

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká Fakulta

Chemie životního prostředí

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Stanovení akumulace a distribuce těžkých kovů v
různých částech hybridní kukuřice po fytořemediaci
kontaminovaných půd.

Diplomant: **Bc. Pavel Kinderman**

Vedoucí diplomové práce: **Doc. RNDr. Eva Tesařová, CSc.**

Externí vedoucí diplomové práce: **RNDr. et Mgr. Petr Soudek, Ph.D.**

Konzultant: **Doc. Ing. Vladimír Kočí, Ph.D.**

Praha 2008

Předmětová hesla

Fytoremediace

Těžké kovy

Akumulace

Rostliny

Klíčová slova

Fytoextrakce

Kukuřice setá (*Zea mays*)

Arsen

Chrom

Kadmium

Měď

Nikl

Olovo

Zinek

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou diplomovou prací vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v seznamu použité literatury.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity

V Praze dne 27.8. 2008

Prohlášení
.....

Podpis

Poděkování

Velmi rád bych na tomto místě poděkoval všem, kteří mi pomohli při tvorbě této práce. Jmenovitě pak své školitelce doc. RNDr. Evě Tesařové, CSc. za to, že jsem mohl vykonávat práci pod jejím vedením, externímu školiteli RNDr. et Mgr. Petru Soudkovi, Ph.D. za odbornou pomoc, cenné rady a připomínky ohledně fytořemediací, konzultantovi doc. Ing. Vladimíru Kočímu, Ph.D. za odbornou pomoc při vybírání tématu a pomoc s multivariační analýzou. Dále bych chtěl poděkovat zaměstnancům z laboratoře Ekotoxikologie a LCA na ÚCHOP VŠCHT Praha a zaměstnancům Laboratoře rostlinných biotechnologií ÚEB AV ČR za poskytnutí potřebného zařízení a vytvoření výborných podmínek k mé práci.

Seznam použitých zkratek a symbolů

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AHR	aktivita Hillovy reakce
c	rychlost světla [m/s]
EDDS	kyselina ethylendiamindisukcinová
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
HEIDA	kyselina N-(2-hydroxyethyl) iminodioctová
ICP-OES	emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
I	intenzita záření po průchodu absorpčním prostředím [W/m^2]
I_0	intenzita záření [W/m^2]
K	atomový absorpční koeficient pro danou absorpční čáru
n	počet atomů analyzovaného prvku v jednotce objemu
NTA	kyselina nitrilotrioctová
PAH	polyaromatické uhlovodíky
PCB	polychlorované bifenyly
THP	ropné látky
ΔE	energetický rozdíl hladin elektronu
λ	vlnová délka světla [nm]
ν	frekvence světelného záření [Hz]

Obsah

1.0	ÚVOD	10
2.0	TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1	FYTOREMEDIACE.....	11
2.1.1	<i>Fytoextrakce</i>	<i>13</i>
2.1.2	<i>Rhizofiltrace.....</i>	<i>14</i>
2.1.3	<i>Rhizodegradace</i>	<i>14</i>
2.1.4	<i>Fytodegradace.....</i>	<i>15</i>
2.1.5	<i>Fytovolatilizace.....</i>	<i>16</i>
2.1.6	<i>Fytostabilizace.....</i>	<i>17</i>
2.2	KUKUŘICE SETÁ (<i>ZEА MAYS</i>).....	18
2.3	TĚŽKÉ KOVY.....	19
2.3.1	<i>Arsen</i>	<i>20</i>
2.3.2	<i>Chrom</i>	<i>20</i>
2.3.3	<i>Kadmium</i>	<i>21</i>
2.3.4	<i>Měď</i>	<i>21</i>
2.3.5	<i>Nikl</i>	<i>22</i>
2.3.6	<i>Olovo</i>	<i>22</i>
2.3.7	<i>Rtuť</i>	<i>23</i>
2.3.8	<i>Selen</i>	<i>23</i>
2.3.9	<i>Zinek</i>	<i>24</i>
2.4	LOKALITA ODBĚRU VZORKŮ ZEMINY.....	24
2.5	ANALYTICKÉ STANOVENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ.....	25
2.5.1	<i>Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.....</i>	<i>25</i>
2.5.2	<i>Atomová absorpční spektrometrie.....</i>	<i>26</i>
2.6	MULTIVARIAČNÍ ANALÝZA.....	27
3.0	CÍL PRÁCE	28
4.0	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
4.1	PŘÍSTROJE, POMŮCKY A PROGRAMY.....	29
4.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	29
4.3	POUŽITÉ ROSTLINY.....	29
4.4	METODIKA.....	30

4.4.1	<i>Vysazení kukuřice a popis vzorku</i>	30
4.4.2	<i>Zpracování kukuřice po fytořemediaci</i>	31
4.4.3	<i>Mineralizace</i>	31
4.4.4	<i>Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem</i>	32
4.4.5	<i>Atomová absorpční spektrometrie</i>	33
5.0	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
5.1	INHIBICE RŮSTU KUKUŘICE.....	34
5.1.1	<i>Inhibice růstu hybridu kukuřice CE 704x2023</i>	34
5.1.2	<i>Inhibice růstu hybridu kukuřice L2023</i>	38
5.1.3	<i>Porovnání inhibice růstu hybridů kukuřice CE704x2023 a L2023</i>	41
5.2	PH PŮDNÍCH VZORKŮ.....	43
5.3	TĚŽKÉ KOVY V PŮDNÍCH VZORCÍCH.....	44
5.4	TĚŽKÉ KOVY V ROSTLINNÝCH VZORCÍCH	44
5.4.1	<i>Obsahy kovů v částech hybridní kukuřice CE 704x2023</i>	44
5.4.2	<i>Obsahy kovů v částech hybridní kukuřice L 2023</i>	50
5.4.3	<i>Porovnání schopnosti akumulovat jednotlivé kovy v nadzemních částech oběma testovanými hybridy kukuřice</i>	55
5.5	MULTIVARIAČNÍ ANALÝZA	60
6.0	ZÁVĚR	62
7.0	POUŽITÁ LITERATURA	64

1.0 Úvod

Technický rozvoj ve 21. století přináší řady nových vymožeností pro lepší a pohodlnější život, ale také má i své negativní stránky. Jedním z nejzávažnějších problémů je dopad na životní prostředí. Škodlivé látky se dostávají do abiotických složek zemského ekosystému, kde způsobují jejich znehodnocení. Z abiotických složek pak mohou přejít do složek biotických a pomocí potravních řetězců ohrožovat zdraví a život živých organismů včetně člověka. Znečišťování životního prostředí pak u lidí bývá příčinou řady civilizačních chorob. Řada těchto látek se v minulosti hojně využívala přestože jejich toxické účinky byly neznámé.

V předchozích letech byl kladen důraz na čistotu atmosféry a vody, a vliv znečištění půdy byl poněkud podceňován a opomíjen, i přestože zrovna půda je místem, kde se nejčastěji rizikové látky zachycují a mnohdy dále koncentrují. Teprve v posledních letech se zájem o ochranu půdy zvýšil a vývoj dekontaminačních metod pro kontaminované půdy se tak stává důležitou činností.

Z anorganických kontaminantů se jeví jako nejzávažnější těžké kovy. V jistém malém množství se těžké kovy vyskytují v půdě přirozeně a tvoří v ní takzvané přirozené pozadí. Tyto kovy se do půdy dostávají převážně zvětráváním matečních hornin či vulkanickou činností, nicméně nejvýznamnějším zdrojem těžkých kovů v půdě je antropogenní činnost. Jde zejména o výrobní procesy zabývající se zpracováním rud, dále spalování fosilních paliv či používání průmyslových hnojiv.

Bylo vyvinuto mnoho technologií (*in-situ* či *ex-situ*), které vedly k úplné či částečné dekontaminaci, avšak bohužel mnohé z nich působí na krajinu destruktivně. Nicméně existují i technologie, při nichž není zapotřebí hrubého zásahu do krajiny. Mezi takové metody patří například fytoremediace. Tyto biotechnologické metody využívají schopnost vybraných rostlin hromadit ve svých pletivech těžké kovy, aniž by došlo k závažnému poškození metabolismu rostliny. Fytoremediace jsou proto nyní, díky výhodám které přináší, předmětem rozsáhlého výzkumu.

2.0 Teoretická část

2.1 Fytoremediace

Odstraňování těžkých kovů z životního prostředí není technologicky zcela vyřešeno a proto se hledají další metody remediace.

Fytoremediace je remediační metoda definovaná jako technologie využívající rostliny k fixaci, akumulaci a rozkladu nebezpečných kontaminantů z životního prostředí. Nachází uplatnění především při dekontaminaci půd, a to zejména na půdách, kde není možné použít běžné sanační technologie. Uplatňuje se rovněž na místech s povrchovým znečištěním, kde se využívá pro hydrofobní polutanty, například aromatické uhlovodíky, chlorovaná rozpouštědla nebo nitrosloučeniny [1]. Účinná je také pro ionty kovů a radionuklidů, ale může být využita i při dekontaminaci sedimentů či vod.

Pro úspěšnou remediaci je nutná biologická dostupnost kontaminantů z půdy do rostliny, která je dána zejména rozpustností látky, typem půdy a stářím kontaminace. Dostupnost závisí rovněž na velikosti a hloubce kořenového systému rostliny, neboť rostliny mohou odstraňovat kontaminanty jen z takové hloubky, jako je délka jejich kořenů.

Po akumulaci kontaminantů rostlinou následuje sklizeň a likvidace rostliny: tepelná (spálení, zpopelnění), chemická (extrakce), mikrobiální (kompostování) [2] či uložení rostlin na speciální úložiště. Dále je pak zkoumána možnost zpětného získávání kovů z rostlin. Tato metoda je však velmi nákladná, a proto je jí využíváno jen zřídka. Především u zemin bohatých na kovy, kde již není ekonomická klasická těžba. Zde lze například využitím rostliny *Alyssum bertoloni*, nebo *Berkheia coddii* získat při zvýšené koncentraci Ni v půdě po jejím sklizení a spálení produkt s 11% Ni [3].

Fytoremediace již byla použita v řadě kontaminovaných oblastí, jako jsou skládky komunálního i průmyslového odpadu, vojenské areály, čistírny odpadních vod, benzínové pumpy a podobně. Přesto je tato metoda stále na počátku. K jejímu rozvoji přispívá zejména narůstající porozumění biochemickým a molekulárním mechanismům metabolických dějů v rostlinách [4].

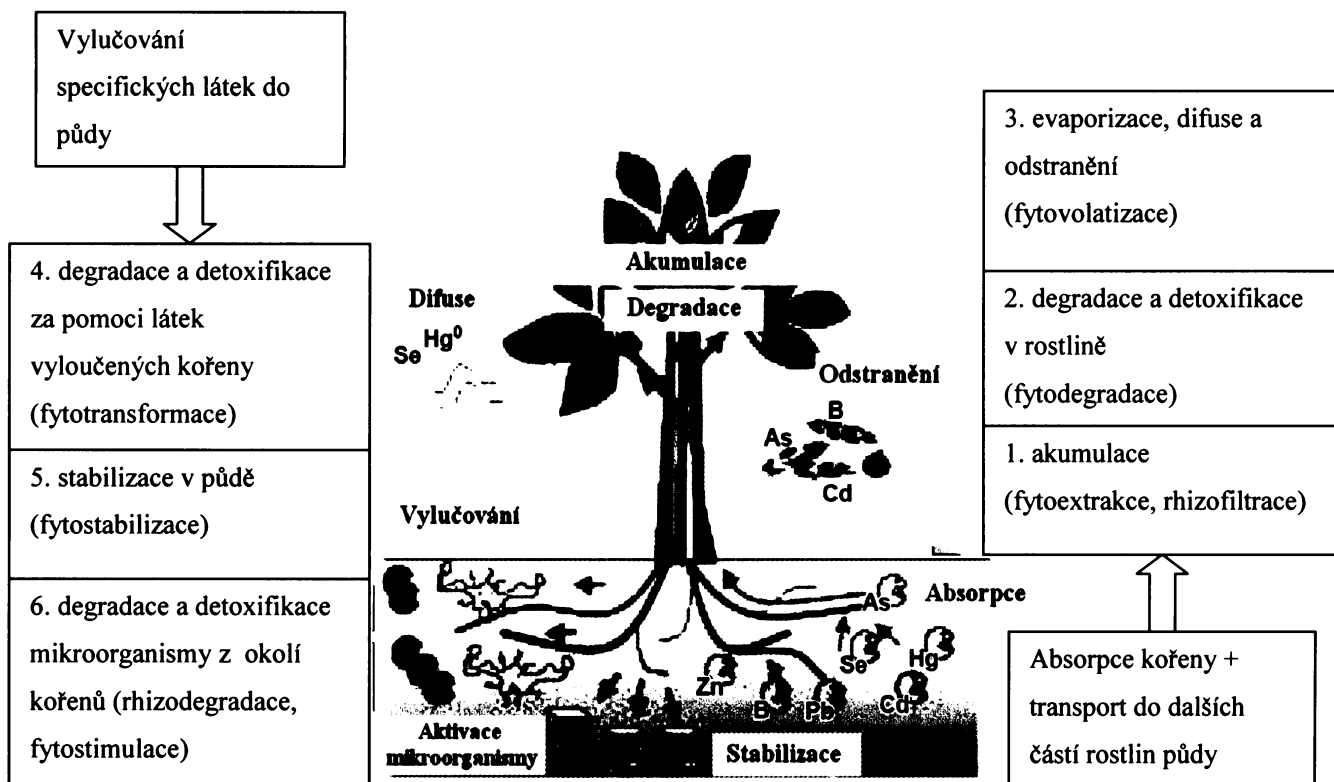
Výhodou použití fytoremediace jsou především nižší náklady oproti jiným dekontaminačním metodám *in situ* a *ex situ*, neboť tato metoda předpokládá využití již běžně zavedených agrotechnických postupů používaných v zemědělství a díky využívání sluneční energie jsou náklady na průběh remediace minimální. Dále k výhodám fytoremediace patří zachování přirozeného stavu prostředí a jednoduchý monitoring rostlin.

Nevýhodou této metody pak je omezená oblast remediace limitovaná plochou kterou pokrývají kořeny rostlin. Mimo tuto plochu již remediace neprobíhá. Dále je nevýhodou pomalý růst biomasy, inhibice rostlin při vysokých koncentracích kontaminantů či hrozící akumulace kontaminantů v potravním řetězci.

Fytoremediační metody se dělí dle mechanismu procesu který je dán charakterem znečištění, druhem kontaminantu a jeho koncentrací na Fytodekontaminační technologie zahrnující fytoextrakci, rhizofiltraci, rhizodegradace, fytodegradaci, a fytovolatilizaci a na technologie fytostabilizační viz tab. 1. Procesy které probíhají při fytoremediaci nám pak znázorňuje obr.1.

Tab. 1 Typy fytoremediačních technik [5]

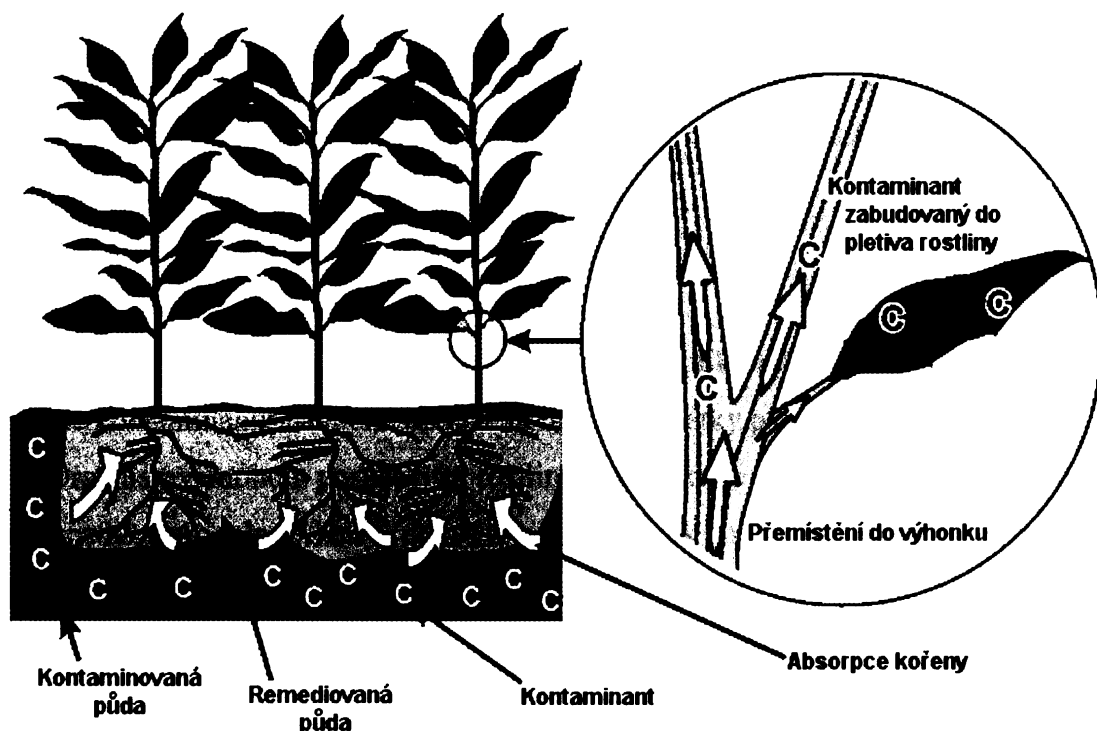
Mechanismus	Cíl metody	Média	Kontaminanty
Fytoextrakce	Extrakce a zachycení	Půdy, kaly, sedimenty	Ag, Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn, ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{239}Pu , $^{238,234}\text{U}$
Rhizofiltrace	Extrakce a zachycení	Podzemní a povrchová voda	Kovy, radionuklidy
Rhizodegradace	Destrukce	Půdy, kaly, sedimenty, podzemní voda	Organické sloučeniny (TPH, PAH, PCB, pesticidy, chlorovaná rozpouštědla)
Fytodegradace	Destrukce	Půdy, kaly, sedimenty, podzemní a povrchová voda	Organické sloučeniny, chlorovaná rozpouštědla, fenoly, herbicidy, výbušniny
Fytovolatilizace	Extrakce z média a následný výpar do ovzduší	Kaly, sedimenty, podzemní voda	Chlorovaná rozpouštědla, Se, Hg, As
Fytostabilizace	Imobilizace	Půdy, kaly, sedimenty	As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, Zn



Obrázek 1: Procesy probíhající při fytořemediaci [6]

2.1.1 Fytoextrakce

Vybrané rostliny jsou vysety či vysázeny na kontaminovanou plochu. Po transportu a akumulaci kontaminantů přes kořeny do nadzemních částí rostlin jsou tyto rostliny sklizeny a dále zpracovávány tepelně, mikrobiálně nebo chemicky. Těto metody je využíváno především k odstranění těžkých kovů.



