody. Tato půda byla získána vyžiháním při 600 °C. Lodička s navázkou 500 mg ± 0,1 mg vzorku půdy (naředěné vyžiháním půdou 1:100), popřípadě se vzorkem hub či mechu (100 mg ± 0,1 mg) byla vložena do přístroje a pomocí programu ANALYSIS byla spuštěna vlastní analýza – sušení 60 sekund, termický rozklad 150 sekund, čekání 45 sekund. Každý vzorek půdy, hub či mechu byl měřen třikrát. Veškerá data byla ukládána do počítače v databázi MSDE (Microsoft Data Engine).

Kalibrace přístroje byla před měřením ověřována pomocí kontrolního standardu o koncentraci 0,2 mg.l⁻¹ Hg, který byl naředěn ze standardního roztoku Hg 1 g.l⁻¹ (Mercury standard for ICP-MS, Kanada).

Pro validaci metody byl použit referenční materiál CRM 700 (Analytika, Česká republika). Jedná se o jílovitou půdu. Relativní směrodatná odchylka (RSD) stanovení byla 2,85 % (při obsahu Hg 0,010 mg.kg⁻¹, n = 10). Mez detekce metody byla 0,1 µg.kg⁻¹ (při hmotnosti vzorku 100 mg ± 0,1 mg).

4.3 Stanovení sušiny

4.3.1 Sušina půd, hub a mechů

Sušina byla stanovena u vzorků půd, hub a mechů. Houby byly rozděleny na klobouk a třeň (nohu), kde se sušina stanovovala zvlášť.

Do porcelánové váženky, která byla předem důkladně vmyta a usušena a zvážena, byl navážen vzorek půdy s přesností na 4 desetinná místa. Vzorek byl vysoušen v sušárně při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti (houby 5 hodin a 15 minut, mechy 2 hodiny a 37 minut). Poté se vzorek vložil do exsikátoru se silikagelovou náplní a po vychladnutí se zvážil s přesností na 4 desetinná místa. Podle rovnice 7 pak byla vypočtena sušina vzorku z rozdílů hmotnosti vzorku před (m_1) a po vysušení (m_2).

$$S = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100[\%] \quad (7)$$

4.4 Stanovení pH půd

4.4.1 pH půd stanovené ve vodě

Do kádinek o objemu 50 ml bylo naváženo 10 g vysušené půdy a přidáno 25 ml destilované vody, která se předem 5 minut vařila kvůli odstranění CO₂. Vzniklá suspenze se po dobu 5 minut míchala skleněnou tyčinkou a poté se nechala odstát 2 hodiny. Po uplynutí 2 hodin byla do suspenze vnořena kombinovaná elektroda předem kalibrovaného pH-metru WTW inoLab pH 720 a na přístroji byla odečtena hodnota pH. (ZOUBKOVÁ, 2012)

4.4.2 pH půd stanovené v 1M KCl

Do 50 ml kádinek bylo naváženo 10 g vysušené půdy a bylo přidáno 25 ml 1M roztoku KCl. Suspenze se poté skleněnou tyčinkou 5 minut míchala a nechala se stát po dobu 24 hodin. Druhý den po uplynutí 24 h bylo změřeno pH pomocí kombinované elektrody pH metru WTW inoLab pH 720. (ZOUBKOVÁ, 2012)

4.5 Stanovení zrnitostního složení půdy a celkového obsahu uhlíku, dusíku a síry ve vzorcích půd

Stanovení byla prováděna Národní referenční laboratoří Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského v Brně.

Stanovení zrnitostního složení bylo provedeno pipetovací metodou, která využívá hydrosuspenze (vzorek půdy je rozptýlen ve vodě) a rozdílu v rychlosti pádu půdních částic v závislosti na jejich velikosti. K vyhodnocení byla využita klasifikace půdního druhu dle Nováka, která vychází z údajů o procentuálním zastoupení částic < 0,01 mm (tzv. jílnaté částice) ve vzorku. Stanovení bylo provedeno dle jednotného pracovního postupu č. 330250.1 ÚKZÚZ.

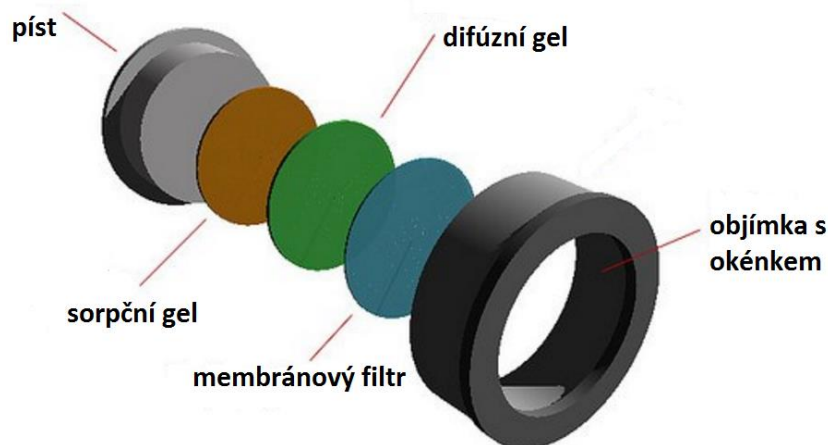
Stanovení celkového obsahu uhlíku a dusíku bylo provedeno metodou NIR spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti (4000 – 10000) cm^{-1} tj. (1000 – 2500) nm s reflektanční detekcí podle normy ČSN EN ISO 17184.

Stanovení celkového obsahu síry bylo provedeno optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) při vlnové délce 181,978 nm po kyselém rozkladu vzorku dle jednotných pracovních postupů č. 30350.1 a 30500.1 ÚKZÚZ.

4.6 Stanovení mobilních forem rtuti v půdách pomocí DGT

4.6.1 Vzorkovací jednotka

Při experimentu byly použity plastové vzorkovací jednotky (DGT Research Ltd.) složené z plastového pístu – těla a horního prstencového víčka s expozičním okénkem. (DIVIŠ, 2013) Mezi píst a víčko jsou vkládány gely jako na obrázku č 11.



Obr. 11 Diagram DGT jednotky

(<https://storify.com/QUBmoocsfood/working-with-dgt-to-assess-nutrient-uptake-in-plan>)

4.6.2 Příprava gelů

Byly připraveny dva druhy gelu – jako difúzní gel byl zvolen agarózový gel, který je pro stanovení mobilních forem rtuti nejvhodnější a jako sorpční gel byl vybrán gel s obsahem pryskyřice Ambersep GT74. Difúzní gel byl připraven dle návodu Zhang a Davison. (ZHANG H. et al., 1999), sorpční gel dle postupu uvedeného v publikaci (PELCOVÁ et al., 2014)

4.6.2.1 Příprava difúzního gelu

Difúzní agarózový gel byl připraven z 1,5% roztoku agarózy – 0,15 g agarózy bylo kvantitativně převedeno do Erlenmayerovy baňky a bylo přidáno 10 ml horké ultračisté vodě (MQ) zahřáté na 80 °C. Baňka byla spolu se směsí umístěna do vodní lázně, kde došlo pomocí intenzivního míchání k rozpuštění směsi. Po rozpuštění agarózy bylo 5 ml vzniklého gelu pipetou nanášeno mezi dvě nahřátá skla (nahřátí v sušárně při 80 °C, aby gel, který přichází se sklem do kontaktu, ihned neztluhl a rovnoměrně se rozprostřel) oddělená distanční folií o tloušťce 0,5 mm. Skla byla sepnuta pomocí svorek, jak je ukázáno na obrázku č. 12 a nechala se zchladit na laboratorní metodu ve vertikální poloze. Poté se skla od sebe opatrně oddělila pomocí stříčky s destilovanou vodou a vzniklý gel byl vykrájen na kolečka o průměru 2,5 cm. Kolečka gelu o tloušťce 0,5 mm byla pak uchována v plastové nádobce s MQ vodou v lednici při teplotě 4 °C.



Obr. 12 Připravená skla s distanční folií pro výrobu gelu
(foto vlastní)

4.6.2.2 Příprava sorpčního gelu Ambersep

Na přípravu sorpčního gelu byl použit gelový roztok, který obsahoval 40% akrylamid (1,88 ml), DGT cross-linker (0,75 ml) a MQ vodu (2,37 ml). Tyto látky byly odpipetovány do plastové zkumavky a důkladně smíchány ve třepačce. Před přípravou sorpčního gelu bylo nutné nejprve Ambersep GT74 přechistit koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, promýt vodou a usušit při 45 °C. Po vysušení byl Ambersep GT74 drcen a proset přes síto o velikosti ok 0,1 mm. Ke 3 ml vzniklého gelového roztoku bylo přidáno 0,376 g přečištěné a podrcené pryskyřice Ambersep GT74 a znovu se směs protřepala, aby se zamezilo usazeninám. Dále bylo přidáno 9 µl TEMED, 18 µl peroxosíranu amonného a 1 ml MQ vody. Hotový roztok gelu byl důkladně protřepán a ihned opatrně napipetován mezi skleněné desky oddělené distanční folií o tloušťce 0,25 mm, tak, aby nevznikaly bubliny, které by gel znehodnotily. Skleněné desky s gelem byly umístěny do sušárny v horizontální poloze, kde zůstaly při 40 °C po dobu 45 minut. Poté se skla od sebe opatrně oddělila pomocí stříčky s destilovanou vodou a vzniklý gel byl uložen v MQ vodě v lednici do druhého dne, dokud gel nenabobtnal do konstantní tloušťky. Z gelu byla vykrájena kolečka o průměru 2,5 mm, která pak byla uchovávána v plastové nádobce s MQ vodou v lednici při teplotě 4 °C.

Aplikace DGT jednotek do půdní suspenze

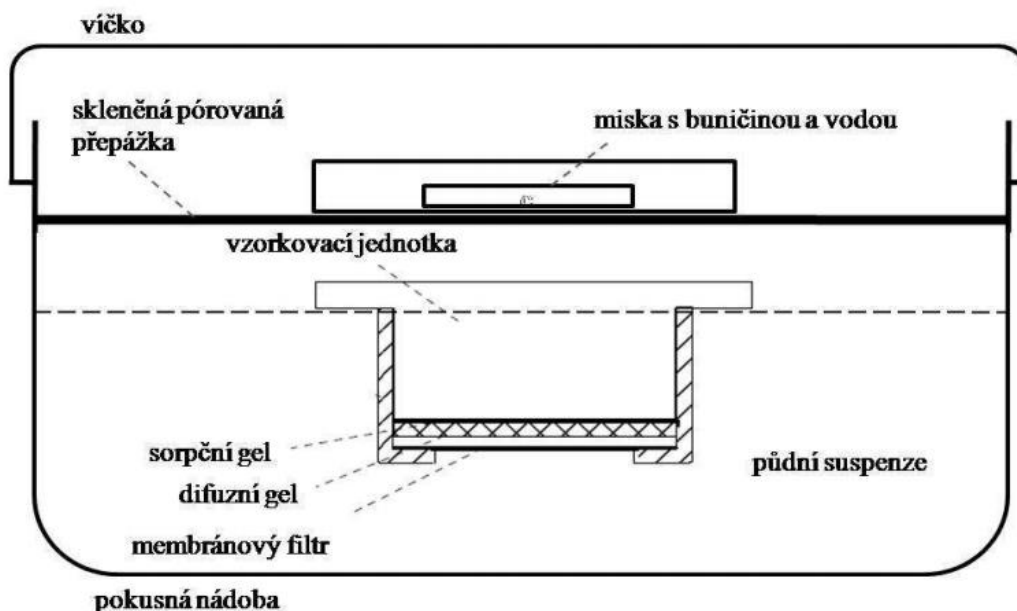
Pro aplikaci DGT jednotek do půdy byla v plastové misce vytvořena půdní suspenze z 55 g vzorku půdy a 33 ml deionizované vody. Po zamíchání půdy a vody vznikla suspenze, na kterou se položila skleněná destička s Petriho miskou, v níž byla navlhčená buničina. Celá plastová miska byla uzavřena víčkem a ponechána 7 dní při teplotě 21 °C, aby došlo k ustálení rovnováhy obou fází. Po 7 dnech bylo odkryto víčko a do ustálené suspenze byly zanořeny vzorkovací DGT jednotky.

Před samotnou aplikací DGT jednotek do půd byla zapotřebí jejich kompletace. Kompletace probíhala vždy těsně před vnořením DGT jednotek do půdní suspenze. Nejprve se vzorkovací jednotky vyčistily ponořením do 10% kyseliny dusičné na dobu 24 hodin a poté byly opláchnuty demineralizovanou vodou. Na takto vyčištěné plastové jednotky byly kladeny gely. Na píst byl položen sorpční gel, způsobem, že vrstva sedimentovaných částic sorbentu směřovala k expozičnímu okénku. Další vrstvu tvořil difúzní gel, jenž byl překryt polyethylensulfonovým membránovým filtrem (velikost pórů 45 µm), který přicházel do kontaktu s vnějším prostředím a chránil difúzní gel před poškozením. Nakonec bylo přiklopeno horní víčko s expozičním okénkem o průměru 2 cm. Připravené DGT jednotky byly nejprve opláchnuty deionizovanou vodou a poté vnořeny do půdní suspenze tak, aby mezi jednotkou a suspenzí nevznikaly vzduchové bubliny. Na zanořené DGT jednotky byla opět položena skleněná destička s Petriho miskou a navlhčenou buničinou a celý systém byl uzavřen víčkem (obrázek č. 13 a 14). Misky byly popsány číslem půdy a datem a byly uloženy na temném místě při 21 °C. První měření proběhlo 1 den od zavedení DGT jednotek do půdní suspenze. Další měření následovala 2., 5., 7., 9., 12., 14., a 16. den.

Po ukončení expozice byly vzorkovací DGT jednotky rozebrány a jednotlivé gely odděleny. K analýze pomocí přístroje AMA 254 byl použit pouze sorpční gel a centrifugovaná voda z vodní suspenze.



Obr. 13 Vzorkovací jednotky DGT ponořené v půdě
(foto vlastní)



Obr. 14 Schéma DGT jednotky aplikované v plastové misce s půdní suspenzí
(http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/11/11-kleckerova_opvk.pdf)

4.6.3 Měření koncentrace rtuti v sorpčním gelu přístrojem AMA 254

Sorpční gel byl oddělen od difúzního gelu a opláchnut deionizovanou vodou. Z půdní suspenze byla odlita voda a centrifugována. Celý očištěný gel byl smotán na niklovou lodičku a vložen na dávkovací zařízení přístroje, z jedné misky byly změřeny vždy 4 gely. Z centrifugovaného vzorku bylo odebráno 100 μ l horní čisté vrstvy vody, měření bylo provedeno třikrát. Analýza gelů i vod probíhala stejným způsobem jako u vzorků půd (viz kapitola 4.2.2.2 Měření na přístroji AMA 254).

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro vyhodnocení naměřených výsledků byl použit program Microsoft Excel 2010. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí aritmetických průměrů, směrodatných odchylek a korelací. Pro zjištění korelace mezi jednotlivými výsledky byl použit Pearsonův korelační koeficient. Obsahy rtuti u hub a mechů byly přepočteny na sušinu a stanoveny v mg.kg^{-1} .

5.1 Stanovení celkového obsahu rtuti v půdách

Bylo odebráno celkem 13 vzorků půd (viz mapa na obrázku č. 9), které byly analyzovány pomocí přístroje AMA 254. Koncentrace rtuti v odebraných vzorcích půd jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tab. 3 Koncentrace rtuti v půdách (mg.kg^{-1})

| Číslo vzorku půdy | Obsah rtuti v půdě (mg.kg^{-1}) |
|----------------------|---|
| 1 | $54,88 \pm 0,01$ |
| 2 | $19,59 \pm 0,02$ |
| 3 | $45,46 \pm 0,08$ |
| 4 | $6,47 \pm 0,01$ |
| 5 | $35,35 \pm 0,04$ |
| 6 | $22,14 \pm 0,02$ |
| 7 | $276,18 \pm 0,09$ |
| 8 | $4,55 \pm 0,01$ |
| 9 | $4,02 \pm 0,01$ |
| 10 | $2,62 \pm 0,01$ |
| 11 | $1,25 \pm 0,01$ |
| 12 | $23,02 \pm 0,01$ |
| 13 | $6,25 \pm 0,01$ |

Limitními hodnotami rtuti v půdách se zabývá Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb., která stanovuje maximální přípustné množství rtuti v lehkých půdách $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny a v ostatních půdách $0,8 \text{ mg.kg}^{-1}$. Z výsledků uvedených v tabulce č. 3 a 4 je patrné, že ani jeden vzorek půd limit nesplňoval. Nejvyšší koncentrace rtuti byla naměřena u vzorku půdy č. 7, a to $276,14 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Odběrové místo vzorku půdy č. 7 se nachází poblíž bývalé štoly Barbora, jak je zobrazeno na obrázku č. 9. Nejnižší koncentrace rtuti byla $1,25 \text{ mg.kg}^{-1}$ a byla naměřena u vzorku půdy č. 11, který byl odebrán hlouběji v lese, ve větší vzdálenosti od bývalé štoly. Koncentrace rtuti v půdě se lišily podle místa odběru.

Odběrové místo Jedová hora se nachází v okrese Příbram, kde bylo Mazancem (1994) zjištěno množství rtuti v půdě v rozmezí $0,02 - 0,77 \text{ mg.kg}^{-1}$. Naše výsledky jsou v porovnání s touto hodnotou daleko vyšší, neboť se odběrová místa nachází v těsné blízkosti Jedové hory.

Tab. 4 *Určení půdního druhu vzorků půdy metodou dle Nováka*

| Číslo vzorku půdy | Půdní druh | Klasifikace půdy |
|------------------------------|-------------------|-------------------------|
| 1 | hlinitá | středně těžká |
| 2 | hlinitá | středně těžká |
| 3 | hlinitopísčítá | lehká |
| 4 | hlinitá | středně těžká |
| 5 | písčitohlinitá | středně těžká |
| 6 | písčitohlinitá | středně těžká |
| 7 | písčitohlinitá | středně těžká |
| 8 | hlinitá | středně těžká |
| 9 | hlinitá | středně těžká |
| 10 | písčitohlinitá | středně těžká |
| 11 | jílovitohlinitá | těžká |
| 12 | hlinitá | středně těžká |
| 13 | jílovitohlinitá | těžká |

Na základě zrnitostního složení půd stanoveného pipetovací metodou (měření bylo provedeno ÚKZÚZ), byl dle výsledných frakcí půdy určen půdní druh našich vzorků. Vyhodnocení bylo provedeno metodikou dle Nováka, která spočívá ve stanovení procentického zastoupení částic menších než $0,01 \text{ mm}$ (tzv. jílovité částice) ve vzorku. (JANDÁK et al., 2007) Nejčastěji šlo o druh hlinité půdy, které se nacházely v blízkosti lidských obydlí na zahradě, při cestách, nebo v lesním porostu.

Stanovení celkového obsahu síry, dusíku a uhlíku v půdách

Celkové obsahy síry se ve vzorcích půd pohybovaly v rozmezí 276 – 4660 mg.kg⁻¹, nejvyšší obsah byl zaznamenán u vzorku č. 13, nejnižší u vzorku č. 7. Podle Matuly (2007) se obsahy síry v půdách pohybují nejčastěji v rozmezí 85 – 250 mg.kg⁻¹. Stanovené obsahy jsou v porovnání s literaturou významně vyšší, protože se jedná o půdy odebrané v blízkosti štoly, kde probíhala těžba železné rudy i cinabaritu (HgS).