Obrázek 2: Fytoextrakce [7]

Většina rostlin, které rostou na půdách kontaminovaných těžkými kovy, je schopna v určitém množství akumulovat tyto kovy ve svých výhoncích a lze je tedy použít jako bioindikátory [8].

Některé rostliny mají schopnost akumulovat kovy v mnohem větším měřítku. Tyto rostliny se nazývají hyperakumulátory. Poprvé byl termín hyperakumulátor použit v roce 1977 pro rostliny schopné akumulovat těžké kovy v listech a to v koncentracích vyšších než 1000 $\mu\text{g/g}$ sušiny [9]. Dle novější definice pak jsou hyperakumulátory takové rostliny, které akumulují Ni a Zn v koncentracích vyšších než 2% v sušině nadzemních částí rostliny [10]. Tři čtvrtiny hyperakumulátorů tvoří rostliny kumulující pouze nikl [2]. Mezi rostliny schopné kumulovat i jiné kovy patří například *Brassica juncea* (Pb, Cr, Cd, Cu, Ni, Zn, Sr, B a Se) [11], *Thlaspi caerulescens* (Zn, Ni, Cd) [12][13] či *Sesbania drummondii* (Pb) [14].

2.1.2 Rhizofiltrace

Tato metoda využívá kořenů živých rostlin k absorpci, koncentraci a precipitaci těžkých kovů z povrchové i podpovrchové vody. Využívá se především v oblastech, kde kvůli nízkým koncentracím kovů nelze efektivně použít jinou dekontaminační metodu. Jako vhodné rostliny pro akumulaci některých těžkých kovů rhizofiltrací se jeví kukuřice, slunečnice či rýže [10].

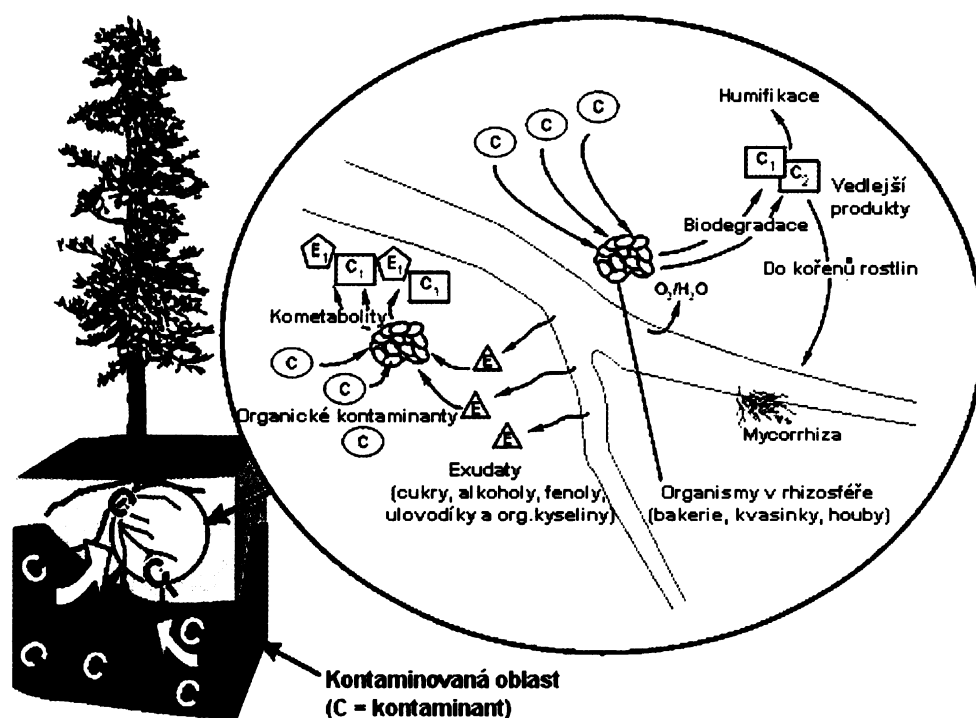
Například slunečnice *Helianthus annuus L.* významně absorbovala za 24 hodin z vody kovy jako je chrom, mangan, kobalt, nikl a měď [15]. Jiné výzkumy pak ukázaly, že rhizofiltrace je vhodná k odstranění radioaktivních látek z vod. Konkrétně byly použity kořenové kultury *Brassica juncea* a *Chemopodium amaranticolor* na odstranění uranu z roztoků. *Brassica juncea* naadsorbovala 20-23% a *Chemopodium amaranticolor* 13% uranu z 5000 μM roztoku [16].

2.1.3 Rhizodegradace

U této metody dochází za pomoci rostlin a mikroorganismů žijících v rhizosféře k přeměně kontaminantů na méně toxické či netoxické látky přímo v půdě [17].

Organismy mohou poskytovat rostlině látky, které si neumí sama vyprodukovat a naopak rostlina produkuje látky, pomocí nichž dojde k rozvoji populace mikroorganismů a jejich stimulaci.

Kořeny rostlin vysázených na půdě kontaminované organickými polutanty zvyšují počet půdních bakterií v půdě vylučováním organických kyselin, sacharidů, enzymů, aminokyselin a dalších látek, které jsou pro bakterie potravou [18].



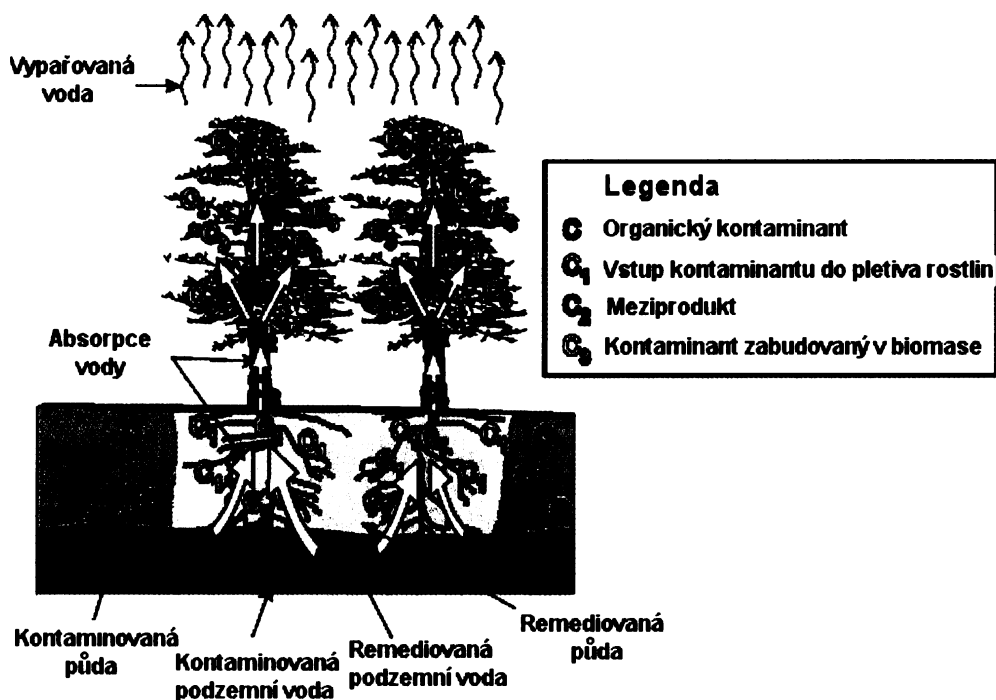
Obrázek 3: *Rhizodegradace* [7]

2.1.4 Fytodegradace

Při fytodegradaci dochází k absorpci organických kontaminantů z půdy, sedimentů a vody a dále k jejich přeměně uvnitř rostliny na méně toxické či netoxické látky. Tato metoda je vhodná především pro odstranění organických látek, které jsou rostliny schopné metabolizovat pomocí enzymatického aparátu. Degradované látky jsou následně uloženy do vakuoly či zabudovány do pletiva rostliny [7].

Přímá absorpce organických kontaminantů z podzemních vod se ukázala být účinná především u látek nemísitelných s vodou, které jsou charakterizované rozdělovacím koeficientem oktanol/voda (K_{ow}). Dle Schnoora jsou to látky mající $\log K_{ow}$ 1 - 3,5. Dalšími faktory ovlivňujícími vstup kontaminantu do rostliny jsou pak jeho sorpční vlastnosti, polarita či rozpustnost [19].

Za pomoci testů byl prokázán výrazný rozdíl v degradační aktivitě mikroorganismů v osázené půdě a v půdě bez rostlinného pokryvu [20].

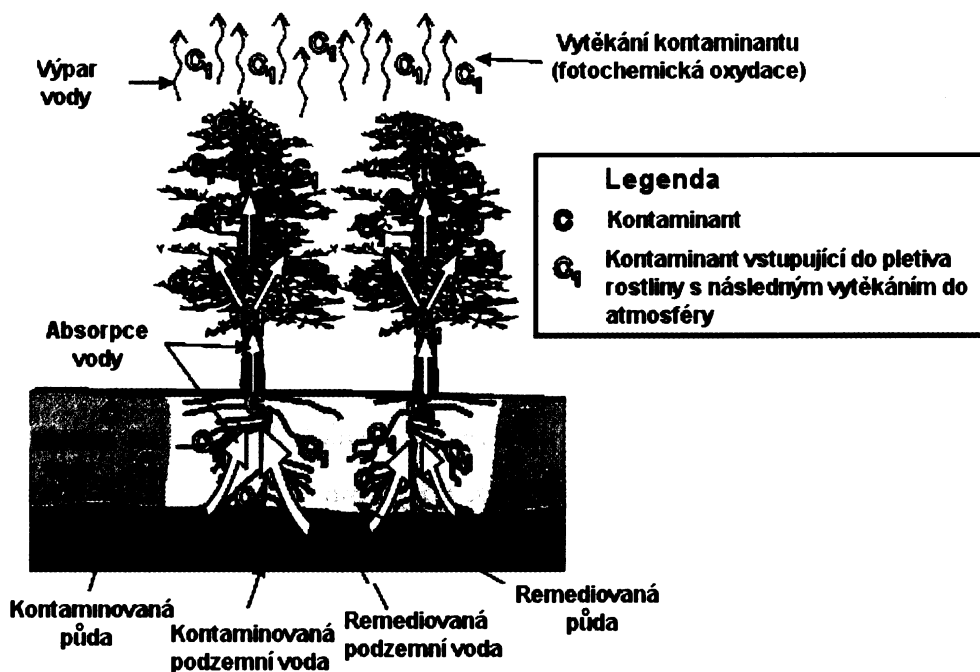


Obrázek 4: Fytodegradace [7]

2.1.5 Fytovolatilizace

Kontaminant je při této metodě v rostlině metabolizován do formy, která se transpirací uvolňuje do okolí. Proto fytovolatilizace často doprovází fytodegradaci [21].

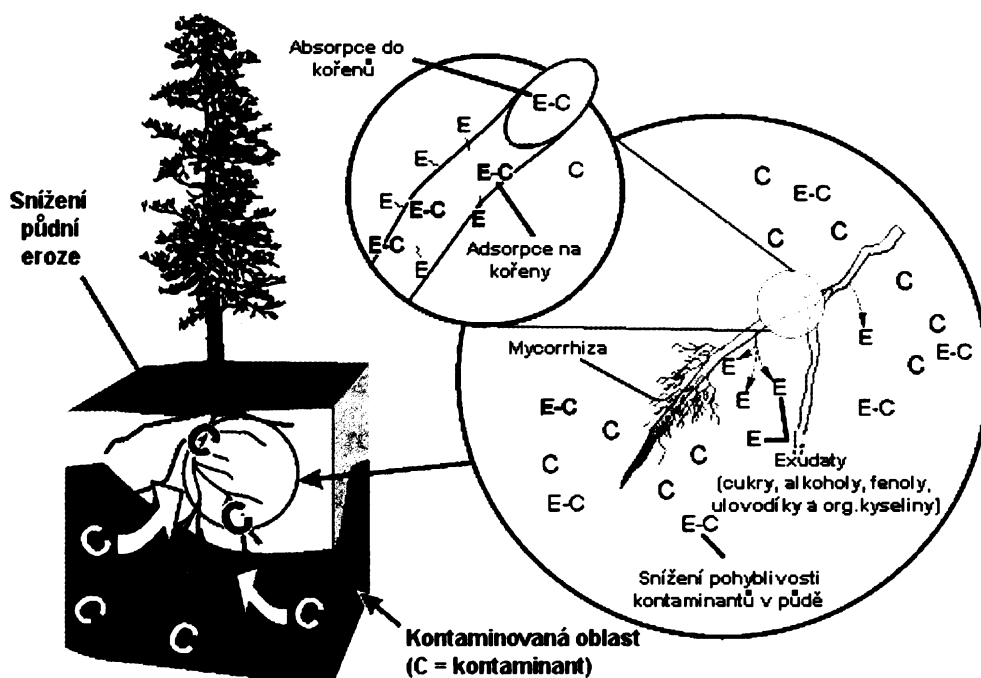
Fytovolatilizace se využívá zejména k odstranění rtuti z půdy, do které se dostala při těžbě zlata, z nemocničních odpadů a dalších antropogenních činností. V půdě se působením bakterií přeměňuje Hg^{2+} na metylrtuť, která je 100x toxickejší než samotné ionty. A však některé druhy bakterií dokáží díky organortuť-redukující lyase MerB převést metylrtuť zpět na Hg^{2+} . Tyto rtuťnaté ionty jsou dále pomocí rtuť-reduktasy MerA enzymaticky redukovány na kovovou rtuť, která se poté rozptýluje do okolí ve formě par. Do rostliny *Arabidopsis thaliana* a *Lyriodendron tulipifera* se podařilo vnést gen kódující reduktasu rtuti, což mělo za následek zvýšení odolnosti rostlin vůči Hg^{2+} v jejich tkáních a současně se podařilo převést větší část rtuti ve formě Hg^0 do ovzduší. Při této metodě však musí být realizována opatření k zamezení nekontrolovaného rozptýlu plyných zplodin do ovzduší [22][23].



Obrázek 5: Fytovolatilizace [7]

2.1.6 Fytostabilizace

Této metody se využívá v místech s vysokou koncentrací kovů, jako jsou například důlní haldy, odkaliště a podobně s cílem omezit přenos kontaminantu do okolí. Za pomoci kořenového systému rostlin zde dojde ke snížení eroze půdy, snížení pohyblivosti kontaminantu v prostředí, sorpci kontaminantu či jeho akumulaci v pletivech rostlin.



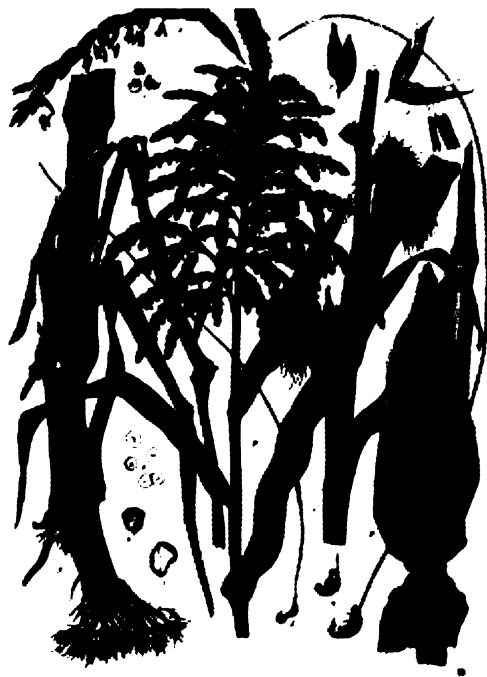
Obrázek 6: Fytostabilizace [7]

2.2 Kukuřice setá (*Zea mays*)

Zařazení kukuřice je následovné: Rostliny (*Plantae*), podříše: Vyšší rostliny (*Cormobionta*), oddělení: Krytosemenné (*Magnoliophyta*), třída: Jednoděložné (*Liliopsida*), čeleď: Lipnicovité (*Poaceae*), rod: Kukuřice (*Zea*).

Sběrem byla kukuřice využívána již před 12000 lety a s jejím pěstováním začali Aztékové, Mayové a Inkové před 5 600 lety.

Kukuřice dorůstá do výšky přes 2,5 metru, a její kořeny pronikají do hloubky až 3 metrů. Její stéblo má 8 až 10 článků, v závislosti na druhu hybridu. Hybridy kukuřice se začaly využívat již v roce 1930 pro jejich lepší využití vůči jednotlivým technologiím. Ze stébla střídavě vyrůstají velmi dlouhé a štíhlé listy. Listová čepel je tenká, mělce zvlněná a má vystouplou hlavní žilku. Počet listů je dán hybridem.



Obrázek 7: *Kukuřice setá (Zea mays)* [24]

Kukuřice má dvě oddělená květenství – samčí na konci stonku a samičí (palice, neboli klas) který vyrůstá ve střední části rostliny. Semena nejsou chráněna jednotlivě, ale celá palice je obalena přetvořenými listy. Kukuřice se rozmnožuje vegetativně. Za dostatečného osvětlení je schopna velmi rychle růst, produkovat enormní množství biomasy a není příliš náročná na vodu. Kořenový systém je mohutný a svazčitý. Na rozdíl od jiných trav je i v dospělosti zachován hlavní kořen.

Rychlost růstu kukuřice při klíčení je závislá na příjmu vody (potřebuje víc než 57% vody v půdě) a na teplotě (30 °C). Aby začala kukuřice klíčit při nižších teplotách musí být

v půdě větší množství vody. Při samotném růstu má pak nároky na určitou intenzitu osvětlení, ale také na délku osvětlení v dané vývojové fázi. Kratší světelný den urychluje kvetení, ale zmenšuje počet listů a výšku rostlin [25].

Možnost využití kukuřice pro fytoremediaci byla a stále je předmětem mnohých výzkumů. Například Luo Ch. zkoumal u hybridu kukuřice Nonga 108 možnost zvýšení extrakce Cu, Pb, Zn a Cd pomocí chelatačních činidel EDTA (kyselina ethylendiamintetraoctová), nebo EDDS (kyselina ethylendiamindisukcinová). Tento experiment byl prováděn květináčích. Výsledky ukázaly vyšší účinnost extrakce Cu a Zn při použití EDDS a vyšší účinnost extrakce Pb a Cd při použití EDTA [26].

Dále bylo například testováno 9 chelatačních činidel, u kukuřice použité k remediaci půd kontaminovaných As, Zn a Cu, z cílem najít činidlo, které by mělo nejlepší efekt pro zlepšení absorpce těchto kovů kukuřicí. Jako nejlepší činidla se pak jevila NTA (kyselina nitrilotrioctová) a HEIDA (kyselina N-(2-hydroxyethyl) iminodioctová), kdy při aplikaci NTA došlo ke zvýšení absorpce As 3-4krát, při aplikaci HEIDA došlo ke 3-4 násobnému zvýšení absorpce Cu a Zn byl 1,5krát více absorbován při použití NTA [27].

2.3 Těžké kovy

Jako „kovy“ je označováno přibližně 80 prvků periodické soustavy, z nichž asi 30 patří do skupiny kovů toxických případně těžkých [28].