Celkový obsah dusíku ve vzorcích půd kolísal v rozmezí <0,04 – 0,56 %. Richter (2007) uvádí obsah dusíku v půdě 0,05 – 0,5 %. Nejvyšší obsah dusíku obsahoval vzorek č. 8, nejméně dusíku se vyskytovalo u vzorku č. 13. Námi zjištěné hodnoty celkového dusíku ve vzorcích půd odpovídaly hodnotám, které uvádí Richter (2007) ve své publikaci.

Celkový obsah oxidovatelného organického uhlíku se ve vzorcích půd pohyboval v rozmezí 0,93 – 9,10 %, kdy, stejně jako v případě dusíku, byly nejnižší hodnoty naměřeny u vzorku č. 13 a nejvyšší u vzorku č. 8.

Kutílek (2001) uvádí, že obsah uhlíku v nadzemních částech vegetace je přibližně třikrát nižší než obsah uhlíku v organických látkách v půdě. Množství uhlíku v půdě závisí na půdním typu – svrchní vrstva půdy v polopouštích obsahuje 0,8 % uhlíku, černozemě 4 %, trvale zamokřené půdy (gleje) 10 % a rašelinové půdy obsahují přes 50 % uhlíku. Z naměřených hodnot uvedených v tabulce č. 5. vyplývá, že, převážnou většinu vzorků půdy tvoří černozemě.

Tab. 5 Obsah síry, dusíku a organického uhlíku v půdách

| Číslo vzorku půdy | S (c)/sv (mg.kg ⁻¹) | N-NIR/sv % | Cox-NIR/sv % |
|-------------------|---------------------------------|------------|--------------|
| 1 | 513 | 0,19 | 4,31 |
| 2 | 368 | 0,14 | 3,71 |
| 3 | 357 | 0,19 | 4,54 |
| 4 | 653 | 0,25 | 4,71 |
| 5 | 1150 | 0,37 | 7,11 |
| 6 | 912 | 0,19 | 3,62 |
| 7 | 4660 | 0,19 | 3,84 |
| 8 | 1310 | 0,56 | 9,1 |
| 9 | 651 | 0,33 | 6,53 |
| 10 | 358 | 0,22 | 5,29 |
| 11 | 689 | 0,13 | 3,42 |
| 12 | 674 | 0,32 | 6,19 |
| 13 | 276 | 0,04 | 0,93 |

Stanovení pH půd

U 13 vzorků půd bylo provedeno stanovení aktivní půdní reakce (pH H₂O) a stanovení půdní reakce potenciální výměnné (pH KCl). Koncentraci vodíkových iontů v suspenzi půdy či vodním výluhu charakterizuje aktivní půdní reakce, výměnná půdní reakce udává schopnost půdy měnit pH roztoků neutrálních solí (elektrolytů), kdy vodíkové ionty poutané sorpčním komplexu půdy jsou vyměněny za ionty roztoku neutrální soli. (ZOUBKOVÁ, 2012) Půdy č. 1 a 6 byly vyhodnoceny jako slabě kyselé (rozmezí 5,6 – 6,5), zbylé vzorky půd č. 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 a 13 byly vyhodnoceny jako silně kyselé (číselné hodnoty menší pH než 4,5).

Tab. 6 Hodnoty pH v půdách

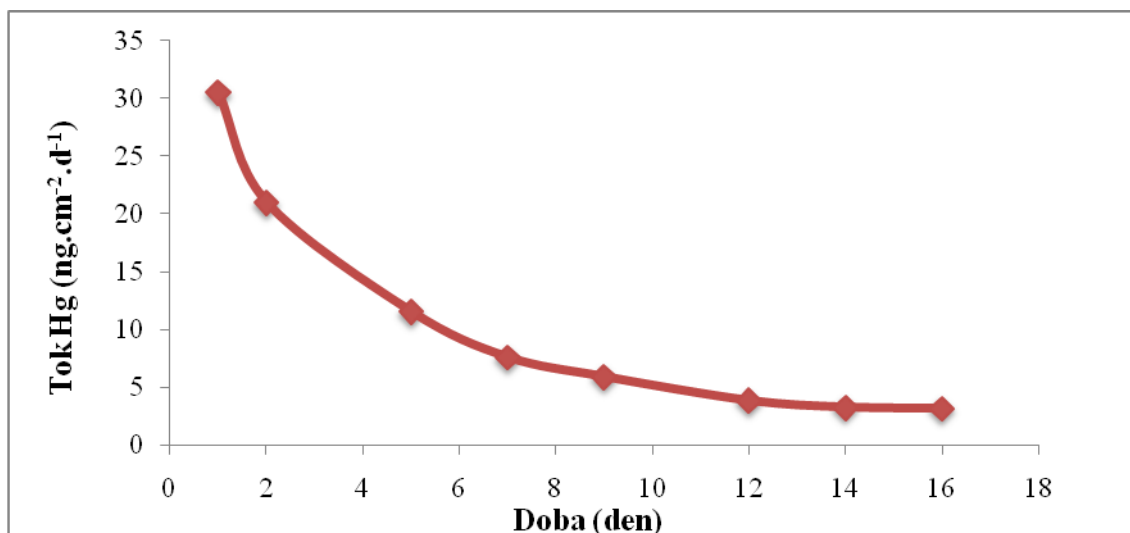
| Číslo vzorku půdy | pH H ₂ O (2 hod) | pH KCl (24 hod) |
|-------------------|-----------------------------|-----------------|
| 1 | 6,14 | 5,93 |
| 2 | 5,01 | 4,20 |
| 3 | 4,82 | 4,06 |
| 4 | 3,89 | 3,06 |
| 5 | 4,47 | 3,60 |
| 6 | 6,10 | 5,63 |
| 7 | 6,82 | 6,39 |
| 8 | 3,25 | 2,29 |
| 9 | 3,28 | 2,34 |
| 10 | 3,46 | 2,52 |
| 11 | 3,39 | 2,48 |
| 12 | 4,74 | 4,08 |
| 13 | 4,19 | 3,37 |

5.1.1 Časová závislost sorpce rtuti do gelů DGT

Biologická dostupnost rtuti souvisí s tokem kovu (F) z půdy do DGT jednotky. Dojde-li k odstraňování iontů kovu z půdního roztoku, kdy je kov vázán na sorpční gel DGT jednotky, může dojít k jeho opětovnému doplňování do půdního roztoku z pevné fáze půdy. DGT sondy pak podávají informace o kinetice uvolňování kovu z pevné fáze.

Závislost toku rtuti do sorpčního gelu byla u vzorku půdy č. 6 sledována 1 den po vnoření DGT jednotek do půdní suspenze a poté 2., 5., 7., 9., 12., 14., a 16. den, což je znázorněno na obrázku č. 15, ze kterého lze vyčíst, že tok iontů rtuti z půdního roztoku do sorpčního gelu Ambersep klesá úměrně s dobou expozice.

Rychlý počáteční pokles je zapříčiněn odčerpáváním rtuti z blízkosti DGT jednotky a nedostatečným doplňováním vyčerpaných iontů z půdy a vzdálenějších míst půdního roztoku. Z uvedeného grafu je tedy patrná silná vazba rtuti na pevnou fázi půdy a nedostatek mobilních forem rtuti.



Obr. 15 Časová závislost toku rtuti z pevné fáze do sorpčního gelu (Ambersep)

Tab. 7 R hodnoty ($R = c_{DGT}/c_{sol}$) pro rtuť u sorpčního gelu (Ambersep GT74)

| Číslo vzorku půdy | c_{sol} ($\mu\text{g.l}^{-1}$) | c_{DGT} ($\mu\text{g.l}^{-1}$) | R hodnota |
|----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------|
| 1 | 15,98 ± 0,19 | 0,47 ± 0,11 | 0,03 |
| 2 | 10,39 ± 0,47 | 0,16 ± 0,01 | 0,02 |
| 3 | 13,50 ± 0,24 | 0,32 ± 0,06 | 0,02 |
| 4 | 2,23 ± 0,16 | 0,06 ± 0,12 | 0,03 |
| 5 | 12,50 ± 0,37 | 0,12 ± 0,11 | 0,01 |
| 6 | 11,13 ± 0,82 | 0,21 ± 0,37 | 0,02 |
| 7 | 28,24 ± 0,19 | 1,26 ± 0,07 | 0,04 |
| 8 | 4,28 ± 0,28 | 0,04 ± 0,04 | 0,01 |
| 9 | 5,03 ± 0,05 | 0,05 ± 0,04 | 0,01 |
| 10 | 1,01 ± 0,05 | 0,03 ± 0,09 | 0,03 |
| 11 | 0,89 ± 0,05 | 0,03 ± 0,04 | 0,03 |
| 12 | 11,53 ± 2,17 | 0,17 ± 0,22 | 0,01 |
| 13 | 1,03 ± 0,02 | 0,04 ± 0,01 | 0,03 |

Také hodnota R značí míru doplňování iontů rtuti z pevné fáze do půdního roztoku. Pokud je hodnota R blízko číslu 1, znamená to, že je kov přítomen v labilních formách a půda dokáže rychle doplnit kov z pevné fáze do půdního roztoku a vyrovnat tak jeho koncentraci a úbytek kolem DGT jednotky. Blíží-li se hodnota R k číslu 0, znamená to, že k doplnění kovu z pevné fáze půdy nedochází a koncentrace kovu

kolem DGT jednotky klesá v závislosti na čase. V tabulce č. 6 jsou spočítány *R* hodnoty pro všech 13 vzorků půd. *R* hodnoty jsou téměř nulové, což znamená, že nedochází k doplnění kovu z pevné fáze, protože v půdě je rtuť vázána ve velmi stabilních sloučeninách.