Definování pojmu „těžké kovy“ se v literatuře různí. Nejpoužívanější definice je taková, že za těžké kovy se označují prvky, jejichž specifická hmotnost je větší než 5 g.cm^{-3} [29].

V přírodě se kovy vyskytují buďto ryzí, nebo ve formě solí. V nízkých koncentracích jsou přirozenou součástí zemské kůry. Narozdíl od organických látek kovy nedegradují, jen mění svou formu výskytu. Některé půdní organismy mohou umožnit toxickým kovům vstup do komplexu s organickými látkami. Ty pak často bývají z toxikologického hlediska nebezpečnější pro živé organismy než samotný kov (například methylrtuť).

Toxicita kovů záleží především na jejich koncentraci. Některé kovy jsou pro rostliny, živočichy, ale také člověka ve stopových koncentracích esenciálními prvky. Řada kovů je pro organismus ve stopových koncentracích nezbytná, například Cr, Cu, Zn, nebo Fe, které jsou součástí některých enzymů. Jejich nedostatek se může projevit závažným onemocněním. U rostlin je to Fe, Cu, Zn, Mn a Mo [30].

Do životního prostředí se kovy dostávají přirozeně (např. vulkanickou aktivitou), ale také vlivem antropogenní činnosti. Jde zejména o výrobní procesy zabývající se zpracováním rud, dále spalování fosilních paliv či používání průmyslových hnojiv. Mobilita kovů je ovlivněna

rozpuštěností dané formy ve vodě a v kyselině. V kyselém prostředí se mobilita zvyšuje a kovy tak mohou být z půdy vyplavovány, mohou snadněji pronikat do rostlin a také mohou kontaminovat pitné vody [31].

2.3.1 Arsen [32] [33] [34]

Arsen je polokov vyskytující se ve třech alotropických modifikacích (žlutá černá a šedá). Ve sloučeninách je stálý v oxidačních stavech As^{3-} , As^{3+} a As^{5+} . V přírodě se vyskytuje hlavně ve formě sulfidů, jako jsou arzenopyrit ($FeAsS$), realgar (As_4S_4), auripigment (As_2S_3) a v malých množstvích je téměř ve všech sulfidických rudách.

Do ovzduší se dostává především lidskou činností, zejména ze sléváren, hutnictví kovů, spalováním fosilních paliv, používáním pesticidů a koželužnictví. Z ovzduší se dostává spadem nebo vymytím deštěm do půdy a vody, kde díky své schopnosti kumulovat se v sedimentech přetrvává velice dlouhou dobu.

Arsen je značně jedovatý, patří mezi nervové jedy kumulativního charakteru a má karcinogenní účinky. Může se zapojovat do potravního řetězce a je inhibitorem biochemických reakcí. Jeho toxicita závisí na oxidačním stupni, kdy sloučeniny As^{3+} jsou pět až dvacetkrát toxicitější než sloučeniny As^{5+} .

Oproti jiným zdrojům je pro populaci hlavním zdrojem arsenu potrava. Nejvyšší koncentrace arsenu byly stanoveny v mořských živočiších a výrobcích z nich. Dalšími potravními zdroji jsou pak rýže ošetřovaná pesticidy obsahujícími arsen a pivo.

Obsah arsenu je na území ČR sledován poměrně velkým počtem stanic a to 23 stanicemi ČHMU, 10 stanicemi ORGREZ a 75 stanicemi hygienické služby (údaje z roku 2002)

2.3.2 Chrom [28] [29] [30]

Chrom je stříbrobílý lesklý kov vyskytující se ve všech oxidačních stavech od Cr^{2-} do Cr^{6+} , nicméně běžné jsou pouze stavy Cr^0 (kovový chrom), Cr^{2+} , Cr^{3+} a Cr^{6+} . V přírodě se chrom vyskytuje velmi často současně s rudami železa například jako chromit ($FeCr_2O_4$), podvojný oxid železnato-chromitý ($FeO \cdot Cr_2O_3$), či krokoit ($PbCrO_4$).

V nízkých koncentracích je chrom obsažen ve všech typech půd, dále v sopečném prachu a plynech. Veškerý chrom přírodního původu se nachází ve stavu Cr^{3+} , který je silně vázán na záporně nabitě prachové částice. Díky silným vazbám proniká jen nepatrná část Cr^{3+} z půdy do podzemní vody, kde se většina naváže na nečistoty a spolu s nimi klesne ke dnu. Cr^{6+} je proti Cr^{3+} mnohem mobilnější, neboť se vyskytuje ve formě záporně nabitých

komplexů, které se nesorbují na půdní částice. Cr^{6+} má však velmi silné oxidační vlastnosti a v přítomnosti organických látek poměrně rychle redukuje na Cr^{3+} , proto se větší koncentrace Cr^{6+} vyskytují jen v blízkosti jeho zdroje.

Pro člověka má chrom různý význam dle jeho valence. Trojmocný chrom je esenciálním prvkem, nezbytným pro funkci metabolismu. Naproti tomu šestimocný chrom je klasifikován jako látka s dostatečnými důkazy karcinogenity pro člověka. Navíc je šestimocný chrom vysoce toxický pro vodní organismy.

2.3.3 Kadmium [28] [29] [30]

Kadmium je stříbrný, měkký, kujný a tažný kov. Nejběžnějším oxidačním stavem je Cd^{2+} , může se ale vyskytovat i v oxidačním stavu Cd^{1+} . V přírodě doprovází kadmium zinek v jeho rudách (viz. Zinek).

Do prostředí se kadmium dostává především při jeho výrobě a spotřebě, dále spalováním fosilních paliv a odpadů, hnojením fosfátovými hnojivy či odpadními kaly. Čerpání kadmia rostlinami z půdy roste s klesajícím pH půdy, proto může vést acidifikace půdy ke zvýšení obsahu kadmia v potravinách.

Kadmium se může vázat na popílek, prachové částice a jílové půdy. Díky této vlastnosti je kadmium uvolňované do atmosféry vázáno na částice popílku a může tak v atmosféře setrvat více než týden, dokud přejde pomocí atmosférické deposice do vody nebo půdy. Tímto způsobem kadmium migruje i na velké vzdálenosti od zdroje kontaminace. Z půdy je kadmium vymyto dešťovou vodou do vodního prostředí, kde je akumulováno organismy a dochází k hromadění kadmia v potravním řetězci.

Kadmium není pro organismy esenciálním prvkem, naopak je velmi toxické. Kritickým cílovým orgánem při dlouhodobé expozici nízkých koncentrací kadmia jsou ledviny. Při vyšší expozici pak dochází k poruše metabolismu vápníku a tvorbě ledvinových kamenů. Na základě vztahu inhalační expozice a rakoviny plic je kadmium klasifikováno jako lidský karcinogen.

2.3.4 Měď [28]

Měď je ušlechtilý kovový prvek načervenalé barvy. Vyznačuje se velmi dobrou tepelnou a elektrickou vodivostí, dobře se mechanicky zpracovává a je odolný proti atmosférické korozi. Vyskytuje se v oxidačním stavu Cu^{2+} a Cu^{1+} , vzácně pak i Cu^{3+} a Cu^{4+} . V přírodě se vyskytuje převážně ve formě sulfidů: chalkopyrit (CuFeS_2) a chalkosin (Cu_2S_2),

dále pak hydroxid-uhličitany: malachit $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$ a azurit $\text{Cu}_3(\text{OH})_2(\text{CO}_3)_2$ a oxidů: tenorit CuO .

Měď patří mezi esenciální prvky pro lidský organismus. Jeho denní dávka v potravě by se měla pohybovat kolem 1 miligramu. Nicméně ani při dávkách vyšších než 0,1 gramu nebyla zjištěna akutní ani chronická onemocnění. Pouze při koncentraci okolo 1 mg/l ovlivňuje negativně organoleptické vlastnosti vody.

2.3.5 Nikl [28] [29] [30]

Nikl je bílý, feromagnetický, kujný a tažný kov. Je dobrým vodičem tepla a elektřiny. Nejčastěji se vyskytuje v oxidačním stavu Ni^{2+} . V komplexních sloučeninách pak může být i v oxidačních stavech Ni^0 , Ni^{1+} a Ni^{3+} . V minerálech se nachází obvykle společně se sírou, arsenem a antimonem: gersdorfit (NiAsS), pentlantid $[(\text{Fe},\text{Ni})_9\text{S}_8]$, nikelin (NiAs), mullerit (NiS).

Hlavním antropogenním zdrojem niklu do prostředí je spalování fosilních paliv, úpravny niklové rudy a spalovny odpadů. Nikl se váže na částice obsahující železo a mangan, nebo tvoří komplexní sloučeniny s anorganickými ligandy.

Nikl je pravděpodobně esenciálním prvkem, ačkoliv neexistují žádné údaje o projevu nedostatku v organismu. Při zvýšené expozici může dojít k alergické kožní reakci (dermatis), která byla zjišťována zejména u žen. Sloučeniny niklu mají při inhalaci vysokých koncentrací karcinogenní účinky, pro orální expozici nejsou žádné experimentální ani epidemiologické důkazy karcinogenity. Nikl je velmi toxický hlavně pro některé vodní organismy. Proto je přípustná koncentrace niklu ve vodárenských tocích limitována přísněji než v pitné vodě.

2.3.6 Olovo [29] [30]

Olovo je lesklý, měkký, stříbrošedý kov s velkou odolností vůči korozi. Je kujný, tažný a špatně vede elektřinu. Tvoří sloučeniny s mocenstvím Pb^{2+} a Pb^{4+} .

Nejvýznamnějším antropogenním zdrojem olova do prostředí bylo spalování alkylovaného olova v benzínech, odkud se dostalo do všech komponent životního prostředí. Mezi lokální zdroje pak lze řadit slévárny, ocelárny, spalovny odpadů a také spalování uhlí.

Olovo se váže v atmosféře na prachové částice, které mohou být inhalovány, smyty deštěm do vody nebo půdy, či se usazují na vegetaci. V atmosféře přetrvává olovo přibližně 10 dnů. Olovo má vysoký akumulací koeficient a významně se hromadí v sedimentech či kalech, ale i v biomase organismů. V povrchové a podzemní vodě není jeho koncentrace příliš vysoká.

Při vyšších koncentracích způsobuje olovo u člověka inhibici některých enzymů, má účinky na krvetvorbu, neurologické účinky či poškození funkce ledvin. Při chronické expozici byly popsány neurobehaviorální účinky a to zejména u dětí. Olovo působí toxicky na zooplankton a zoobentos. U ryb způsobuje poškození žáber s následným úhynem udušením.

2.3.7 Rtuť [27] [29] [35]

Rtuť je jediným za normálních podmínek tekutým kovem. Špatně vede teplo, ale je dobrým vodičem elektriky. Běžným oxidačním stavem je u rtuti Hg^0 (kovová rtuť), Hg^{1+} a Hg^{2+} , vyjímečně se vyskytuje i ve stavu Hg^{3+} .

Většina rtuti v prostředí se vyskytuje v kovové či anorganické formě. Anorganická rtuť se však může pomocí některých mikroorganismů přeměnit na organickou. Ta se pak hromadí v potravních řetězcích, zatímco anorganická rtuť do potravních řetězců nevstupuje.

Nejvyšší obsahy organické rtuti v organismu se nacházejí u mořských ryb (např. tuňák), vysoké koncentrace rtuti mohou obsahovat i houby.

Rtuť je jedním z nejtoxičtějších prvků. Akutní otrava je nejtypičtější po požití chloridu rtuťnatého. Projevuje se za malou chvíli po požití pálením v ústech, obtížným polykáním, sliněním a bolestmi na prsou a v břiše. Po požití velkých dávek může již v tomto stádiu dojít ke kolapsu a smrti. Chronická otrava rtutí nemá pak vždy stejné počáteční projevy. Ve většině případů předcházejí příznaky poškození zažívacího traktu plnému rozvinutí příznaků nervových, které jsou pro chronickou otravu rtutí charakteristické. Po delší době dochází k nechutenství a zánětu sliznice ústní.

1g rtuti způsobuje perakutní a rychle smrtící otravu, 150 až 200mg akutní a často smrtící otravu, 0,5 až 1 mg denně vede po několika týdnech k chronické otravě a méně než 0,005mg denně vede k příznakům pouze u zvláště citlivých osob

2.3.8 Selen [28] [36]

Je to poměrně vzácný prvek, je nekovový a má významné fotoelektrické vlastnosti. Elementární selen se vyskytuje v několika krystalických modifikacích a dále ve sloučeninách v oxidačních formách Se^{2-} , Se^{2+} , Se^{4+} a Se^{6+} . Je součástí ropy. Doprovází síru a je tedy obsažen v sulfidických rudách jako pyrit (FeS_2).

Selen má značnou schopnost akumulace v rostlinných a živočišných tkáních. Je to esenciální mikroprvek podílející se na aktivitě některých antioxidačních enzymových systémů. Ukázal se být preventivní látkou, která při malých koncentracích chrání organismus před rakovinovým onemocněním, a však chronický toxický účinek selenu se u lidí projevuje

vypadáváním vlasů, změnami na nehtech (lomivost, praskliny, barevné změny) včetně typického zápachu dechu po česneku.

2.3.9 Zinek [28] [29]

Zinek je měkký, lehce tavitelný kov, za normálních teplot křehký. Vede dobře elektrický proud a má vysoký redukční potenciál. Ve sloučeninách se vyskytuje ve stavu 2+. Je součástí hornin i sedimentů. V přírodě ho můžeme nalézt převážně v rudách: sfalerit (ZnS) a smithsonit ($ZnCO_3$).

V půdě je většina zinku vázána na půdní částice a díky nízké rozpustnosti ve vodě jsou jeho koncentrace ve vodách nízké. Větší množství zinku se může dostat do podzemní vody například oxidačním rozkladem sfaleritu.

Zinek patří mezi esenciální stopové prvky, a proto je tedy v malém množství nezbytný. Ani ve vyšším množství nepředstavuje pro lidské zdraví nebezpečí a však působí vysoce toxicky pro vodní organismy a negativně ovlivňuje chuťové vlastnosti vody.

2.4 Lokalita odběru vzorků zeminy

Pro odběr vzorků byla vybrána lokalita Kaňk v okrese Kutná Hora. Toto místo bylo zvoleno z důvodu kontaminace okolní půdy těžkými kovy z dob, kdy zde probíhala těžba. Hlubinné dolování zde započalo ve 13. století. Největší rozvoj těžby byl ve století 14., kdy bylo ročně získáno až 14,56 t stříbra. Těžba dále pokračovala až do 19. století [37]. V padesátých letech zde byla prohloubena Turkaňská jáma, vybudováno povrchové zařízení dolu a flotační úpravna. Na tuto úpravnu byly dováženy nejen kutnohorské rudy, ale i rudy z jiných ložisek těžných firmou RD Příbram, n.p.. Flotační odpady pak byly vypouštěny do velkého odkaliště na svahu Kaňku pod dolem. Pro klesající kovnatost rud byl důl v roce 1992 uzavřen a likvidován. Strusky dnes představují starou zátěž, která byla během let rozptýlena mimo zpracovatelskou a těžařskou oblast do území se zemědělskou produkcí.

Z podzemí byly během těchto let přemístěny na povrch řádově miliony tun rubaniny, které zde vytvářejí dnešní reliéf krajiny. Odhadem bylo z tohoto revíru vytěženo 1346 t stříbra, 5500 t mědi, 500 t olova a během posledních desetiletí těžby také 2 230 kt rudy z kovnatostí okolo 2% Zn, což odpovídá 4 4625 tunám zinku [38].

2.5 Analytické stanovení těžkých kovů

Stanovení těžkých kovů bylo prováděno za pomoci Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a Atomová absorpční spektrometrie. Tyto metody jsou rozepsány v následující kapitole.

2.5.1 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Křivka vývoje této techniky dosáhla v současné době svého vrcholu a vstupuje do čtvrtého desetiletí své existence jako nejrozšířenější plazmová technika pro prvkovou analýzu. Mezi její výhody patří například použitelnost pro stanovení 68 prvků periodické soustavy, pro většinu prvků dobré meze detekce, vysoká selektivita, minimální nespektrální interference, možnost analýzy mikromnožství vzorku a další řada výhod.

Vzorky musí být u ICP – OES převedeny do roztoku. Ten je vháněn kontinuálně pomocí peristaltického čerpadla do zmlžovače. Poté je ve formě aerosolu unášen nosným plynem (nejčastěji Ar) do hořáku kde je generován vysokofrekvenční plazmat.

Vysokofrekvenční plazmat je generován nejčastěji při frekvenci 4 – 100 MHz, přičemž energie je mu dodána indukční vazbou. Jeho teplota dosahuje 6000 – 10000K. Zdrojem vysokofrekvenční elektromagnetické energie je generátor tvořený zdrojem stejnosměrného napětí, oscilátorem s elektronkovým zesilovačem a indukční cívkou pro generování výboje. Výkon generátorů se pohybují v rozsahu 1 – 10 kW. Jako pracovní plyny se používají nejčastěji Ar, O₂, N₂, případně vzduch, při celkové spotřebě 1 – 100 l/min. Energie plazmatu je dostatečná k tomu, aby elektrony excitovaly do vyšších energetických hladin. Excitovaný stav je však nestálý a vybuzené elektrony se vrací zpět na své původní energetické hladiny. Přitom emitují světlo o přesně definované vlnové délce, určené energetickým rozdílem obou hladin

$$\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

kde ΔE je energetický rozdíl hladin elektronu, h je Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s), ν je frekvence světelného vlnění, c je rychlost světla ve vakuu a λ je vlnová délka světla.

Emitované světlo je pak vedeno přes monochromátor, kterým jsou v případě disperzního monochromatického záření šterbiny. Těmi se mechanickým způsobem můžou oddělit požadované úzké oblasti umožňující simultánní měření více charakteristických monochromatických složek, respektive pootáčením dispersní soustavy, nebo posunem

výstupní štěrbiny postupně skenovat celé spektrum a při zvolených vlnových délkách vykonat potřebné měření sekvenčním způsobem.

Fotony tohoto rozděleného světla pak dopadají na fotodetektor, který převede intenzitu dopadajícího optického záření na elektrický signál, přičemž intenzita signálu odpovídá množství prvku, přítomného v analyzovaném roztoku [39].

2.5.2 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je založena na specifické absorpci monochromatického záření volnými atomy sledovaného prvku v základním energetickém stavu. Energie pohlceného fotonu odpovídá přechodu valenčního elektronu ze základní energetické hladiny na některou vyšší. AAS pak vychází ze Kirchhoffova zákona (1860), podle něhož jsou volné atomy v plynném stavu schopny absorbovat záření takové vlnové délky, které samy emitují.

Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou zhotovená z kovu, který má být stanoven. Vzorek obsahující stanovovaný iont se přivádí do plamene jako aerosol. Zde je odpařeno rozpouštědlo a vznikají volné atomy schopné absorbovat záření.