Stanovení toků rtuti do gelů DGT

V tabulce č. 8 jsou zaznamenány hodnoty toků rtuti do sorpčního gelu DGT jednotky. Hodnoty toku rtuti do sorpčního gelu byly porovnány s daty v tabulce č. 3 – Koncentrace rtuti v půdách (mg.kg^{-1}) a bylo zjištěno, že hodnoty toku iontů rtuti do sorpčního gelu jsou přímo úměrné obsahu rtuti v půdě. Nejvyšší hodnota toku byla zjištěna u vzorku půdy č. 7 ($14,442 \text{ ng.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ve kterém bylo také naměřeno i nejvyšší množství rtuti ($276,18 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$)

Tab. 8 Tok rtuti do sorpčního gelu (*Ambersep*)

| Číslo vzorku půdy | Tok do DGT ($\text{ng.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$) |
|-------------------|--|
| 1 | 5,36 |
| 2 | 1,86 |
| 3 | 3,64 |
| 4 | 0,7 |
| 5 | 1,37 |
| 6 | 2,46 |
| 7 | 14,44 |
| 8 | 0,49 |
| 9 | 0,61 |
| 10 | 0,35 |
| 11 | 0,29 |
| 12 | 1,96 |
| 13 | 0,41 |

Tabulka č. 9 znázorňuje, kolik % rtuti přejde z půdy do půdního roztoku a dále do DGT jednotek. Z půd do půdního roztoku přejde jen malé množství rtuti, a to 0,01 – 0,09 %. Do DGT a tedy i do rostlin (hub a mechů) z půdního roztoku je schopno přejít jen 0,1 – 4,47 % rtuti přítomné v půdním roztoku.

Tab. 9 Procentické vyjádření rtuti přecházející z půdy do půdního roztoku a z půdního roztoku do DGT

| Číslo vzorku půdy | % rtuti přecházející z půdy do půdního roztoku | % rtuti dostupné z půdního roztoku pro DGT |
|----------------------|---|---|
| 1 | 0,01 % | 2,93 % |
| 2 | 0,03 % | 1,56 % |
| 3 | 0,02 % | 2,35 % |
| 4 | 0,02 % | 2,72 % |
| 5 | 0,02 % | 0,96 % |
| 6 | 0,03 % | 1,93 % |
| 7 | 0,01 % | 4,47 % |
| 8 | 0,06 % | 0,10 % |
| 9 | 0,09 % | 1,06 % |
| 10 | 0,02 % | 3,06 % |
| 11 | 0,04 % | 2,83 % |
| 12 | 0,03 % | 1,48 % |
| 13 | 0,01 % | 3,44 % |

5.2 Stanovení rtuti v houbách

5.2.1 Stanovení sušiny

Procentuální obsah sušiny a vody u jednotlivých druhů hub je uveden v tabulce 10. Houby v čerstvém stavu obsahovaly 77,08 – 87,52 % vody. V literatuře je uváděno, že houby v čerstvém stavu obsahují přibližně 85 – 95 % vody. (ŠVÉDOVÁ, 2014) Nejvyšší sušina byla stanovena u Hříbu žlutomasého (22,91 %), naopak nejméně sušiny obsahoval Hřib kovář (12,477 %).

Tab. 10 Obsah sušiny a vlhkosti u jednotlivých druhů hub

| Druh houby | Sušina [%] | Vlhkost [%] |
|---------------------|------------|-------------|
| Bedla červenající | 19,21 | 80,79 |
| Pýchavka čokoládová | 20,95 | 79,05 |
| Muchomůrka růžová | 13,97 | 86,03 |
| Klouzek sličný | 20,44 | 79,56 |
| Hřib smrkový | 13,36 | 86,64 |
| Hřib kovář | 12,48 | 87,52 |
| Holubinka sesterská | 19,09 | 80,91 |
| Hřib žlutomasý | 22,91 | 77,09 |
| Hřib hnědý | 18,65 | 81,35 |

5.2.2 Obsah rtuti v jednotlivých druzích hub

Maximální povolené množství rtuti v houbách určovala Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 298/1997 Sb., která stanovuje maximální přípustné množství rtuti v čerstvých houbách $0,5 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $5,0 \text{ mg.kg}^{-1}$ v houbách sušených. (V současné době není limit pro obsah rtuti v houbách stanoven, proto byly s hodnotami ve vyhlášce 298/1997 Sb. porovnávány veškeré výsledky.)

Tabulka č. 11 uvádí hodnoty celkové rtuti v čerstvé hmotě hub (FM) s následným přepočítáním obsahu na sušenou hmotu (DM). Přestože odebrané vzorky půdy výrazně překračovaly limitní hodnoty rtuti v půdách stanovené Vyhláškou Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb. (viz kapitola 5.1), z výsledků uvedených v tabulce 11 vyplývá, že limit stanovený Vyhláškou č. 289/1887 Sb. nesplňovala pouze Pýchavka čokoládová ($1,397 \pm 0,086 \text{ mg.kg}^{-1}$ FM) a Holubinka sesterská ($2,384 \pm 0,466 \text{ mg.kg}^{-1}$ FM). Zbylé houby vyhovovaly stanovenému limitu pro čerstvé houby. Získané výsledky plně korespondují s obsahem mobilních forem rtuti ve vzorcích půd, protože na základě měření pomocí DGT jednotek bylo zjištěno, že biologická dostupnost rtuti v odebraných vzorcích půd je velmi nízká.

Tab. 11 Obsah rtuti v jednotlivých houbách nasbíraných v oblasti Jedová hora

| Druh houby | Obsah rtuti v FM (mg.kg ⁻¹) | Obsah rtuti v DM (mg.kg ⁻¹) |
|---------------------|--|--|
| Bedla červenající | 0,210 ± 0,032 | 1,094 ± 0,167 |
| Pýchavka čokoládová | 1,397 ± 0,086 | 6,664 ± 0,409 |
| Muchomůrka růžová | 0,026 ± 0,004 | 0,189 ± 0,025 |
| Klouzek sličný | 0,188 ± 0,016 | 0,919 ± 0,079 |
| Hřib smrkový | 0,035 ± 0,006 | 0,263 ± 0,047 |
| Hřib kovář | 0,022 ± 0,001 | 0,177 ± 0,014 |
| Holubinka sesterská | 2,384 ± 0,466 | 12,490 ± 2,439 |
| Hřib žlutomasý | 0,106 ± 0,045 | 0,464 ± 0,195 |
| Hřib hnědý | 0,085 ± 0,013 | 0,503 ± 0,075 |

5.3 Stanovení rtuti v mechu

5.3.1 Stanovení sušiny

Procentuální obsahy sušiny a vody u jednotlivých druhů mechu jsou uvedeny v tabulce 12. Nejvyšší sušina byla stanovena u Bělomechu skalního (21,526 %), a nejnižší sušina u Ploníku ztenčeného (9,283 %).

Tab. 12 Obsah sušiny a vlhkosti u jednotlivých druhů mechu

| Druh mechu | Sušina [%] | Vlhkost [%] |
|-----------------|------------|-------------|
| Bělomech skalní | 11,17 | 88,83 |
| Ploník ztenčený | 9,28 | 90,72 |
| Bělomech sivý | 21,53 | 78,47 |

5.3.2 Obsah rtuti v mechu

Tabulka č. 13 uvádí hodnoty celkové rtuti v čerstvé hmotě mechu (FM) s následným přepočítáním obsahu na sušenou hmotu (DM). Nejvíce rtuti obsahoval Ploník ztenčený (0,420 ± 0,111 mg.kg⁻¹) a nejméně rtuti obsahoval Bělomech sivý (0,096 ± 0,084 mg.kg⁻¹).

Harmens et al. (2015) uvádí obsahy rtuti stanovené při evropském monitoringu několika druhů mechu (Trávník Schreberův (*Pleurozium schreberi*), Rokyt cypřišovitý

(*Hypnum cupressiforme*), Rokyt světlý (*Hylocomium splendens*), Lazovec čistý (*Pseudoscleropodium purum*)) v rozmezí 0,50 – 0,057 mg.kg⁻¹ sušiny.

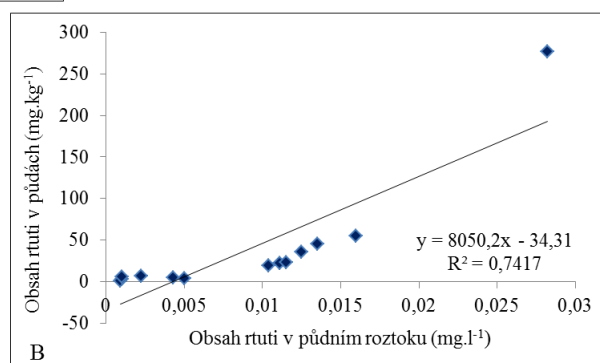
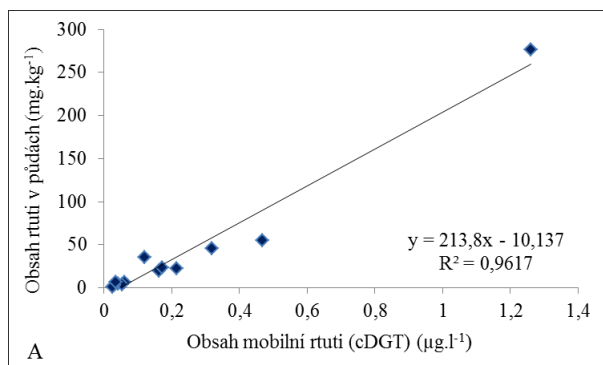
Po porovnání našich výsledků s hodnotami zjištěnými při evropském monitoringu, lze konstatovat, že námi stanovené hodnoty rtuti ve vzorcích mechů odpovídají hodnotám, které ve své publikaci uvádí Harmens (2015). Ve rtuti vysoce kontaminované lokalitě Jedové hory nebyla pozorována významně vyšší akumulace rtuti ve sledovaných druzích mechů.

Tab. 13 Obsah rtuti v mechorostech ($n = 12$) odebraných v oblasti Jedová hora

| Druh houby | Obsah rtuti v FM (mg.kg⁻¹) | Obsah rtuti v DM (mg.kg⁻¹) |
|------------------------|--|--|
| Bělomech skalní | 0,014 ± 0,002 | 0,129 ± 0,021 |
| Ploník ztenčený | 0,039 ± 0,010 | 0,420 ± 0,111 |
| Bělomech sivý | 0,021 ± 0,018 | 0,096 ± 0,084 |

5.4 Korelace

Významné pozitivní korelace byly zjištěny mezi celkovým obsahem rtuti v půdách a obsahem mobilní rtuti v půdách ($r = 0,980$) a současně také mezi celkovým obsahem rtuti v půdách a obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,861$). Výsledky naznačují, že obsah rtuti v půdě přímo souvisí s obsahem mobilních forem rtuti (obrázek č. 16 – A).

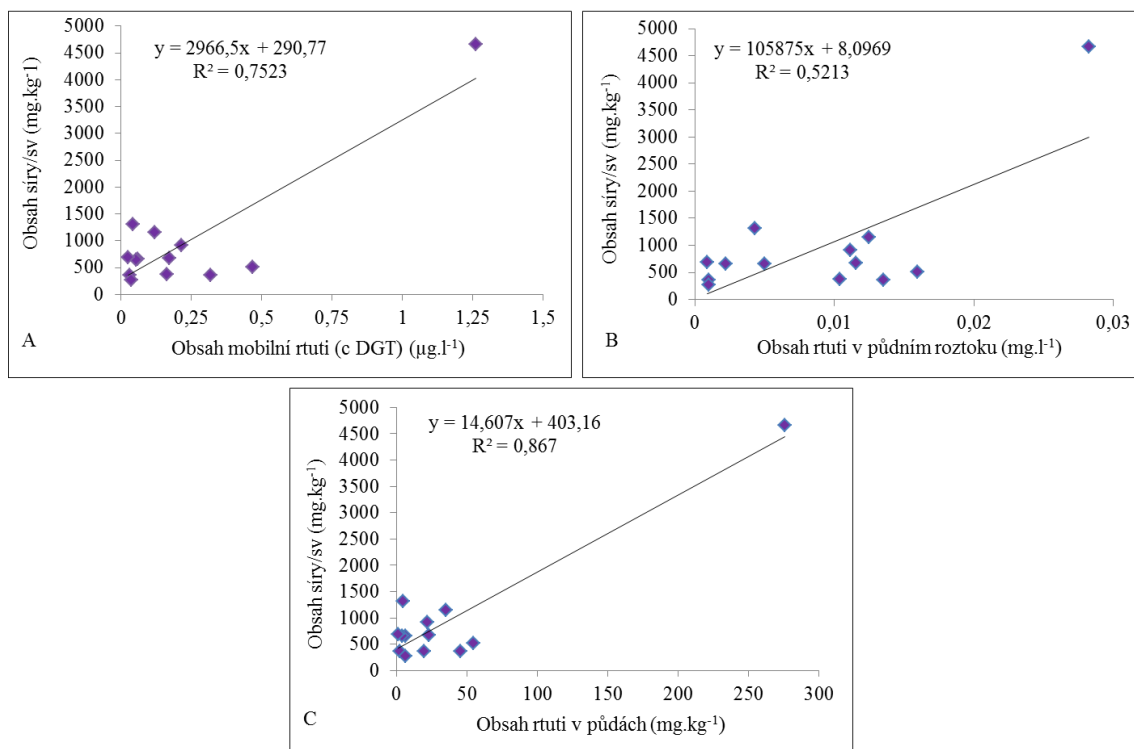


Obr. 16 Korelace obsahu rtuti v půdách a obsahu mobilní rtuti a obsahu rtuti v půdním roztoku

Byly také sledovány korelace mezi chemickým složením půdy (celkovým obsahem síry, uhlíku, dusíku, pH) a obsahem rtuti v půdách i půdním roztoku.

Významné pozitivní korelace byly nalezeny mezi celkovým obsahem síry v půdách a celkovým obsahem rtuti v půdách ($r = 0,931$), obsahem mobilní rtuti v půdách ($r = 0,867$) i obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,721$) viz obrázek č. 16 – C.

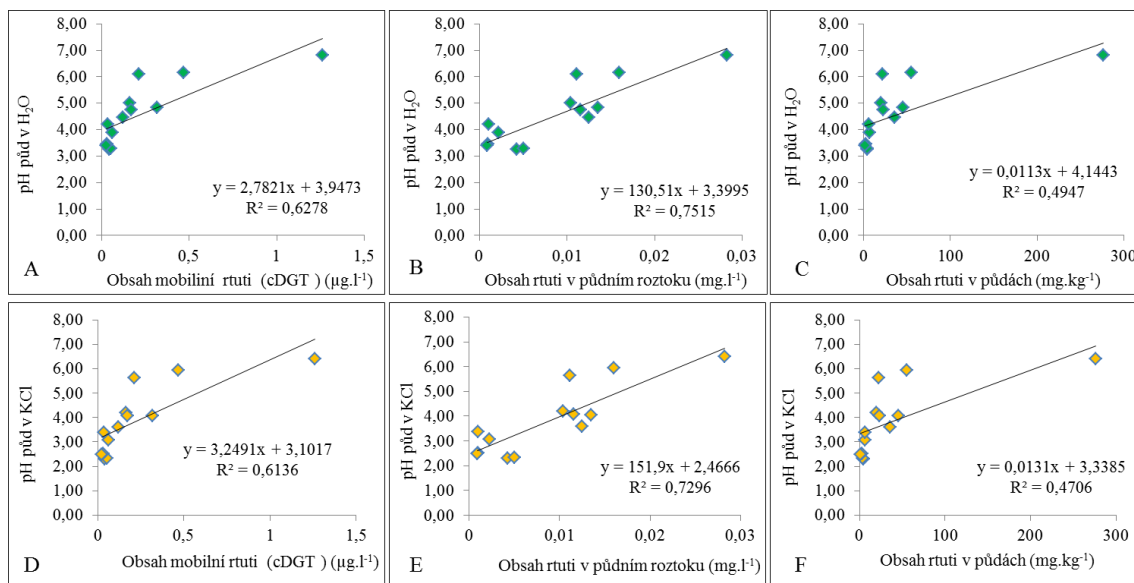
Obsah rtuti v půdách i půdním roztoku lineárně vzrůstal s rostoucím obsahem síry, což potvrzuje náš předpoklad, že rtuť je ve vzorcích půd přítomna převážně ve formě cinabaritu (HgS).



Obr. 17 Korelace síry a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách

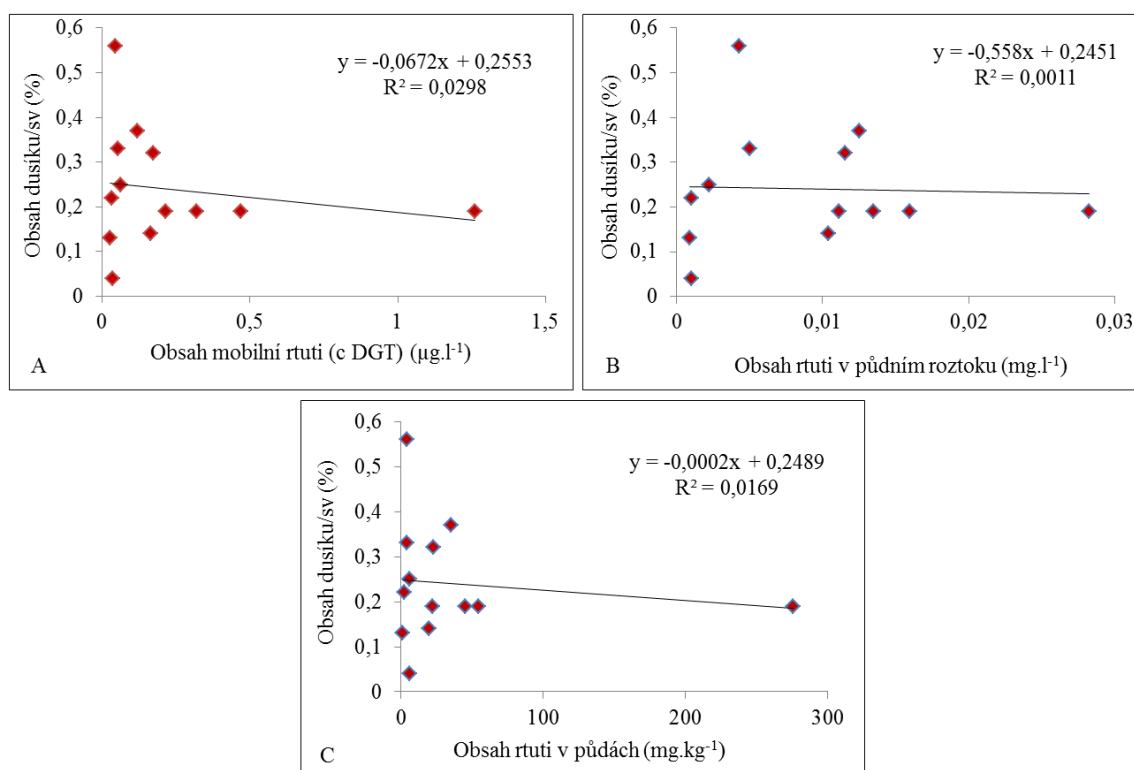
Obsah rtuti v půdním roztoku i mobilních forem rtuti v půdách vzrůstal lineárně s rostoucí hodnotou pH (obrázek č. 18 – A, B, D, E). Oproti tomu obsah celkové rtuti v půdách nebyl lineárně závislý na hodnotě pH (obrázek č. 18 – F, C).

V literatuře je uváděno adsorpční maximum rtuti na půdu při pH~3, při nižších i vyšších hodnotách pH je uváděn pokles adsorpce rtuti na půdu (PELCOVÁ et al., 2010) Významné pozitivní korelace byly nalezeny mezi aktivní půdní reakcí (pH H₂O) i aktivní výměnnou půdní reakcí (pH KCl) a obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,866$ a $r = 0,854$), obsahem mobilní rtuti ($r = 0,792$ a $r = 0,783$) i obsahem rtuti v půdě ($r = 0,703$ a $r = 0,686$).