Z absorpčního prostředí pak vstupuje záření výbojky do monochromátoru., kde dojde k izolaci vhodné rezonanční čáry, na které se sleduje absorpce. Odečítaným signálem je bývá zpravidla absorbance definována jako:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = 2,303 \cdot k \cdot n \cdot l \quad (2)$$

kde I_0 je intenzita záření rezonanční čáry před a I po průchodu absorbujícím prostředím (plamenem), k je atomový absorpční koeficient pro danou absorpční čáru, n je počet atomů analyzovaného prvku v jednotce objemu a l je délka absorpční vrstvy (délka hořáku).

Metoda AAS je jako většina analytických metod metodou srovnávací. Vyhodnocování výsledků je prováděno metodou kalibrační křivky, která je sestrojena proměřením absorbancí srovnávacích roztoků o známé koncentraci, nebo metodou přídavku standardu [40].

2.6 Multivariační analýza

Multivariační analýza je statistická metoda, při níž se měří několik znaků u každého objektu, všechny měřené proměnné se současně pozorují a společně vyhodnocují statistickou analýzou pro celou řadu objektů. Většina multivariačních technik není speciálně orientována na prostorově závislá data, ale i tak mohou být velmi užitečná jako nástroj pro redukci dat a pro identifikaci významné kombinace proměnných. Nejčastěji užívané multivariační analýzy je faktorová analýza, analýza hlavních komponent, diskriminační analýza, vícenásobný regresní počet.

3.0 Cíl práce

Cílem této práce bylo porovnání chování dvou hybridů kukuřice pěstovaných na půdě kontaminované těžkými kovy z lokality Kaňk, Kutná Hora. Experimenty a vyhodnocení zahrnovalo tyto kroky:

- 1) květináčové testy s původní a zahradním substrátem zředěnou zeminou
- 2) stanovení inhibice tvorby sušiny
- 3) stanovení obsahu akumulovaných těžkých kovů v různých částech rostlin

4.0 Experimentální část

V této části jsou uvedeny přístroje, pomůcky, programy, chemikálie, rostliny a metody stanovení použité při této práci.

4.1 Přístroje, pomůcky a programy

Analytické váhy: KERN – ALJ 220 – 4M

Mineralizační blok: 2 THETA, Český Těšín

Polypropylenové kónické zkumavky

Pipety: Dialab 1-10 ml

Filtrační aparatura (stojan, trychtýř, držák)

Filtr o velikosti pórů 5 μm , Papírna Pernštejn s.r.o.

Atomový absorpční spektrometr: SensAA Dual, GBC Scientific Equipment PTY LTD

Software AA spektrometru: GBC Avanta Ver 2.02

Hmotnostní spektrometr: ICP-OES, Optima 2000 DV, Perkin - Elmer Instruments

Software Canoco – pro multivariační analýzu metodou PCA

4.2 Použité chemikálie

Kyselina chlorovodíková: 35% p.a., Lach-Ner, s.r.o., 2/2007

Kyselina dusičná: 65% p.a., PENTA - ing.Petr Švec – výrobní divize Chrudim, 8/2007

Kyselina chloristá: 70% p.a., Lach-Ner, s.r.o., 6/2006

Zahradnický substrát A, Rašelina Soběslav

4.3 Použité rostliny

Pro tuto práci byly použity kultivary kukuřice CE 704x2023 a L 2023 ze šlechtitelské stanice CEZEA a.s. v Čejči na Moravě.

4.4 Metodika

4.4.1 Vysazení kukuřice a popis vzorku

Půdní vzorky byly odebrány na lokalitě Kaňk u Kutné Hory, a to 2 vzorky označené jako A a B. Vzorek A byl odebrán na místě, kde proběhl fytořediace experiment se lnem setým (Kartušáková, 2005). Vzorek B jen několik metrů dál, v místě kde fytořediace neproběhla. Vzorky byly vysušeny na vzduchu při pokojové teplotě a přesety přes síto o velikosti ok 4,5 mm. Poté byly uchovány na tmavém místě v plastových pytlích [41].

Dále následovaly květináčové testy. Do prvního květináče byl dán jako kontrolní vzorek čistý zahradní substrát (ZS), do druhého květináče pouze nefytořediovaná půda lnem setým (AN), do třetího květináče směs nefytořediované půdy lnem setým a zahradního substrátu v poměru 1:1 (AR), do čtvrtého květináče pouze půda po fytořediaci lnem setým (BN) a do pátého květináče směs půdy po fytořediaci lnem setým a zahradního substrátu v poměru 1:1 (BR). Do každého květináče byla vysazena 2 semena kukuřice a vše bylo provedeno ve třech paralelních opakováních. Bylo tedy vysazeno 30 semen v 15ti květináčích pro každý ze dvou použitých hybridů kukuřice (CE 704x2023 a L 2023).

Květináče byly umístěny do skleníku UEB AV ČR s přirozeným světelným cyklem světlo/tma 16/8 hod. Po dobu testu nebylo prováděno hnojení, pouze zalévání při vyschnutí zeminy. Test probíhal v období 3.5.-19.7.2006.

Popis vzorků použitých pro květináčový test:

C: hybrid CE 704x2023

L: hybrid L 2023

A: vzorek odebraný v místě, kde neproběhla fytořediace pomocí lnu setého

B: vzorek odebraný v místě, kde proběhla fytořediace pomocí lnu setého

AN: vzorek A neředěný zahradním substrátem (N)

BN: vzorek B neředěný zahradním substrátem (N)

AR: vzorek A ředěný zahradním substrátem (R)

BR: vzorek B ředěný zahradním substrátem (R)

ZS: zahradnický substrát

4.4.2 Zpracování kukuřice po fytoremediaci

Po ukončení testu byly vyrostlé kukuřice vyjmuty z půdy, rozděleny na 3 části (kořen, stonek, list) a vysušeny na vzduchu. Půda byla využita k testování toxicity studentkou VŠCHT Klárou Fišerovou [42].

Jednotlivé části rostlin byly poté zváženy na analytických vahách, rozřezány na drobnější části (viz. Obr 8) a rozdrčeny ve třecí misce (viz. Obr 9)



Obrázek 8: Nařezané části kukuřice



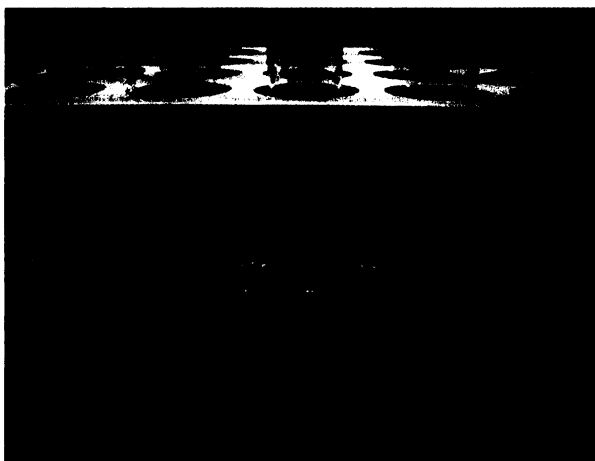
Obrázek 9: Rozdrčené části kukuřic

4.4.3 Mineralizace

Po nadrcení částí rostlin bylo do mineralizačních zkumavek naváženo na analytických vahách po cca. 0,15 g vzorků kořenů a 0,25g vzorků stonků a listů (vyšší navážka je u stonku a listu z důvodu předpokládané nižší koncentrace těžkých kovů v těchto částech rostliny). Ke vzorku bylo dále přidáno 5 ml směsi koncentrovaných kyselin HClO_4 a HNO_3 (15/85 % v/v) (viz. Obr 10). Tato směs byla ponechána přes noc v klidu, aby došlo k nabobtnání a částečnému rozložení vzorku (viz. Obr 11). Poté byly vzorky dány do mineralizačního bloku, kde proběhla mineralizace dle postupu uvedeného v tabulce 2 (viz. Obr 12).

Tab. 2 Teploty a doby použité při mineralizaci

Teplota [°C]	Doba [h]
60	3
100	1
120	1
195	3



Obrázek 10: *Vzorky v kyselině*

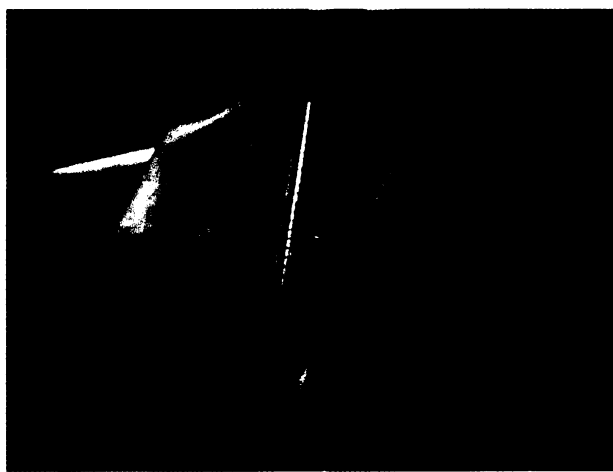


Obrázek 11: *Vzorky v kyselině po nabobtnání*

Po vychladnutí bylo přidáno 2,5 ml 20% HCl, zamícháno a zahřáno na 80 °C po dobu 1 hodiny. Po vychladnutí byl pak vzorek přelit do polypropylenových kónických zkumavek a doplněn destilovanou vodou do 15 ml [42]. Po mineralizaci následovala filtrace vzorku přes papírový filtr o velikosti pórů 5 μm . Takto připravený vzorek byl dále použit k analýze pomocí ICP - OES a AAS (viz. Obr 13).



Obrázek 12: *Zmineralizované vzorky*



Obrázek 13: *Vzorek připravený k analýze*

4.4.4 Emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Pomocí ICP – OES byla stanovena koncentrace arsenu ve vzorcích. Měření bylo provedeno na přístroji Optima 2000 DV za použití GemCone™ nebulizeru (zmlžovače). Pro měření As byly použity vlnové délky 193,696 a 188,979 nm.

Parametry plasmy:

RF power:		1300W
Průtoky argonu:	Nebulizer flow	0,7 l.min-1
	Auxiliary flow	0,2 l.min-1
	Plasma flow	15 l.min-1
Průtok vzorku nebulizerem:		2,2 ml.min-1

Arsen byl stanoven v laboratoři Ústavu energetiky VŠCHT Praha.

4.4.5 Atomová absorpční spektrometrie

Pomocí AAS byly stanoveny kovy: Cr, Cd, Cu, Pb, Ni, Zn. Pro měření všech kovů vyjma Ni byla použita šestikrová kombinovaná dutá katoda. Pro Ni jednokrová dutá katoda. Pro stanovení Hg a Se nebyly katody k dispozici.

Ke stanovení všech kovů vyjma Cr byl použit oxidační plamen acetylen - vzduch. Pro Cr byl použit plamen redukční (acetylen - vzduch). Vlnové délky použité pro stanovení jednotlivých kovů jsou uvedeny v tabulce 3

Tab. 3 Použité vlnové délky

kov	λ (nm)
Cd	228,8
Cr	357,9
Cu	327,4
Ni	232
Pb	217
Zn	213,9

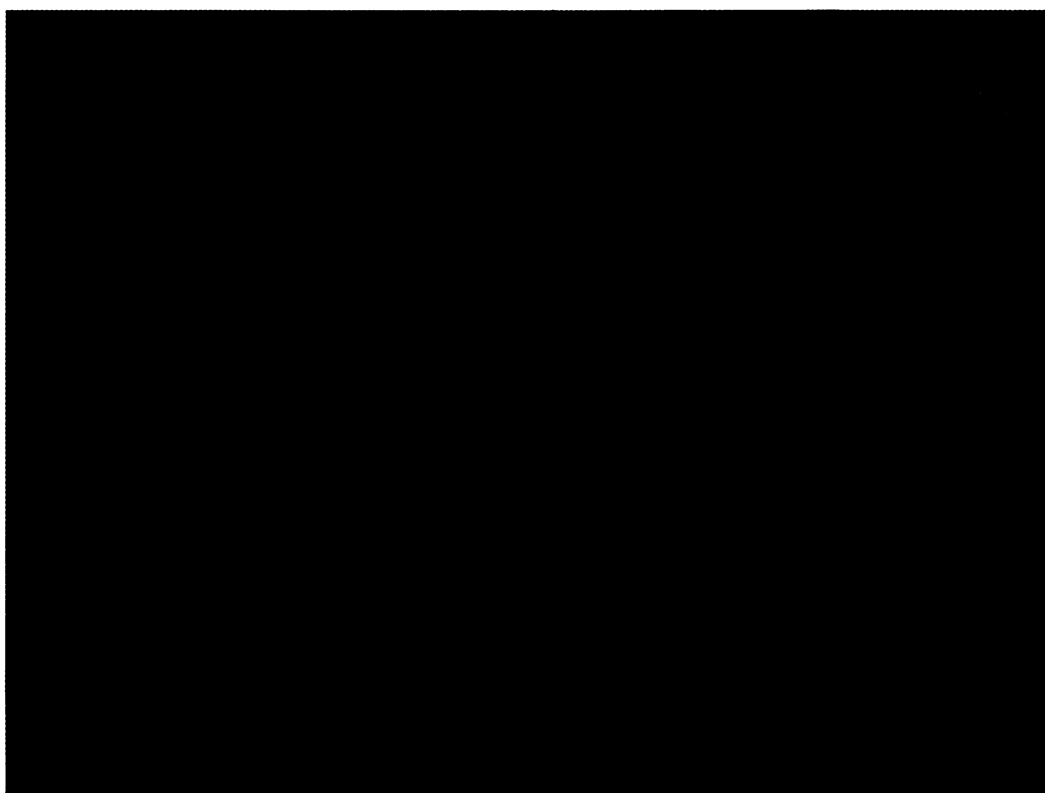
5.0 Výsledky a diskuze

V této kapitole jsou uvedeny výsledky jednotlivých stanovení a jsou následně diskutovány i s možnými příčinami, které mohly k těmto výsledkům vést.

5.1 Inhibice růstu kukuřice

Jedním z cílů bylo stanovit, jak budou dva sledované hybridy kukuřice prosperovat po vysazení na půdě kontaminované těžkými kovy. V následujících podkapitolách jsou uvedeny výsledky inhibice růstu jednotlivých rostlin v již jednou fyto Remediované půdě (Inem setým [43]), v nefyto Remediované půdě a pro kontrolu rostliny vysazené v zahradním substrátu. Klíč k označení jednotlivých vzorků viz. Kapitola 4.4.1.

5.1.1 Inhibice růstu hybridu kukuřice CE 704x2023



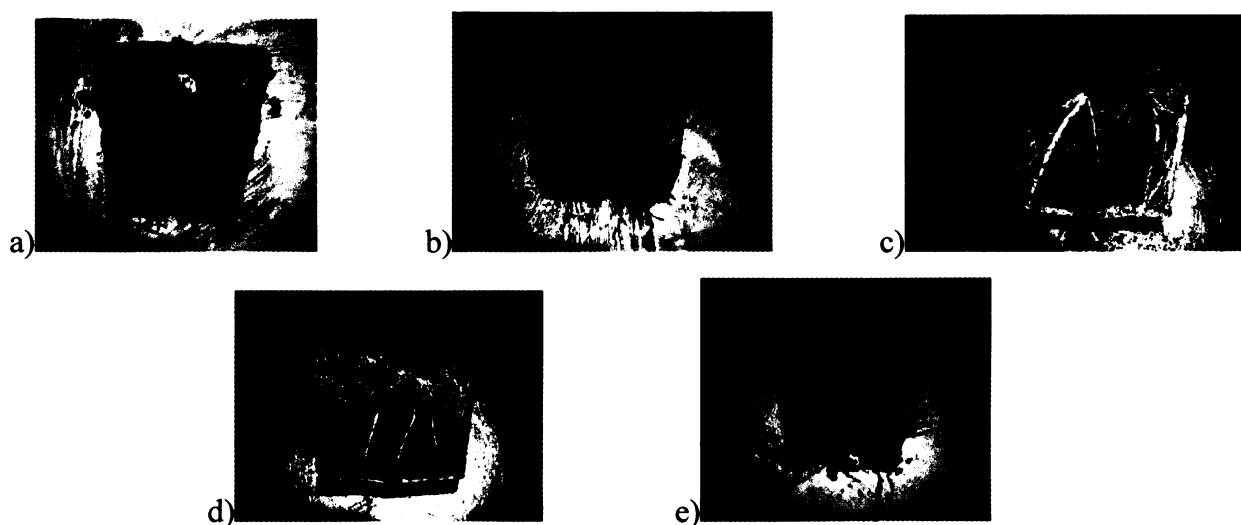
a) b) c) d) e)

Obrázek 14: Ukázka vzrůstu kukuřice na konci testu.

a) vzorek ve fyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem; b) vzorek ve fyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; c) zahradní substrát; d) vzorek v nefyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; e) vzorek v nefyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem

Na obrázku 14 jsou rostliny hybridu kukuřice CE 704x2023 před ukončením růstu. Nejvíce narostly rostliny pěstovaná v zahradním substrátu (c), dále na půdě fyto remediované lnem setým při 50% zředění zahradním substrátem (b), v nefyto remediované půdě s 50% zředěním zahradním substrátem (d), v nezředěné půdě po fyto remediaci (a) a nejméně vyrostla kukuřice zasazená v nezředěné nefyto remediované půdě (e).

Na obrázku 15 jsou fotografie kořenového systému kukuřice v zemině po ukončení růstu. Nej hustější kořenový systém měl kontrolní vzorek (c). Druhé na pohled nej hustější kořeny byly u vzorku zasazeného v nefyto remediované půdě zředěné 1:1 se zahradním substrátem (d). Kořeny u ostatních rostlin byly malé a nezřetelné.