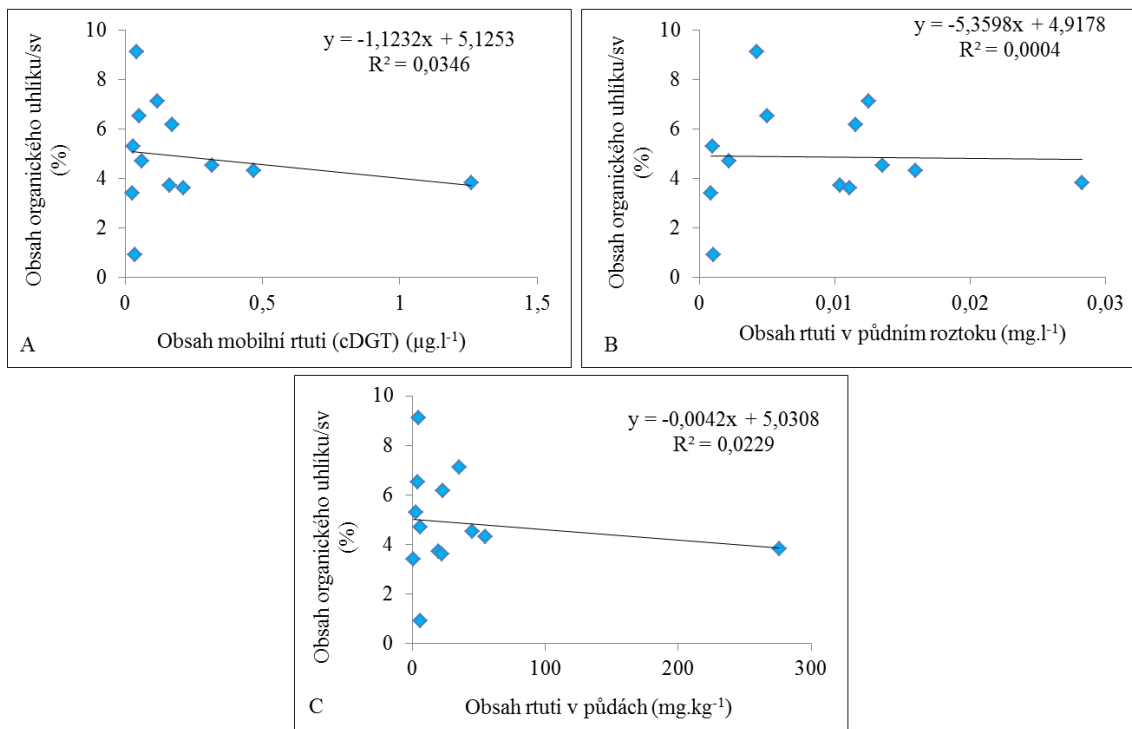


Obr. 18 Korelace aktivní půdní reakce (pH H₂O), potenciální výměnné půdní reakce (pH KCl) a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách

Statisticky nevýznamné korelace ($r < 0,3$) byly nalezeny mezi celkovým obsahem uhlíku a dusíku v půdách a obsahem rtuti v půdách i půdním roztoku (obrázky č. 19 a 20).



Obr. 19 Korelace dusíku a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách



Obr. 20 Korelace organického uhlíku a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách

6 ZÁVĚR

Pro stanovení biologicky dostupných forem rtuti ve vysoce kontaminovaných půdách byla vybrána oblast Jedová hora, kde v minulosti docházelo k těžbě železné rudy (15. století) a postupem času i k těžbě cinabaritu – rumělky (18. a 19. století). V okolí Jedové hory bylo odebráno celkem 13 vzorků půd a v oblasti okolo štolý Barbora bylo odebráno 9 druhů hub a 3 druhy mechů.

Stanovení celkového obsahu rtuti bylo prováděno pomocí jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru AMA 254. Pro stanovení obsahu mobilních forem rtuti ve vzorcích půd byla použita technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT).

Průměrná koncentrace rtuti v půdách se pohybovala v rozmezí $1,25 \pm 0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ – $276,18 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nejvyšší naměřená hodnota rtuti v půdě byla $276,14 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$ a patřila vzorku půdy č. 7, který se nachází poblíž vchodu do bývalé štolý Barbora.

Obsah síry se ve vzorcích půd pohyboval v rozmezí $276 - 4660 \text{ mg.kg}^{-1}$, nejvyšší obsah byl zaznamenán u vzorku č. 13 a nejnižší u vzorku č. 7. Obsah rtuti v půdách i půdním roztoku lineárně vzrůstal s rostoucím obsahem síry, což potvrzuje předpoklad, že rtuť je ve vzorcích půd přítomna převážně ve formě cinabaritu (HgS). Významné korelace byly nalezeny mezi celkovým obsahem síry v půdách a celkovým obsahem rtuti v půdách ($r = 0,931$), obsahem mobilní rtuti v půdách ($r = 0,867$) i obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,721$). Obsah dusíku se ve vzorcích půd pohyboval v rozmezí $<0,04 - 0,56 \%$. Nejvyšší obsah dusíku obsahoval vzorek č. 8, nejméně dusíku se vyskytovalo u vzorku č. 13. Obsah oxidovatelného organického uhlíku se ve vzorcích půd nacházel v rozmezí $0,93 - 9,10 \%$, kdy stejně jako v případě dusíku, byly nejnižší hodnoty naměřeny u vzorku č. 13 a nejvyšší u vzorku č. 8. Statisticky nevýznamné korelace ($r < 0,3$) byly nalezeny mezi celkovým obsahem uhlíku a dusíku a obsahem rtuti v půdách i půdním roztoku

S rostoucí hodnotou pH lineárně vzrůstal obsah rtuti v půdním roztoku i obsah mobilních forem rtuti v půdách. Naopak obsah celkové rtuti v půdách na hodnotě pH lineárně závislý nebyl. Významné pozitivní korelace byly zjištěny mezi aktivní půdní reakcí (pH H₂O) i aktivní výměnnou půdní reakcí (pH KCl) a obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,866$ a $r = 0,854$), obsahem mobilní rtuti ($r = 0,792$ a $r = 0,783$) i obsahem rtuti v půdě ($r = 0,703$ a $r = 0,686$).

Hodnota R , která značí míru doplňování iontů rtuti z pevné fáze do půdního roztoku, se u všech 13 vzorků blíží k číslu 0 (rozmezí hodnota $R = 0,01 - 0,04$), což znamená, že k doplnění rtuti z pevné fáze půdy nedochází a koncentrace rtuti kolem DGT jednotky klesá v závislosti na čase, protože rtuť je v půdě vázána ve velmi stabilních sloučeninách.

Hodnoty toků rtuti do sorpčního gelu DGT jednotky byly přímo úměrné obsahu rtuti v půdě. Nejvyšší hodnota toku byla zjištěna u vzorku půdy č. 7 ($14,442 \text{ ng.cm}^{-2}.\text{d}^{-1}$), ve kterém bylo také naměřeno i nejvyšší množství rtuti ($276,18 \pm 0,09 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Z výsledků procentického vyjádření rtuti přecházející z půdy do půdního roztoku a z půdního roztoku do DGT vyplývá, že z půdy do půdního roztoku přecházelo pouze $0,01 - 0,09 \%$ a z půdního roztoku bylo pro DGT jednotky dostupné pouze $0,10 - 4,47 \%$ rtuti. Významné korelace byly zjištěny mezi celkovým obsahem rtuti v půdách a obsahem mobilní rtuti v půdách ($r = 0,980$) a současně také mezi celkovým obsahem rtuti v půdách a obsahem rtuti v půdním roztoku ($r = 0,861$).

Obsah rtuti v houbách kolísal v rozmezí $0,177 \pm 0,014 \text{ mg.kg}^{-1} - 12,490 \pm 2,439 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny, nejvyšší koncentrace rtuti v houbách byla naměřena u Holubinky sesterské (*Russula sororia Fr.*), nejméně rtuti v sušině obsahoval Hřib kovář (*Boletus luridiformis Rostk.*).

Množství rtuti v mechách se pohybovalo v rozpětí hodnot $0,096 \pm 0,084 \text{ mg.kg}^{-1} - 0,420 \pm 0,111 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny, nejvyšší hodnota rtuti byla naměřena u Ploníku ztenčeného (*Polytrichum formosum*), nejméně rtuti v sušině obsahoval Bělomech sivý (*Leucobryum glaucum*).

Přestože koncentrace rtuti ve vzorcích půd z Jedové hory mnohonásobně překračovaly limit stanovený Vyhláškou č. 13/1994 Sb., z hub nesplňovala limit uvedený ve Vyhlášce 298/1997 Sb. pouze Pýchavka čokoládová (*Lycoperdon molle*) $1,397 \pm 0,086 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny a Holubinka sesterská (*Russula sororia Fr.*) $2,384 \pm 0,466 \text{ mg.kg}^{-1}$ sušiny. Získané výsledky plně korespondují s obsahem mobilních forem rtuti ve vzorcích půd, protože na základě měření pomocí DGT jednotek bylo zjištěno, že biologická dostupnost rtuti v odebraných vzorcích půd je velmi nízká.