Obrázek 15: *Kořenový systém kukuřice na konci testu.*

a) vzorek ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; b) vzorek ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; c) zahradní substrát; d) vzorek v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; e) vzorek v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem

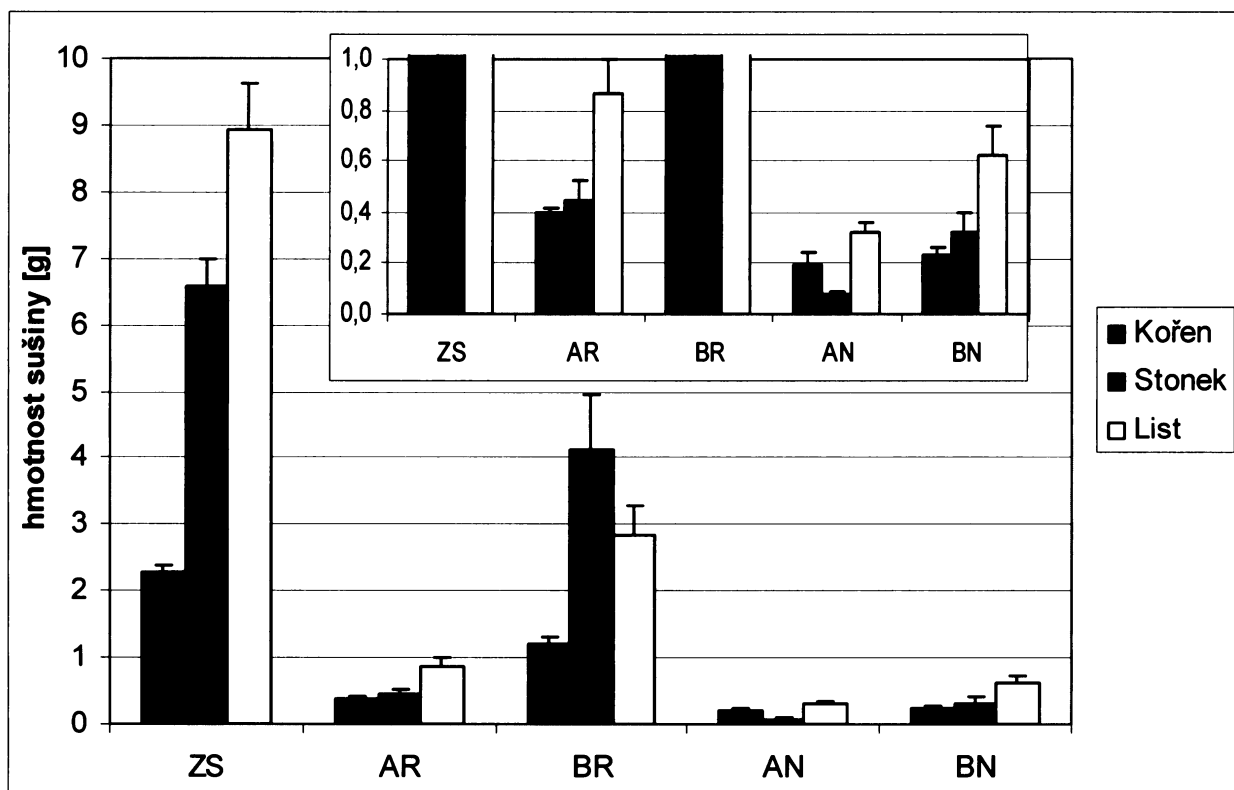
Průměrné hodnoty hmotností sušiny jednotlivých částí hybridní kukuřice CE 704x2023 (kořeny, stonky, listy) jsou vypsány v tabulce č.4.

Tab. 4 Průměrné hmotnosti sušiny jednotlivých částí hybridní kukuřice CE704x2023

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem

CE 704x2023					
	Průměrná hmotnost sušiny [g]				
Část rostliny	ZS	AR	BR	AN	BN
Kořen	2,27 ± 0,10	0,40 ± 0,02	1,23 ± 0,08	0,20 ± 0,05	0,23 ± 0,02
Stonek	6,56 ± 0,45	0,45 ± 0,08	4,11 ± 0,82	0,08 ± 0,01	0,32 ± 0,08
List	8,94 ± 0,67	0,86 ± 0,17	2,84 ± 0,45	0,32 ± 0,04	0,62 ± 0,11

U ředěných vzorků mohla být nižší inhibice růstu způsobena zlepšením vlastností, struktury a tím i pórovitosti půdy přidáním zahradního substrátu. Původní neředěné vzorky měly písčitou až písčité-jílovitou strukturu s minimálním obsahem organických látek a velmi nízkou pórovitostí, což mohlo být příčinou nižší hustoty kořenového systému (viz. Obrázek 15). Dalším faktorem který mohl ovlivnit rozdílnou inhibici růstu rostlin byla nižší koncentrace kontaminantů v půdě způsobená naředěním vzorků. Pozornost je pak nutno věnovat půdám před a po fytoremediaci. Z logického hlediska lze soudit že na půdách kde fytoremediace proběhla (dle zdrojů úspěšně [44]) bude nižší kontaminace, nicméně jak ukázala analýza vzorků půd (viz. kapitola 5.3), byla koncentrace některých kovů (především As) ve fytoremediované půdě výrazně vyšší. A však i přesto byl vzrůst rostlin v této půdě inhibován méně než u rostlin v půdě nefytoremediované.



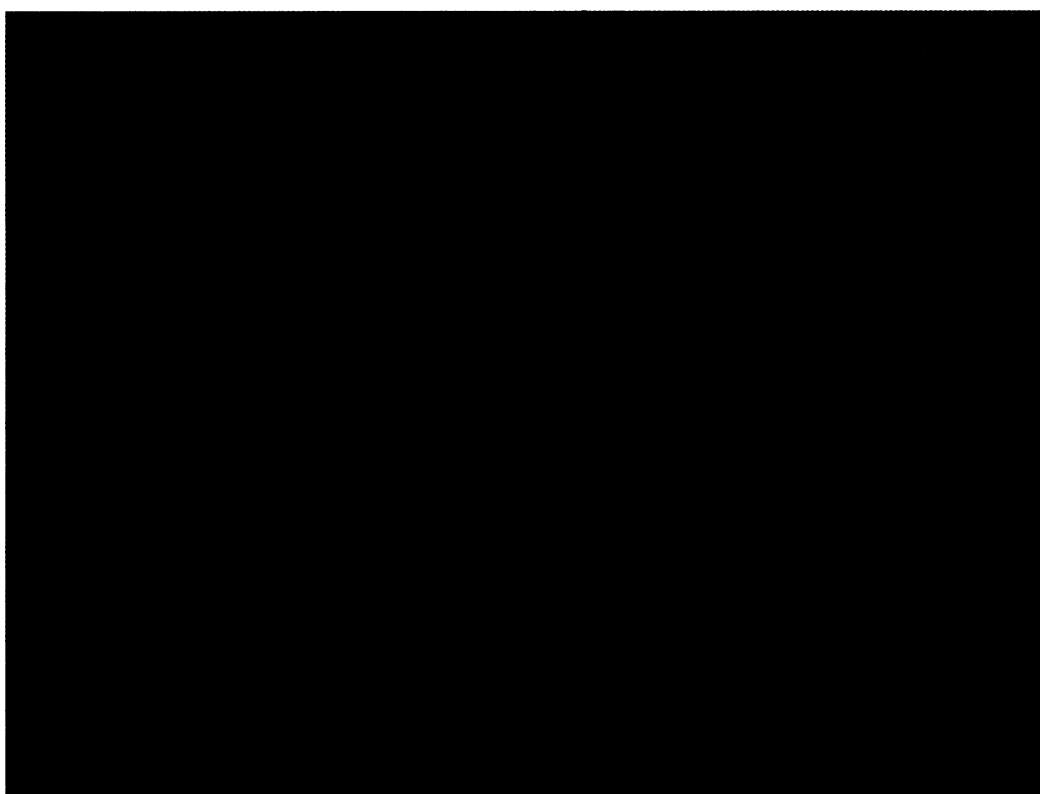
Obrázek 16: Porovnání průměrných hmotností sušiny jednotlivých vzorků hybridu CE 704x2023.

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem

Jak je patrné z obrázku 16, nejvyšší průměrná hmotnost sušiny byla zaznamenána u vzorků vysazených v zahradním substrátu. Druhé nejvyšší průměrné hmotnosti dosáhly vzorky vysazené v půdě po fytoremediaci ředěné zahradním substrátem, u kterých byla zaznamenána vyšší hmotnost stonků než hmotnost kořenů či listů. U ostatních vzorků se průměrné hmotnosti sušiny pohybovali v podobných nízkých hodnotách, kdy měly vždy nejvyšší hmotnost stonky, poté listy a nejnižší hmotnost kořeny. Výjimkou byly vzorky pěstované v nefytoremediované půdě, která nebyla ředěna zahradním substrátem. Zde byla průměrná hmotnost stonku nejnižší.

5.1.2 Inhibice růstu hybridu kukuřice L2023

Vzrůst hybridu L 2023 je na obrázku 17. I zde, je stejně jako u hybridu CE 704x2023, patrná inhibice růstu reálných vzorků vztažená ke kontrole, kterou byla rostlina vysazená v zahradním substrátu (c). Druhý nejlépe prosperující vzorek byl vysazen v půdě fyto remediované lnem setým při 50% zředění zahradním substrátem (b), ale oproti CE 704x2023 vyrostl na pohled více vzorek v neředěné půdě po fyto remediaci (a) a méně v nefyto remediované půdě s 50% zředěním zahradním substrátem (d), nejméně opět vyrostla kukuřice vysazená v neředěné a nefyto remediované půdě (e).

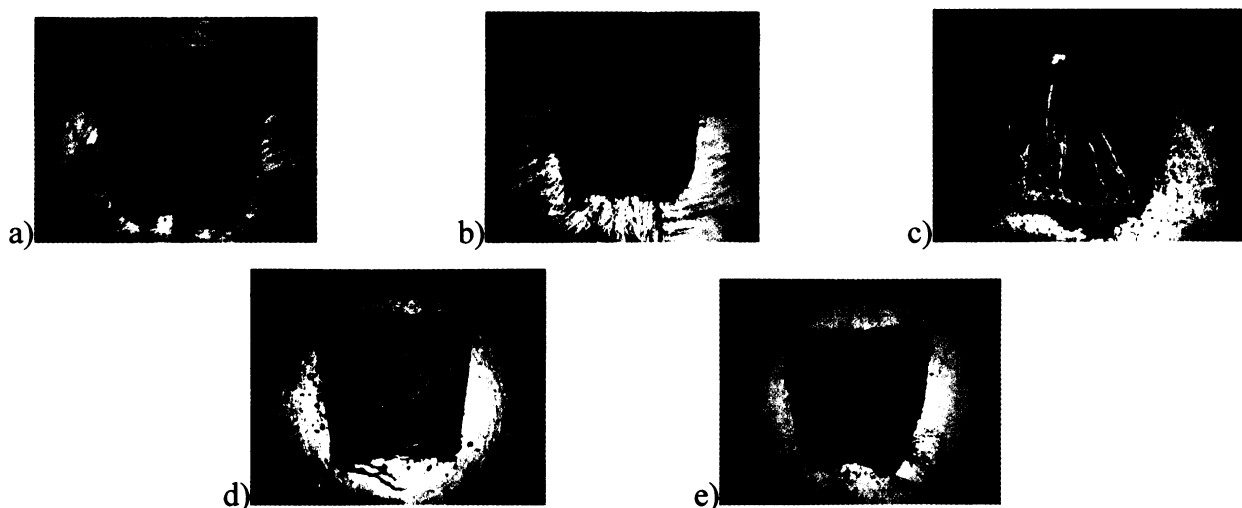


a) b) c) d) e)

Obrázek 17: Ukázka vzrůstu kukuřice na konci testu.

a) vzorek ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; b) vzorek ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; c) zahradní substrát; d) vzorek v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; e) vzorek v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem

Na obrázku 18 jsou fotografie kořenového systému kukuřice v zemině po ukončení růstu. Nej hustější kořenový systém měl kontrolní vzorek (c). Druhé na pohled nej hustější kořeny byly u vzorku zasazeného v nefyto remediované půdě zředěné 1:1 se zahradním substrátem. Kořeny u ostatních rostlin byly malé a na pohled nezřetelné.



Obrázek 18: Kořenový systém kukuřice na konci testu.

a) vzorek ve fyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem; b) vzorek ve fyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; c) zahradní substrát; d) vzorek v ne fyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; e) vzorek v ne fyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem

Průměrné hodnoty hmotností sušiny jednotlivých částí hybridní kukuřice L 2023 (kořeny, stonky, listy) jsou vypsány v tabulce č.5.

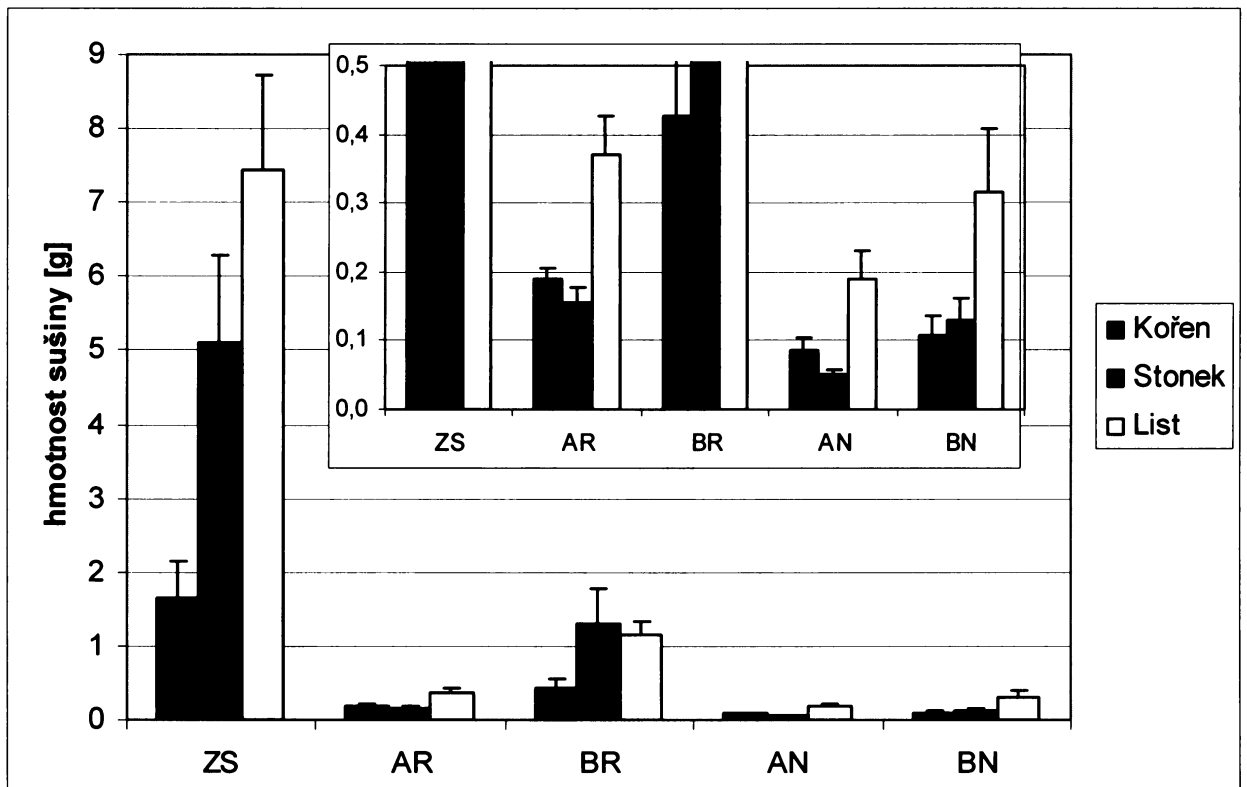
Tab. 5 Hmotnosti sušiny jednotlivých částí rostlin L2023

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v ne fyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fyto Remediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v ne fyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fyto Remediované půdě neředěné zahradním substrátem

L 2023					
	Průměrná hmotnost sušiny [g]				
Část rostliny	ZS	AR	BR	AN	BN
Kořen	1,65 ± 0,49	0,19 ± 0,012	0,43 ± 0,12	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,03
Stonk	5,11 ± 1,16	0,15 ± 0,02	1,32 ± 0,46	0,05 ± 0,01	0,13 ± 0,03
List	7,45 ± 1,27	0,37 ± 0,06	1,14 ± 0,20	0,19 ± 0,04	0,32 ± 0,09

Na obrázku 19 je graficky znázorněno porovnání hmotností sušiny jednotlivých částí rostlin pro hybrid kukuřice L 2023. Nejvyšší průměrnou hmotnost sušiny měly vzorky vysazené v zahradním substrátu. Druhé nejvyšší průměrné hmotnosti dosáhly vzorky vysazené v půdě po fyto Remediaci ředěné zahradním substrátem, u kterých byla jako u

jediných vyšší hmotnost stonků než hmotnost kořenů či listů. Ostatní vzorky měly průměrné hmotnosti sušiny v hodnotách nižších než 0,4 g.

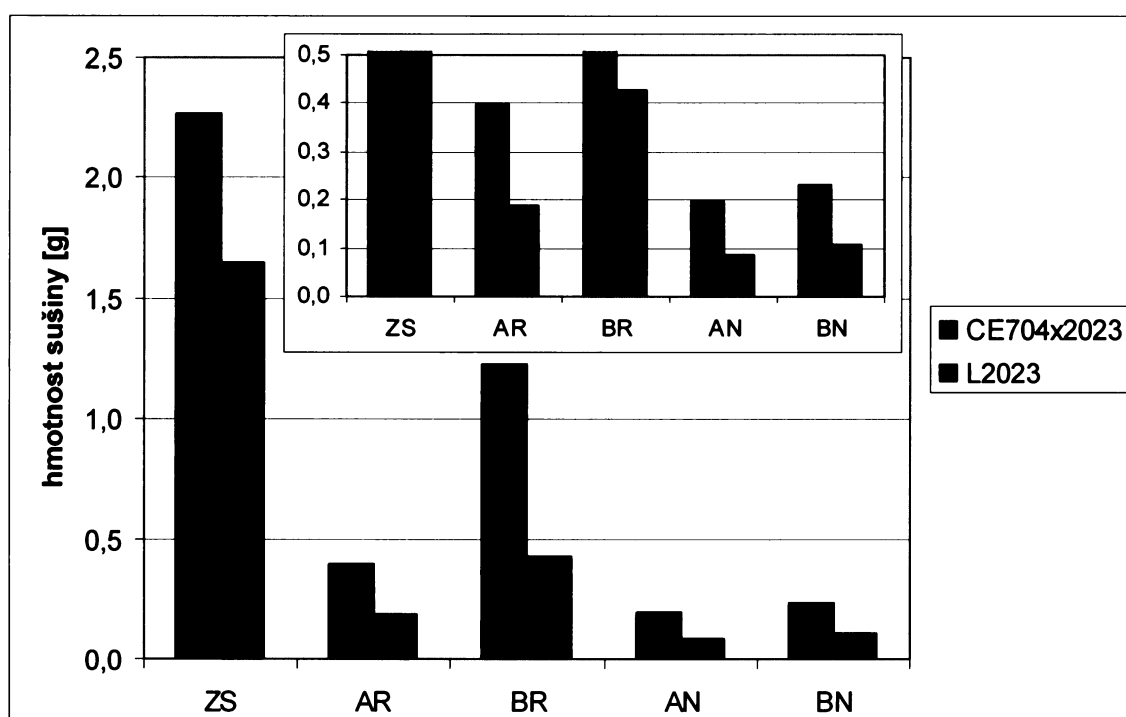


Obrázek 19: Porovnání hmotností sušiny jednotlivých částí rostlin u hybridu L 2023.

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem

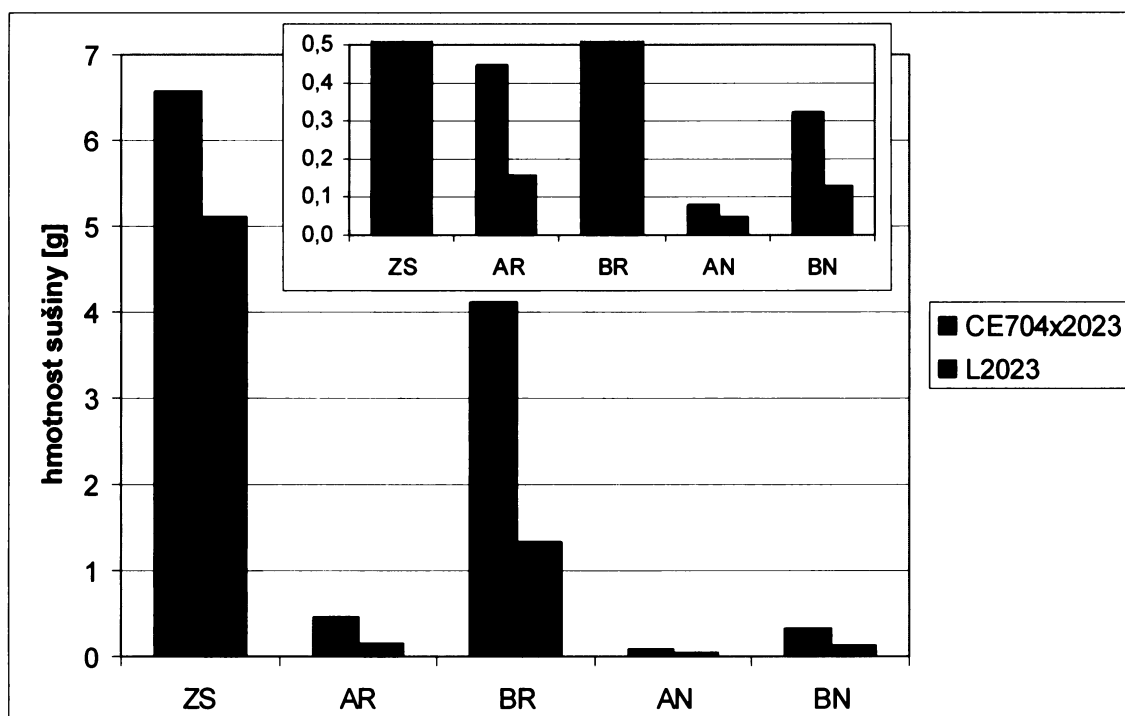
5.1.3 Porovnání inhibice růstu hybridů kukuřice CE704x2023 a L2023

Dalším cílem této diplomové práce bylo zjistit rozdíly v průměrných hmotnostech sušiny mezi hybridy kukuřice CE 704x2023 a L 2023. Na obrázcích 20 - 22 jsou porovnány průměrné hmotnosti sušiny kořenů, stonků a listů těchto dvou hybridů. Pro hybrid CE 704x2023 bylo zjištěné množství sušiny kořene více než dvojnásobné v porovnání s hybridem L2023, vyjma vzorků vysazených v zahradním substrátu. Vzhledem k tomu že zahradní substrát nebyl ničím kontaminován a oba hybridy byly pěstovány za stejných podmínek, lze říci, že hybrid CE 704x2023 dosahuje při stejných podmínkách pěstování vyššího růstu (vztaženo na hmotnost sušiny) než hybrid L 2023.



Obrázek 20: Porovnání průměrných hmotností sušiny kořenů mezi hybridy L2023 a CE704x2023.

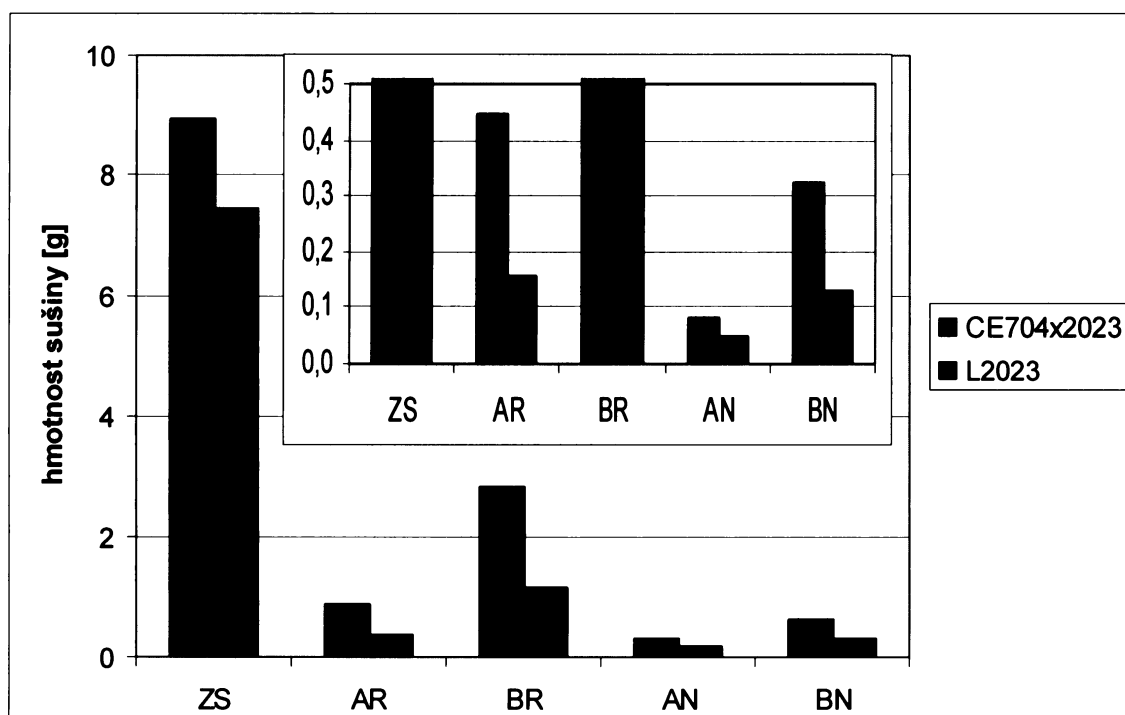
(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem



Obrázek 21: Porovnání průměrných hmotností sušiny stonků mezi hybridy L2023 a CE 704x2023.

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem

Podobně jako u kořenů tomu bylo i u vzorků stonků a listů, zde však byly rozdíly mezi hmotností sušiny hybridu CE 704x2023 a L 2023 ještě výraznější. Nejvyšší rozdíly byly u vzorků vysazených v půdě po fytoremediaci, která byla zředěna zahradním substrátem.



Obrázek 22: Porovnání průměrných hmotností sušiny listů mezi hybridy L 2023 a CE 704x2023.

(ZS) zahradní substrát; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem

5.2 pH půdních vzorků

Výsledky stanovení pH půdních vzorků jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 6 Výsledky měření pH půdních vzorků [42]

Vzorek	pH	t °C
ZS	5,72	25,6
AR	6,89	25,9
BR	6,49	25,6
AN	7,15	25,3
BN	6,91	25,2

Všechny půdní vzorky měly pH v neutrální oblasti vyjma kontrolního vzorku, který měl pH v oblasti mírně kyselé, proto nebylo potřeba půdu upravovat.

5.3 Těžké kovy v půdních vzorcích

Těžké kovy v půdě byly stanoveny Klárou Fišerovou při ekotoxikologických testech, které prováděla v rámci své diplomové práce [42]. V kontrolních vzorcích nebyly nalezeny žádné těžké kovy, proto zde nejsou uvedeny. Tyto hodnoty byly použity v multivariační analýze (viz kapitola 5.5) ke zjištění závislosti koncentrace kovů v půdě na koncentraci kovů v sušině a vlivu kovů v půdě na inhibici rostlin.

Tab. 7 Koncentrace těžkých kovů v testovaných půdách [42].

(A) nefytoremediovaná půda; (AN) nefytoremediovaná půda neředěná zahradním substrátem po fytoremediaci kukuřicí; (AR) nefytoremediovaná půda ředěná zahradním substrátem po fytoremediaci kukuřicí; (B) fytoremediovaná půda; (BN) fytoremediovaná půda neředěná zahradním substrátem po fytoremediaci kukuřicí; (BR) fytoremediovaná půda ředěná zahradním substrátem po fytoremediaci kukuřicí

Vzorek	Koncentrace těžkých kovů v půdě (g/Kg)						
	As	Cr	Cd	Pb	Zn	Ni	Cu
A	1,87	0,029	0,082	0,105	8,24	0,026	0,07
AN	1,78 ± 0,05	0,03 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,1 ± 0,00	8,56 ± 0,15	0,02 ± 0,00	0,16 ± 0,02
AR	1,51 ± 0,06	0,02 ± 0,00	0,07 ± 0,00	0,08 ± 0,02	8,13 ± 0,39	0,02 ± 0,00	0,07 ± 0,04
B	3,25	0,032	0,058	0,167	7,11	0,025	0,02
BN	2,98 ± 0,16	0,02 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,1 ± 0,01	6,8 ± 0,24	0,02 ± 0,00	0,05 ± 0,02
BR	2,88 ± 0,23	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,1 ± 0,01	6,3 ± 0,34	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01

5.4 Těžké kovy v rostlinných vzorcích

Po vysušení, rozdrčení a mineralizaci jednotlivých částí rostlin, byla provedena analýza vzorků pomocí AAS a ICP-OES. Výsledky analýzy jsou uvedeny v následujících podkapitolách.

5.4.1 Obsahy kovů v částech hybridní kukuřice CE 704x2023

V tabulkách 8 - 11 jsou uvedeny průměrné hmotnosti kovů v μg , vztažené na jednotlivé části rostlin. Obsahy niklu a olova se pohybovaly u všech rostlin pod mezí stanovitelnosti, proto nejsou v tabulkách uvedeny. Obsahy ostatních stanovovaných kovů, které se pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, jsou označeny symbolem x. Výsledky jsou diskutovány níže u grafů.

Tab. 8 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(CAN) vzorek v nefytoremediované půdě neřaděné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

CAN	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	140,5 ± 56,6	9,2 ± 55,0	11,7 ± 2,8	26,3 ± 2,0	452,5 ± 48,8
stonek	1,1 ± 0,4	x	8,9 ± 0,6	x	114,9 ± 28,1
list	3,1 ± 0,7	x	10,7 ± 2,5	4,1 ± 1,0	338,2 ± 42,2

Tab. 9 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(CBN) vzorek ve fytoremediované půdě neřaděné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

CBN	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	166,4 ± 50,0	10,4 ± 1,9	X	56,6 ± 8,0	806,1 ± 91,9
stonek	1,8 ± 0,3	x	X	x	218,8 ± 44,6
list	4,9 ± 0,3	x	X	x	337,8 ± 43,1

Tab. 10 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(CAR) vzorek v nefytoremediované půdě řaděné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

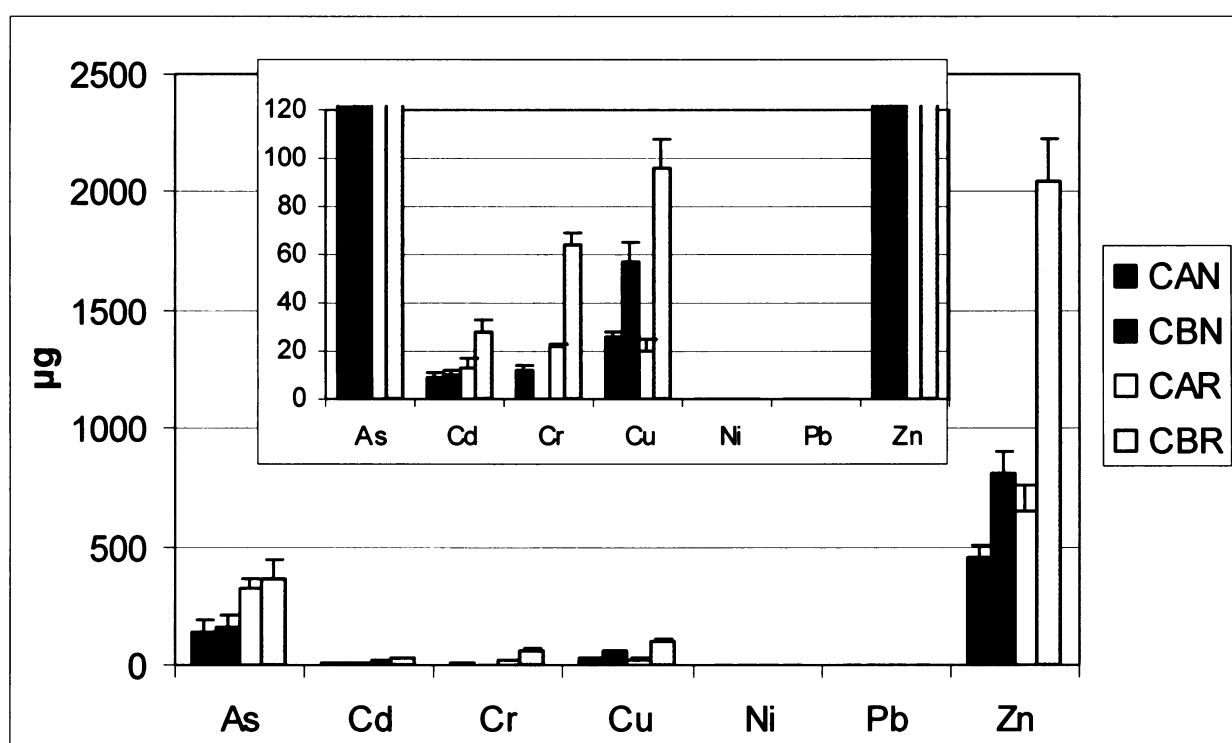
CAR	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	319,4 ± 48,0	12,6 ± 4,3	21,8 ± 1,5	19,9 ± 5,5	646,7 ± 109,9
stonek	6,3 ± 1,3	x	18,2 ± 4,2	x	254,9 ± 44,7
list	7,5 ± 0,6	x	30,2 ± 4,2	x	419,6 ± 72,7

Tab. 11 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(CBR) vzorek ve fytoemediované půdě ředěné zahradním substrátem ; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

CBR	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	361,8 ± 87,6	28,5 ± 4,8	63,9 ± 5,2	96,5 ± 11,5	2045,9 ± 182,9
stonek	21,6 ± 4,5	x	147,7 ± 29,9	x	643,7 ± 118,1
list	15,8 ± 2,6	x	96,2 ± 21,6	35,2 ± 8,7	760,7 ± 95,0

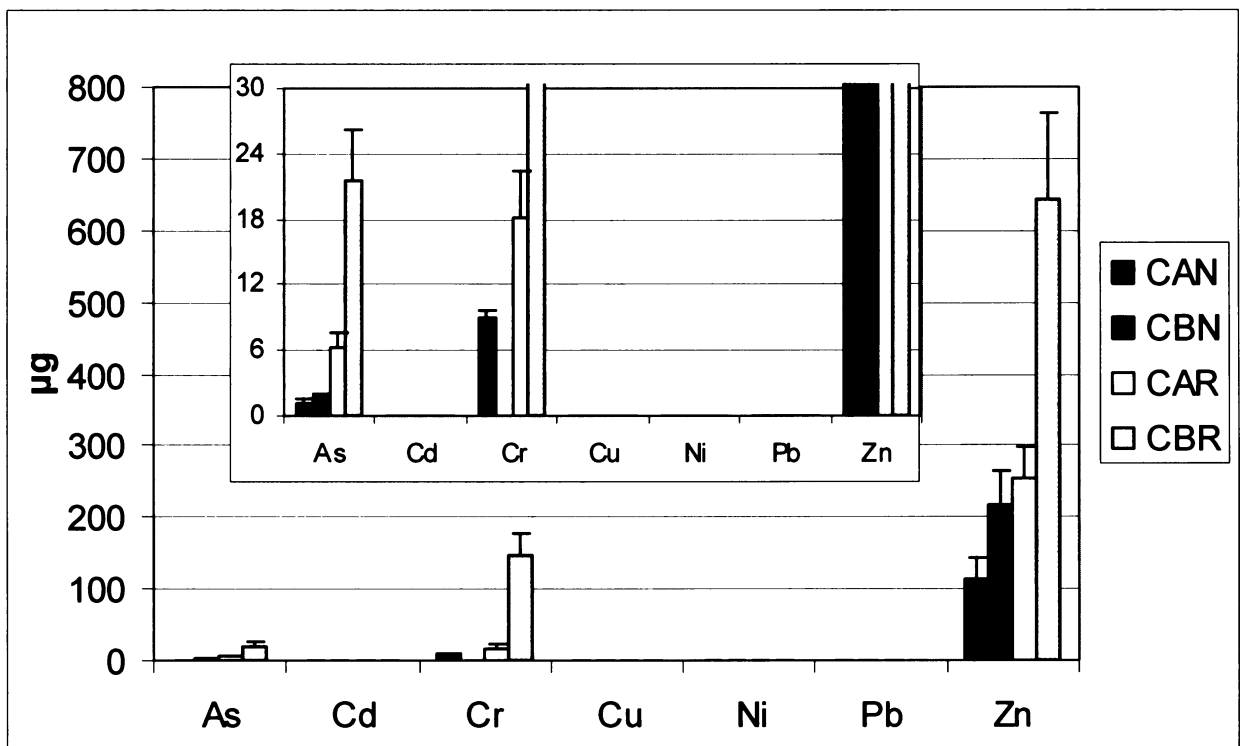
Na obrázku 23 jsou graficky znázorněny obsahy těžkých kovů v kořenech hybridní kukuřice CE 704x2023. Nejvíce byl kořeny akumulován dle očekávání zinek, který je pro rostliny esenciálním prvkem, přičemž nejvíce zinku (podobně jako ostatních kovů) bylo stanoveno v rostlinách pěstovaných ve fytoemediované půdě ředěné zahradním substrátem. Rostliny pěstované v ostatních typech půd obsahovaly podobné množství stanovovaných kovů, s výjimkou rostlin pěstovaných ve fytoemediované půdě neředěné zahradním substrátem, kde byly stanoveny zvýšené hodnoty koncentrace u zinku a mědi a koncentrace chromu se u kořenů těchto rostlin pohybovala pod mezí stanovitelnosti.