7 POUŽITÁ LITERATURA

Literární zdroje

1. ADAMEC V., 2006: *Životní podmínky a jejich vliv na zdraví obyvatel Jihomoravského kraje.*, Zdravotní ústav, Brno, 207 s.
2. ALEXANDER EARL. B., 2014: *Soils in natural landscapes*. CRC Press, Boca Raton, 307 s.
3. ALTEC s.r.o., 2002: *Pracovní návod pro obsluhu AMA 254*, Praha, 125 s.
4. BOLLEN A., WENKE A., BIESTER H., 2008: *Mercury speciation analyses in HgCl₂-contaminated soils and groundwater - Implications for risk assessment and remediation strategies*. *Water research*; 42: 91 – 100 s.
5. CIBULKA J. ET AL., 1991: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Academia, Praha, 432 s.
6. CIBULKA J., 1996: Cizorodé prvky v houbách. *Časopis akademické obce Vesmír*, Vesmír s.r.o., Praha, 75 (7): 389 s.
7. CLARKSON T. W., 2002: *The Three Modern Faces of Mercury*. Department of Environmental Medicine, University of Rochester School of Medicine, Rochester, New York, 1 – 13 s.
8. COCCHI L., VESCOVI L., PETRINI L. E., PETRINI O., 2006: Heavy metals in edible mushrooms in Italy. *Food Chemistry*, 98 (2): 277 – 284 s.
9. COTTON F. A., WILKINSON, G., 1973: *Anorganická chemie*. John Wiley & Sons, New York, 585 s.
10. ČERNÁ M., 2004: Opatření mezinárodních institucí a České republiky k omezování rizika znečišťování životního prostředí rtutí. *Chemické listy* 98: 916 – 921 s.
11. DIVIŠ P., 2013: *Vývoj a aplikace techniky difúzního gradientu v tenkém filmu pro stanovení rtuti v přírodních vodách*. Vutium, Brno, 2 – 12 s.

12. DIVIŠ P., DOČEKALOVÁ H., ŘEZÁČOVÁ V., 2005: Gelové techniky pro měření *in situ* ve vodách, půdách a v sedimentech. *Chemické listy*, 99: 640 – 646 s.
13. DOČEKALOVÁ H., 2003: *Gelové techniky pro studium procesů spojených s odpadovým hospodářstvím*. Vutium, Brno, 4 – 12 s.
14. DOČEKALOVÁ H., ŠKARPA P., DOČEKAL B., 2013: Technika DGT jako substituent biomonitorů pro predikci dostupnosti kovů v půdách. *Mineralica Slovaca*, 45: 137 – 142 s.
15. FALANDYSZ, J., GUCIA, M., 2008: Bioconcentration factors of mercury by Parasol Mushroom (*Macrolepiota procera*). *Environmental geochemistry and health*. 30 (2): 121 – 125 s.
16. FALANDYSZ, J., GUCIA, M., SKWARZE B., FRANKOWSKA A., KLAWIKOWSKA K., 2002: Total Mercury in Mushrooms and Underlying Soil Substrate from the Borecka Forest, Northeastern Poland. *Archive of Environmental Contamination and Toxicology*. 42: 145 – 154 s.
17. GERHARDT E., 2006: *Sbíráme houby - ale správně*. Euromedia Group, k. s. – Knižní klub, Praha, 128 s.
18. GOCHFELD M., 2003: Case of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 174 – 179 s.
19. GÓMEZ C. F., BAYONA J. M., DIEZ S., 2012: Laboratory and field evaluation of diffusive gradient in thin films (DGT) for monitoring levels of dissolved mercury in natural river water. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 92, 15, 20: 1689 – 1698 s.
20. GREENWOOD N., N., EARNSHAW A., 1984: *CHEMIE PRVKŮ. SVAZEK II*. Pergamon Press Plc, Oxford, 1517 s.
21. HARMENS H., NORRIS D. A., SHARPS K., MILLS G., ALBER R., SUCHARA I., ET AL.: 2015: Heavy metal and nitrogen concentrations in mosses are declining across Europe whilst some “hotspots” remain in 2010, *Environmental Pollution*, 200: 93 – 104 s.

22. HESLOP R., B., JONES K., 1982: *ANORGANICKÁ CHEMIE. Průvodce pro pokročilé studium*. Elsevier, 771 – 775 s.
23. HOUSEROVÁ P., JANÁK K., KUBÁŇ P., PAVLÍČKOVÁ J., KUBÁŇ V., 2006: Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech – vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. *Chemické listy*, 100: 862 – 867 s.
24. JANDÁK J., POKORNÝ E., PRAX A., 2007: *Půdoznalství 2*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Brno, 142 s.
25. LINHART I., 2014: *Toxikologie. Interakce škodlivých látek s živými organismy, jejich mechanismy, projevy a důsledky*. VŠCHT, Praha, 382 s.
26. KALAČ P., 2008. *Houby: víme, co jíme?* Dona, České Budějovice, 114 s.
27. KALAČ P., TRÍSKA J., 1998: *Chemie životního prostředí*. Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice, 34 – 35 s.
28. KALAČ P., SVOBODA L., HAVLÍČKOVÁ B., 2004: Contents of cadmium and mercury in edible mushrooms. *Journal of Applied Biomedicine*. 2:15 – 20 s.
29. KOMÍNKOVÁ D., 2008: *Ekotoxikologie*. České vysoké učení technické v Praze, Praha, 156 s.
30. KOPLÍK R., ČURDOVÁ E., MESTEK O., 1997: Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. *Chemické listy*, 91: 38 – 47 s.
31. KUTÍLEK M., 2001: Půda a bilance CO₂ v ovzduší, *Časopis akademické obce Vesmír*, Vesmír s.r.o., Praha, 80 (3): 153 s.
32. MARHOL M., 1976: *Měníče iontů v chemii a radiochemii*. Academia, Praha, 433 s.
33. MATULA J., 2007: *Výživa a hnojení sírou. Metodika v praxi*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., 44 s.

34. MAZANEC O., NERAD J., 1994: *Průzkum obsahu rizikových prvků v půdách České republiky (1990 - 1993)*. Státní kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 67 s.
35. MODRÁ H., SVOBODOVÁ Z., ŠIROKÁ Z., BLAHOVÁ J., 2014: *Toxikologie potravin – vybrané kapitoly*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Brno, 45 – 47 s.
36. NAVRÁTIL T., ROHOVEC J., 2014: *Rtuť minulost a současnost tekutého kovu. Časopis akademické obce Vesmír, Vesmír s.r.o., Praha, 93 (7): 430 s.*
37. NOWACK B., KOEHLER S., SCHULIN R., 2004: Use of Diffusive Gradients in Thin Films (DGT) in Undisturbed Field Soils. *Environmental Science & Technology*, 38: 1133 – 1138 s.
38. PELCOVÁ P., MARGETÍNOVÁ J., VACULOVÍČ T., KOMÁREK J., KUBÁŇ V., 2010: Adsorption of mercury species on river sediments ? effects of selected abiotic parameters. *Central European Journal of Chemistry*. 8 (1): 116 – 125 s.
39. PELCOVÁ P., DOČEKALOVÁ H., KLECKEROVÁ A., 2014: Development of the diffusive gradient in thin films technique for the measurement of labile mercury species in waters. *Analytica Chimica Acta*, 819: 42 – 48 s.
40. PROKEŠ J. et al., 2005: *Základy toxikologie. Obecná toxikologie a ekotoxikologie*. Nakladatelství Galén, Praha, 59 s.
41. RIEDER R. S., BRUNNER I., HORVAT M., JACOBS A., FRY B., 2011: Accumulation of mercury and methylmercury by mushrooms and earthworms from forest soils. *Environmental Pollution xxx*, 2011: 1-9 s.
42. SABA M., GALANDYSZ J., NNOROM I. C., 2016: Accumulation and distribution of mercury in fruiting bodls by fungus *Suillus luteus* foraged in Poland, Belarus and Sweden. *Laboratory of Environmental Science and Pollution Research International*. 23 (3): 2749 – 2757 s.

43. SPOSITO G., 2008: *The Chemistry of Soils*. Oxford University Press, Inc., New York, 329 s.
44. SYVERSEN T., KAUR P., 2012: The toxicology of mercury and its compounds. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26: 215 – 226 s.
45. SZCZEPANIAK K., BIZIUK M., 2003: Aspects of the biomonitoring studies using mosses and lichens as indicators of metal pollution. *Environmental Research*. 93(3): 221 – 230 s.
46. SZKANDERA R., DOČEKALOVÁ H., KADLECOVÁ M., TRÁVNÍČKOVÁ J., DIVIŠ P., 2013: Sorpční gel s oxidem titaničitým pro stanovení rtuti technikou difúzního gradientu v tenkém filmu. *Chemické listy*, 107: 160 – 164 s.
47. ŠIMEK M., 2003: *Základy nauky o půdě – 3. Biologické procesy a cykly prvků*. Biologická fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice, 133 – 138 s.
48. TICHÝ M., 1998: *Toxikologie pro chemiky. Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. Karolinum, Praha, 63 s.
49. UHLÍŘOVÁ H., LOCHMAN V., ŠRÁMEK V., SOVOVÁ Z., 1998: Sledování cizorodých látek v lesních ekosystémech. *Chemické listy*, 92: 807 – 815 s.
50. ÚKZÚZ – Národní referenční laboratoř, 2015: *Protokol o zkouškách č.35/2015/PBR*. Brno, 3 s.
51. VELEBIL D., 2003: Jedová hora (Dědova hora) u Neřežína. *Bulletin mineralogicko-petrologického oddělení Národního muzea v Praze*. Praha, 2003 (11): 86 – 99 s.
52. VELEBIL D., 2004: Dolování rumělký u obce Svatá, zjz. od Berouna. *Bulletin mineralogicko-petrologického oddělení Národního muzea v Praze*. Praha, 2004 (12): 78 – 94 s.
53. VELEBIL D., 2009: Dolování cinabaritu v Horních Lubech u Chebu, Česká republika. *Bulletin mineralogicko-petrologického oddělení Národního muzea v Praze*. Praha, 17/2: 39 – 61 s.

54. ZHANG H., DAVISON W., 1999: Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. *Analytica Chimica Acta*, 398: 329 – 340 s.
55. ZOUBKOVÁ L., 2012: *Pedologická laboratorní cvičení*. Fakulta životního prostředí Univerzity Jana Evangelisty Purkyně, Ústí nad Labem, 40s.

Elektronické zdroje

56. ANONYM 1: *Látka: Rtuť a sloučeniny (jako Hg)*. Databáze online [cit. 2016-25-1]. Dostupné na: <http://www.irz.cz/node/88>
57. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1999: *Toxicological Profile for Mercury*. Databáze online [cit. 2016-25-3]. Dostupné na: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp46.pdf>
58. DAVID A. J., LEVENTHAL S. J; 2010: *Bioavailability of metals*. Databáze online [cit. 2016-20-3]. Dostupné na: <http://pubs.usgs.gov/of/1995/ofr-95-0831/CHAP2.pdf>
59. FARA M., 2004: *Problematika emisí rtuti. Kapitola I*. Databáze online [cit. 2016-25-1]. Dostupné na: <http://www.teso.cz/adm/data/files/others/kapitola-1-problematika-emisi-rtuti.pdf>
60. KENŠOVÁ R., HYNEK D., ADAM V., KIZEK R., 2014: *Působení rtuti na živé organismy*. Databáze online [cit. 2016-25-1]. Dostupné na: http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/J_Met_Nano/0314/pdf/jmn3-09.pdf
61. MLČOCH Z., 2008: *Otrava rtutí – příznaky, projevy, léčba, prevence, amalgám*. Databáze online [cit. 2016-31-1]. Dostupné na: <http://www.zbynekmlcoch.cz/informace/medicina/nemoci-lecba/otrava-rtuti-priznaky-projevy-lecba-prevence-amalgam>
62. PECORA W. T, 1970: *Mercury in the environment*. Databáze online: [cit. 2016-24-3]. Dostupné na: <http://pubs.usgs.gov/pp/0713/report.pdf>
63. RICHTER R., 2007: Dusík v půdě. Databáze online: [cit. 2016-18-4]. Dostupné na:

http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/puda_n.htm

64. ŠVÉDOVÁ Z., 2014: Houby a další podzimní dary lesa. Databáze online: [cit. 2016-10-4]. Dostupné na: <http://www.celostnimediceina.cz/houby-a-dalsi-podzimni-dary-lesa.htm#ixzz45vE7JfGL>
65. TLUSTOŠ P., SZÁKOVÁ J., ŠICHOROVÁ K., PAVLÍKOVÁ D., BALÍK J., 2007: *Rizika kovů v půdě v agrosystémech v ČR*. Databáze online: [cit. 2016-10-2]. Dostupné na: http://www.phytopsanitary.org/projekty/2007/VVF_08_2007.pdf
66. UHLÍŘOVÁ H., HEJDOVÁ J., 1999: *Těžké kovy v lesních ekosystémech České republiky*. Databáze online: [cit. 2016-10-2]. Dostupné na: <http://www.mzp.cz/ris/ais-ris-info-copy.nsf/6d13b004071d0140c12569e700154acb/12171da96085c116c12569a2002162db?OpenDocument>
67. ULBRICHOVÁ I., 2007: *Bioindikátory*. Databáze online: [cit. 2016-25-3]. Dostupné na: http://fle.czu.cz/~ulbrichova/Skripta_HIO/kapitoly/Metody/bioindikatory.htm

Legislativa

68. ČSN EN ISO 17184 - Kvalita půdy - Stanovení uhlíku a dusíku blízkou infračervenou spektrometrií (NIRS)
69. Nařízení č. 401/2015 sb. ze dne 14. prosince 2015 o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.
70. Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb. ze dne 29. prosince 1993, kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu.

71. Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 415/2012 ze dne 21. listopadu 2012 o přípustné úrovni znečišťování a jejím zjišťování a o provedení některých dalších ustanovení zákona o ochraně ovzduší.
72. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví ze dne 22. prosince 1998, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 298/1997 sb., kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky jejich použití, jejich označování na obalech, požadavky na čistotu a identitu přídatných látek a potravních doplňků a mikrobiologické požadavky na potravní doplňky a látky přídatné.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obr. 1 Přeměny sloučenin rtuti ve složkách vodního ekosystému. | 19 |
| Obr. 2 Mapa obsahu rtuti v lesním humusu v roce 1995..... | 20 |
| Obr. 3 Přeměna rtuti v půdě | 21 |
| Obr. 4 Koncentrace rtuti v sušině jedlých hub na plochách ICP Forests vybraných plochách v rekreačních oblastech ČR | 25 |
| Obr. 5 Průměrné obsahy As,Cd,Cr,Hg,Ni Pb v jednotlivých druzích čerstvých hub | 26 |
| Obr. 6 Obsah rtuti u různých hub měřený v několika lokalitách v ČR | 26 |
| Obr. 7 Koncentrace Hg v mechu na území ČR | 29 |
| Obr. 8 Vzorkovací jednotka pro DGT..... | 34 |
| Obr. 9 Místa odběru vzorků půdy | 36 |
| Obr. 10 Schéma přístroje AMA 254..... | 39 |
| Obr. 11 Diagram DGT jednotky | 43 |
| Obr. 12 Připravená skla s distanční folií pro výrobu gelu | 44 |
| Obr. 13 Vzorkovací jednotky DGT ponořené v půdě | 46 |
| Obr. 14 Schéma DGT jednotky aplikované v plastové misce s půdní suspenzí | 46 |
| Obr. 15 Časová závislost toku rtuti z pevné fáze do sorpčního gelu (Ambersep)..... | 52 |
| Obr. 16 Korelace obsahu rtuti v půdách a obsahu mobilní rtuti a obsahu rtuti v půdním roztoku | 58 |
| Obr. 17 Korelace síry a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku..... | 59 |
| Obr. 18 Korelace aktivní půdní reakce (pH H ₂ O), potenciální výměnné půdní reakce (pH KCl) a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách..... | 60 |
| Obr. 19 Korelace dusíku a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách | 60 |
| Obr. 20 Korelace organického uhlíku a obsahu mobilní rtuti, obsahu rtuti v půdním roztoku a obsahu rtuti v půdách | 61 |

9 SEZNAM TABULEK

| | | |
|---------|--|----|
| Tab. 1 | <i>Absorpce různých typů sloučenin rtuti do organismu různými cestami vstupu...</i> | 16 |
| Tab. 2 | <i>Technické parametry AMA 254</i> | 40 |
| Tab. 3 | <i>Koncentrace rtuti v půdách (mg.kg^{-1})</i> | 47 |
| Tab. 4 | <i>Určení půdního druhu vzorků půdy metodou dle Nováka</i> | 48 |
| Tab. 5 | <i>Obsah síry, dusíku a organického uhlíku v půdách</i> | 50 |
| Tab. 6 | <i>Hodnoty pH v půdách</i> | 51 |
| Tab. 7 | <i>R hodnoty ($R = c_{DGT}/c_{sol}$) pro rtuť u sorpčního gelu (Ambersep GT74)</i> | 52 |
| Tab. 8 | <i>Tok rtuti do sorpčního gelu (Ambersep)</i> | 53 |
| Tab. 9 | <i>Procentické vyjádření rtuti přecházející z půdy do půdního roztoku a z půdního roztoku do DGT</i> | 54 |
| Tab. 10 | <i>Obsah sušiny a vlhkosti u jednotlivých druhů hub</i> | 55 |
| Tab. 11 | <i>Obsah rtuti v jednotlivých houbách nasbíraných v oblasti Jedová hora</i> | 56 |
| Tab. 12 | <i>Obsah sušiny a vlhkosti u jednotlivých druhů mechu</i> | 56 |
| Tab. 13 | <i>Obsah rtuti v mechorostech ($n = 12$) odebraných v oblasti Jedová hora</i> | 57 |

10 SEZNAM ZKRATEK

Ag – stříbro

AGA – agarózový gel

AMA 254 – atomový absorpční spektrometr s termickým rozkladem vzorku

APA – polyakrylamidový gel

As – arsen

Br – brom

Ca – vápník

CaCl₂ – chlorid vápenatý

CH₃CoB₁₂ – methylcobalamin

Cd – kadmium

DM – sušená hmota

Cl – chlor

Co – kobalt

Cox – oxidovatelný organický uhlík

Cu – měď

DGT – technika difúzního gradientu v tenkém filmu

ETA-AAS – atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací

Fe – železo

FM – čerstvá hmota

GIT – gastrointestinální trakt

Hg – rtuť

Hg⁰ – elementární rtuť

Hg²⁺ – rtuťnaté ionty – dvojmocná anorganická forma

HgCl₂ – chlorid rtuťnatý

Hg₂Cl₂ – chlorid rtuťný

HgO – oxid rtuťnatý

H₂O – voda

H₂O₂ – peroxid vodíku

HgS – sulfid rtuťnatý

H₂SO₄ – kyselina sírová

HNO₃ – kyselina dusičná

ICP-AES – atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

ICP-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

J – jód

KCl – chlorid draselný

Na – sodík

Ni – nikl

NIR – blízká infračervená spektroskopie

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ – persíran amonný

MeHg – methylrtuť

Pb – olovo

SCN – thiokyanatan

SH skupina – skupina obsahující thiolovou funkční skupinu

TEMED – N, N, N', N' - tetramethyldiamin

TiO_2 – oxid titaničitý

Zn – zinek

11 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 – Houby



1. Bedla červenající
(*Macrolepiota rachodes*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=70>)



2. Pýchavka čokoládová
(*Lycoperdon molle*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=398>)



3. Muchomůrka růžovka
(*Amanita rubescens*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=29>)



4. Klouzek sličný
(*Suillus grevillei*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=143>)



5. Hřib smrkový
(*Boletus edulis* Bull.)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=42>)



6. Hřib kovář
(*Boletus luridiformis* Rostk.)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=14>)



7. Holubinka sesterská
(*Russula sororia* Fr.)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=1126>)



8. Hřib žlutomasý
(*Xerocomellus chrysenteron*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=17>)



9. Hřib hnědý (*Boletus badius*)

(<http://www.houbareni.cz/houba.php?id=41>)

Příloha 2 - Mechy



1. Bělomech skalní (*Leucobryum juniperoideum*)
(<http://www.npcs.cz/mechorosty>)



2. Ploník ztenčený (*Polytrichum formosum*)
(http://www.nahuby.sk/obrazok_detail.php?obrazok_id=148659)



3. Bělomech sivý (*Leucobryum glaucum*)
(<http://www.biolib.cz/cz/image/id240913/>)