Obrázek 23: Obsah těžkých kovů v kořenech hybridní kukuřice CE 704x2023

(CAN) vzorek v nefytoemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CBN) vzorek ve fytoemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CAR) vzorek v nefytoemediované půdě ředěné zahradním substrátem; (CBR) vzorek ve fytoemediované půdě ředěné zahradním substrátem

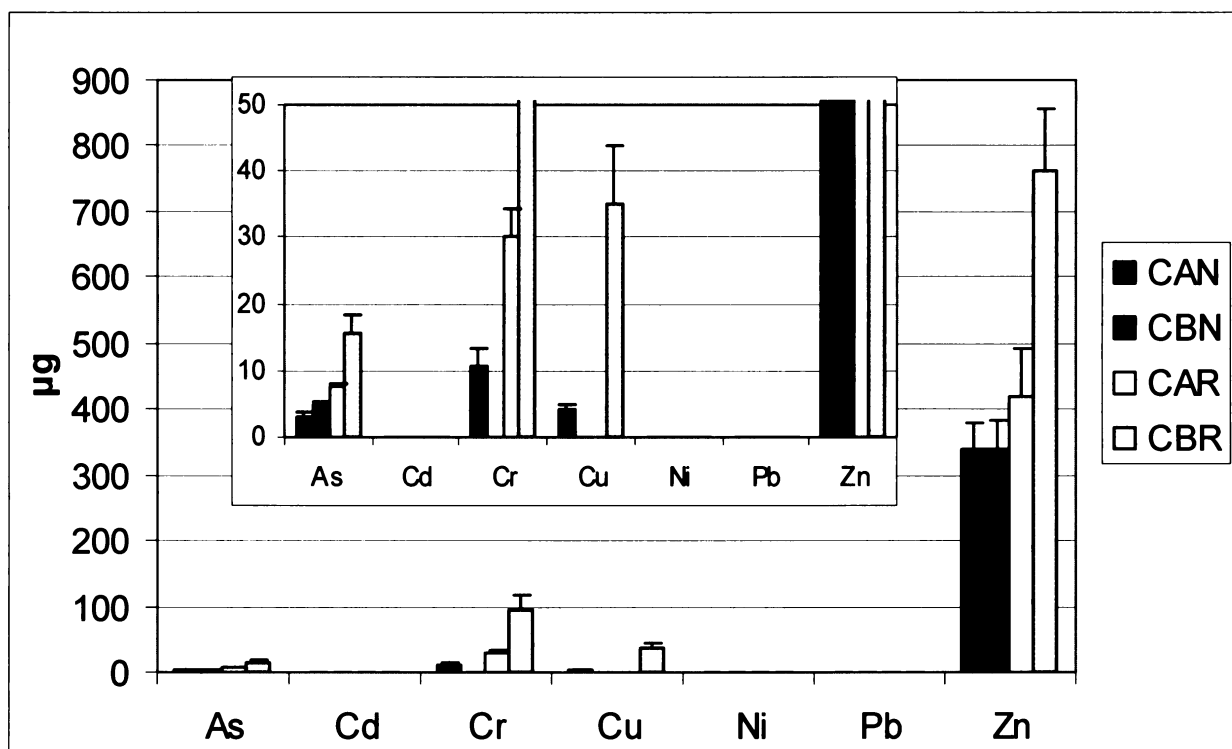
Ve stoncích rostlin kukuřice pěstovaných ve všech typech půd se pohyboval obsah mědi, kadmia, olova a niklu pod mezí stanovitelnosti (viz obrázek 24). Ze všech kovů byl ve stoncích přítomen nejvíce zinek, avšak oproti kořenům bylo v listech stanoveno méně arsenu než chrómu. Nejvyšší obsah zinku byl stanoven v rostlinách pěstovaných ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem. V těchto vzorcích bylo jednoznačně stanoveno i nejvíce arsenu a chrómu. Druhé nejvyšší koncentrace zinku, chrómu a arsenu byly stanoveny v rostlinách pěstovaných v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem. U rostlin pěstovaných ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem se jako u jediných pohyboval obsah chrómu pod mezí stanovitelnosti.



Obrázek 24: Obsah těžkých kovů ve stoncích hybridní kukuřice CE 704x2023

(CAN) vzorek v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CBN) vzorek ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CAR) vzorek v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; (CBR) vzorek ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem

Obrázek 25 znázorňuje obsah těžkých kovů v listech hybridní kukuřice CE 704x2023. Opět je zde patrná převaha zinku nad ostatními kovy. Stejně jako u stonků bylo také v listech stanoveno více chrómu než arsenu a navíc u rostlin pěstovaných ve fytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem a vzorků v nefytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem, bylo stanoveno více mědi než arsenu. V rostlinách pěstovaných ve fytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem se oproti ostatním vzorkům pohyboval obsah chrómu a mědi pod mezí stanovitelnosti.



Obrázek 25: Obsah těžkých kovů v listech hybridní kukuřice CE 704x2023

(CAN) vzorek v nefytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CBN) vzorek ve fytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (CAR) vzorek v nefytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem; (CBR) vzorek ve fytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem

5.4.2 Obsahy kovů v částech hybridní kukuřice L 2023

V tabulkách 12 - 15 jsou vypsány průměrné hmotnosti kovů v μg , vztažené na jednotlivé části rostlin. Obsahy niklu a olova se pohybovaly u všech rostlin pod mezí stanovitelnosti, proto nejsou v tabulkách uvedeny. Obsahy ostatních stanovovaných kovů, které se pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, jsou označeny symbolem x. Výsledky jsou diskutovány níže u grafů.

Tab. 12 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(LAN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

LAN	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	91,8 ± 14,4	9,1 ± 1,1	x	15,5 ± 0,9	459,8 ± 83,5
stonek	1,2 ± 0,4	x	x	x	63,5 ± 7,6
list	2,3 ± 0,4	2,6 ± 0,3	x	x	214,5 ± 6,3

Tab. 13 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(LBN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

LBN	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	42,4 ± 15,2	5,5 ± 0,5	8,7 ± 0,8	26,5 ± 7,3	326,8 ± 76,9
stonek	1,0 ± 0,3	x	8,0 ± 0,1	x	162,2 ± 41,3
list	1,7 ± 0,4	3,5 ± 0,7	14,6 ± 3,8	4,5 ± 1,4	303,9 ± 58,7

Tab. 14 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(LAR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

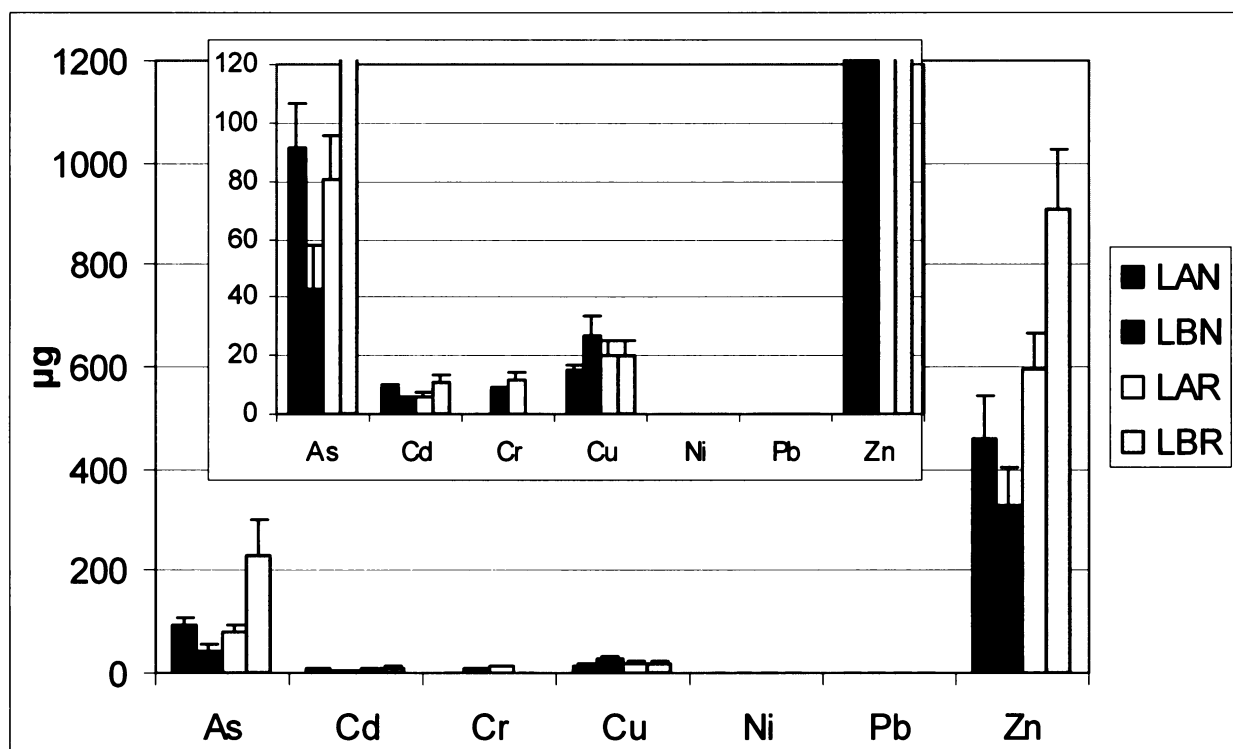
LAR	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	80,9 ± 15,1	6,1 ± 1,3	11,9 ± 2,2	20,0 ± 5,2	596,2 ± 68,6
stonek	1,4 ± 0,2	x	9,3 ± 0,6	x	111,4 ± 15,7
list	2,1 ± 0,3	x	15,3 ± 1,8	x	153,2 ± 38,9

Tab. 15 Obsah těžkých kovů v hybridní kukuřici CE 704x2023

(LBR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem ; (x) obsah kovu pod mezí stanovitelnosti; obsahy Pb a Ni se ve všech vzorcích pohybovaly pod mezí stanovitelnosti, proto zde nejsou uvedeny.

LBR	As	Cd	Cr	Cu	Zn
kořen	229,6 ± 68,1	10,6 ± 3,1	x	20,3 ± 4,7	911,6 ± 116,3
stonek	24,0 ± 9,0	x	x	14,5 ± 3,0	1328,4 ± 195,3
list	15,1 ± 3,6	x	x	x	687,5 ± 93,4

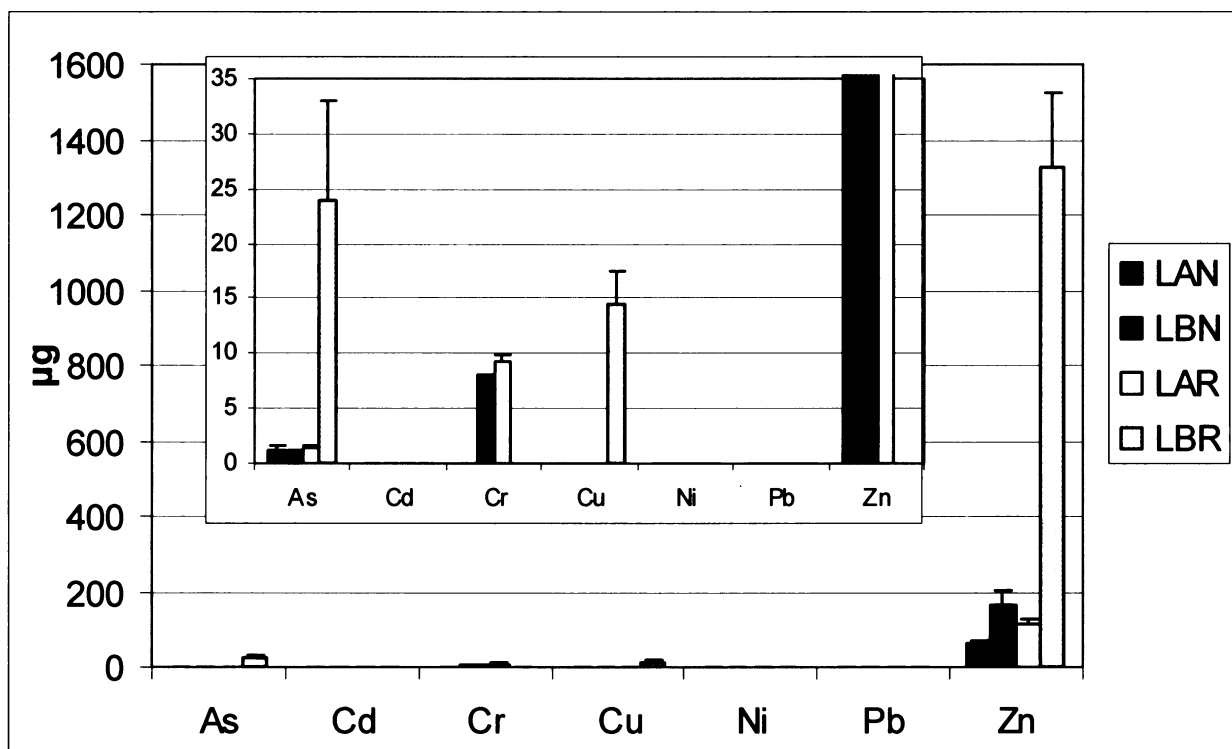
Na obrázku 26 je graficky znázorněn obsah těžkých kovů v kořenech hybridní kukuřice L 2023. Vzorky obsahovaly nejvíce zinku, poté arsen, měď, kadmium a nejméně chromu, který se pohyboval u rostlin pěstovaných v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem a půdě fytoředované ředěné zahradním substrátem pod mezí stanovitelnosti. Zinku, arsenu a kadmia bylo nejvíce obsaženo v rostlinách pěstovaných ve fytoředované půdě ředěné zahradním substrátem. Mědi bylo nejvíce v rostlinách pěstovaných ve fytoředované půdě neředěné zahradním substrátem. Mědi bylo nejvíce v rostlinách pěstovaných ve fytoředované půdě neředěné zahradním substrátem a chromu v rostlinách pěstovaných v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem.



Obrázek 26: Obsah těžkých kovů v kořenech hybridní kukuřice L 2023

(LAN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (LBN) vzorek ve fytoředované půdě neředěné zahradním substrátem; (LAR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (LBR) vzorek ve fytoředované půdě ředěné zahradním substrátem

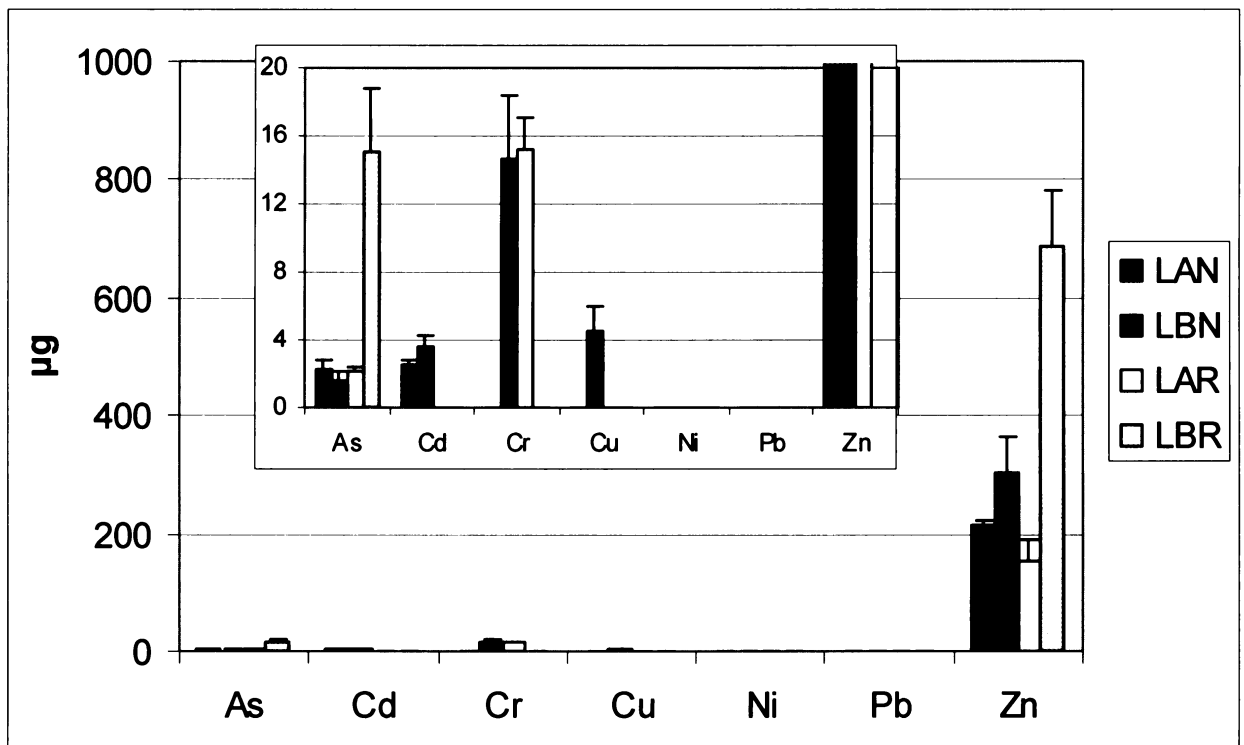
Ve stoncích hybridu kukuřice L 2023 bylo stanoveno jen velmi málo prvků. Nejvyšší koncentrace prvků byly stanoveny ve stoncích rostlin pěstovaných ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem, které jako jediné dosahovaly vysokých hodnot u zinku, arsenu a mědi (viz obrázek 27). Ostatní kovy v těchto rostlinách nebyly stanoveny. Za zmínku stojí i fakt, že stejně jako u listů a kořenů i zde byl stanoven chrom jen v rostlinách pěstovaných ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem a v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem.



Obrázek 27: Obsah těžkých kovů ve stoncích hybridní kukuřice L 2023

(LAN) vzorek v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (LBN) vzorek ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (LAR) vzorek v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; (LBR) vzorek ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem

Na obrázku 28 je graficky znázorněn obsah těžkých kovů v listech hybridní kukuřice L 2023. I v těchto vzorcích bylo stanoveno nejvíce zinku. Nejvyšší obsah zinku a arsenu byl v rostlinách pěstovaných ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem, ostatní kovy v těchto vzorcích však byly pod mezí stanovitelnosti. Chróm byl jako v případech kořenů a stonků stanoven pouze u rostlin pěstovaných ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem a v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem.



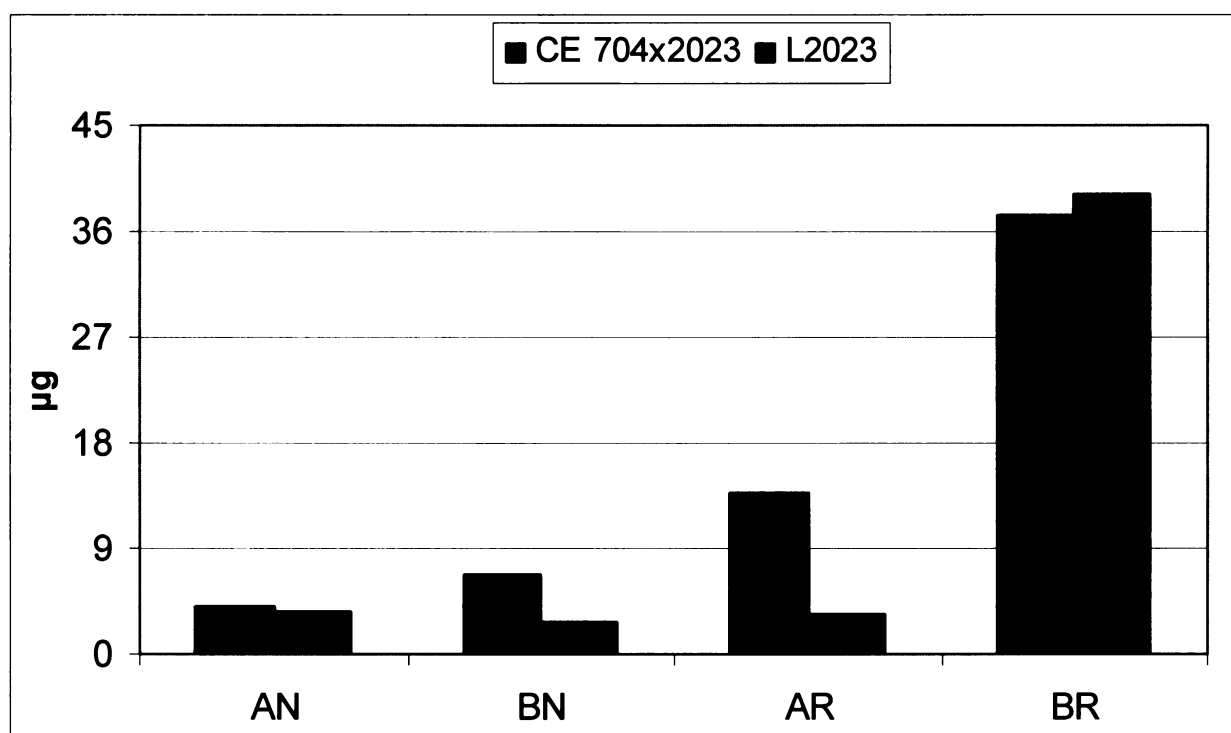
Obrázek 28: Obsah těžkých kovů v listech hybridní kukuřice L 2023

(LAN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (LBN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (LAR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (LBR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem

5.4.3 Porovnání schopnosti akumulovat jednotlivé kovy v nadzemních částech oběma testovanými hybridy kukuřice

Pro potřeby fytořemediace je nejdůležitější, jaké množství kovů se akumuluje v nadzemních částech rostliny (stonky a listy), protože jen tyto části mohou být efektivně sklizeny a dále zpracovány.

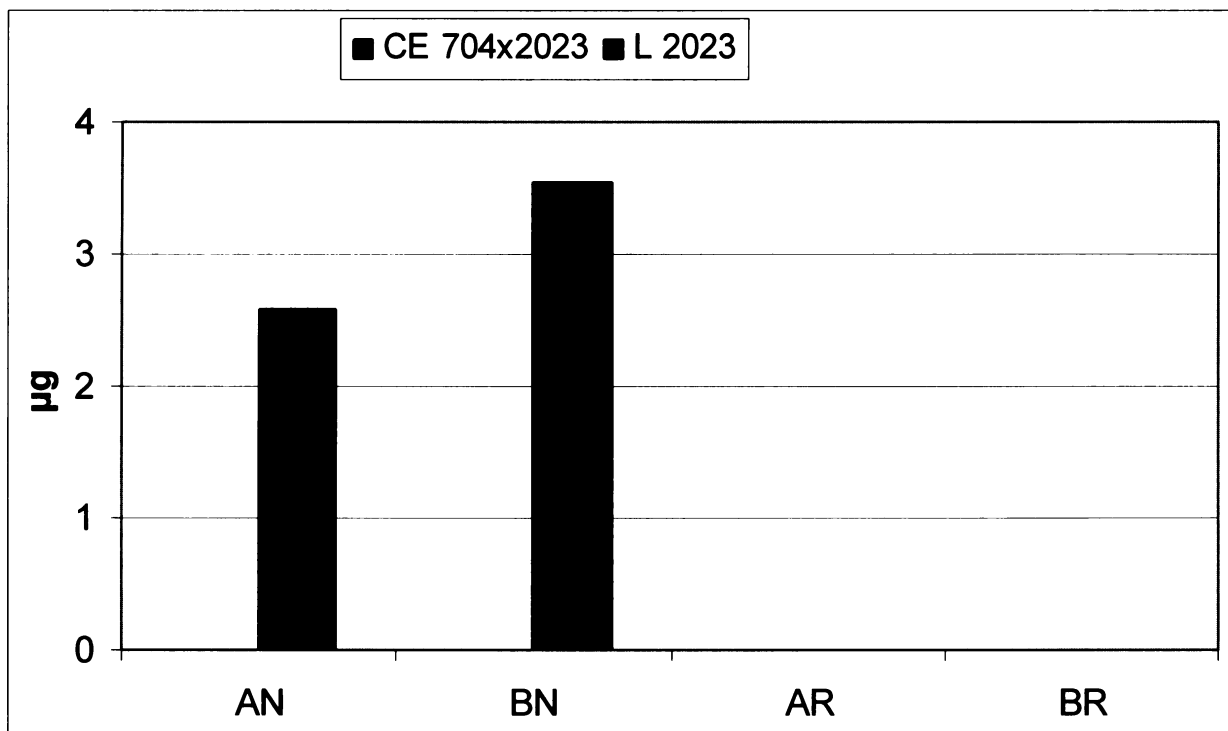
Arsen byl v případě rostlin pěstovaných v nefytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem a rostlin ve fytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem akumulován v nadzemních částech obou hybridů v téměř stejném poměru. U rostlin pěstovaných ve fytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem a rostlin v nefytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem akumuloval arsen lépe hybrid CE 704x2023.



Obrázek 29: Porovnání množství As akumulovaného v nadzemních částech hybridu L 2023 a CE 704x2023

(AN) vzorek v nefytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytořemediované půdě neředěné zahradním substrátem; (AR) vzorek v nefytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem

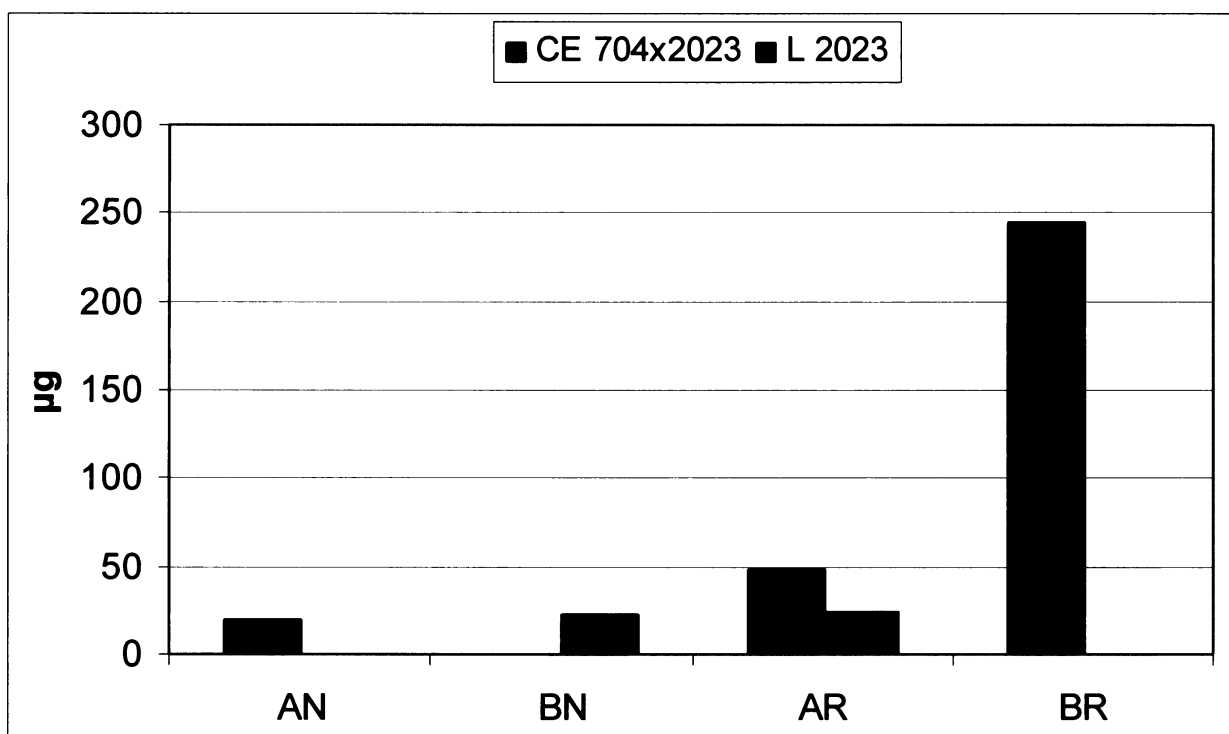
Kadmium bylo u hybridu CE 704x2023 nalezeno pouze v kořenech. Jak lze vidět na obrázku 30, bylo kadmium stanoveno v nadzemní části rostlin jen u hybridu L 2023 a to u vzorku pěstovaného v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem a vzorku ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem.



Obrázek 30: Porovnání množství Cd akumulovaného v nadzemních částech hybridu L 2023 a CE 704x2023

(AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem

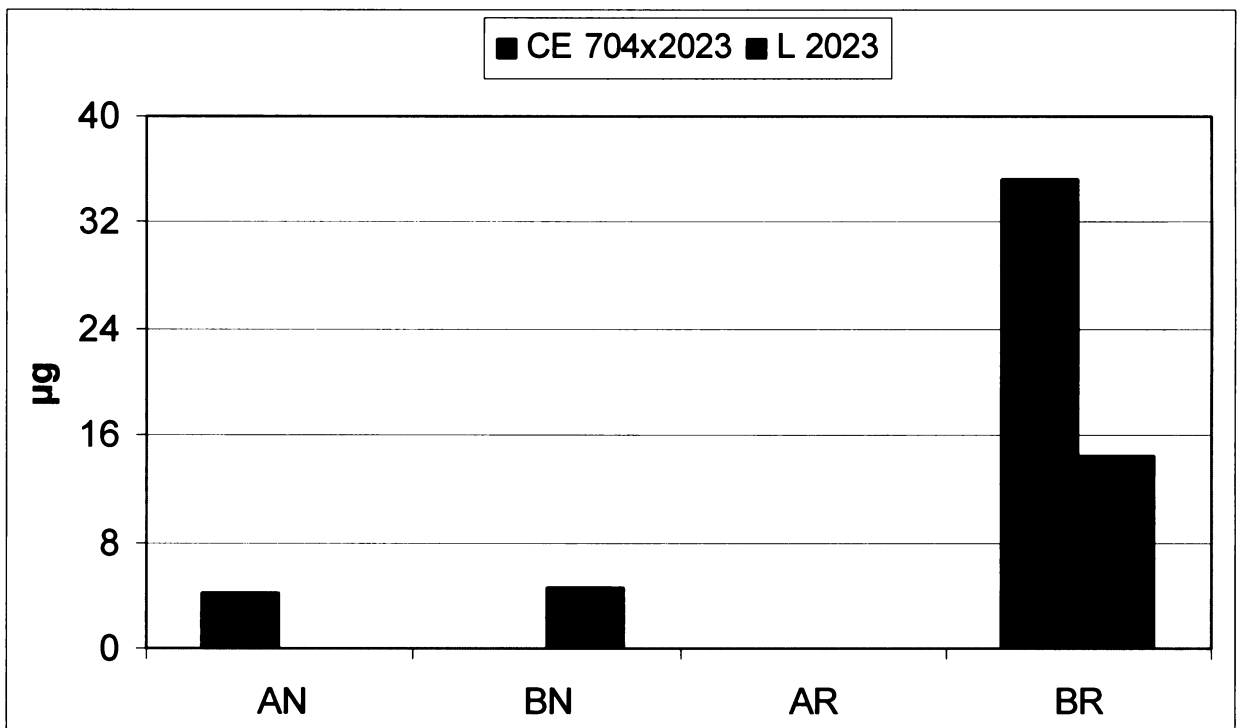
Nejvíce chrómu bylo stanoveno u hybridu kukuřice CE 704x2023 v rostlinách pěstovaných ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem (viz obrázek 31). Naproti tomu hybrid L 2023 pěstovaný v této půdě nekumuloval do nadzemních částí rostlin chróm v množství, jež by se dalo stanovit. Obdobně tomu bylo i u rostlin pěstovaných v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem. U rostlin pěstovaných ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem byl chrom stanoven pouze u hybridu L 2023.



Obrázek 31: Porovnání množství Cr akumulovaného v nadzemních částech hybridu L 2023 a CE 704x2023

(AN) vzorek v nefyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fyto remediované půdě neředěné zahradním substrátem; (AR) vzorek v nefyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fyto remediované půdě ředěné zahradním substrátem

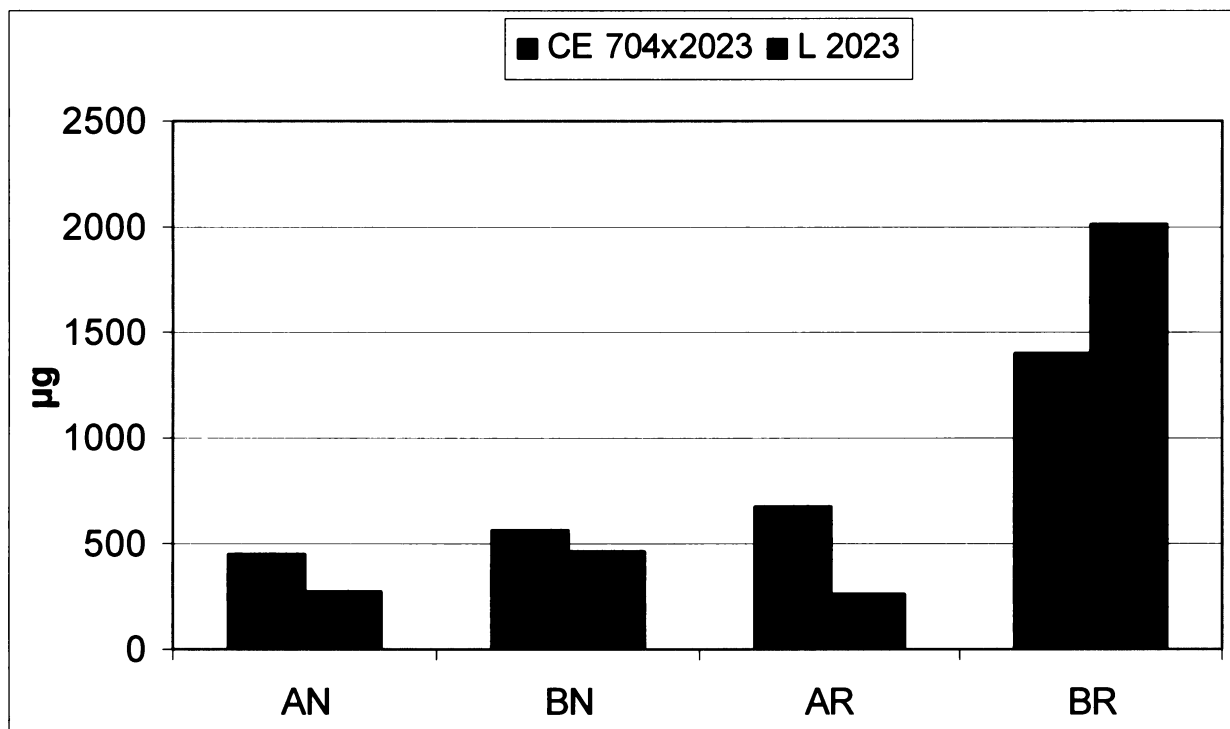
Měď stejně jako chróm byla stanovena v nadzemních částech rostlin pěstovaných v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem jen u hybridu CE 704x2023 a v rostlinách pěstovaných ve fytořmediované půdě neředěné zahradním substrátem pouze u hybridu L 2023. V nadzemních částech rostlin pěstovaných v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem se koncentrace mědi pohybovaly pod mezí stanovitelnosti. Nejvíce mědi bylo opět stanoveno v rostlinách pěstovaných ve fytořmediované půdě ředěné zahradním substrátem, kde byla měď kumulována u hybridu CE 704x2023 více než dvojnásobně než u hybridu L 2023



Obrázek 32: Porovnání množství Cu akumulovaného v nadzemních částech hybridu L 2023 a CE 704x2023

(AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytořmediované půdě neředěné zahradním substrátem; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytořmediované půdě ředěné zahradním substrátem

Zinek byl obdobně jako arsen stanoven v rostlinách pěstovaných ve všech druzích půd. Jako v předešlých případech byl zinek nejvíce vázán ve vzorcích pěstovaných ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem. Pouze u těchto vzorků bylo více zinku stanoven v hybridu L 2023. V ostatních případech byl zinek stanoven v nadzemních částech rostlin více u hybridu CE 704x2023.

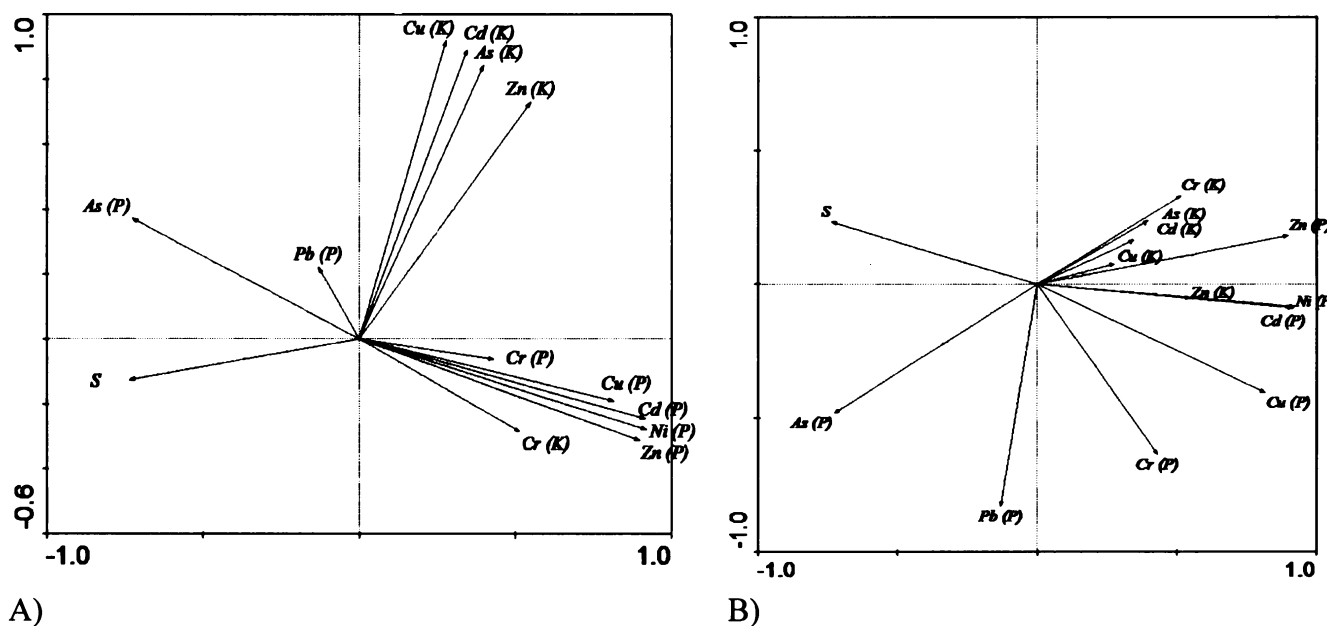


Obrázek 33: Porovnání množství Zn akumulovaného v nadzemních částech hybridu L 2023 a CE 704x2023

(AN) vzorek v nefytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (BN) vzorek ve fytoremediované půdě neředěné zahradním substrátem; (AR) vzorek v nefytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem; (BR) vzorek ve fytoremediované půdě ředěné zahradním substrátem

5.5 Multivariační analýza

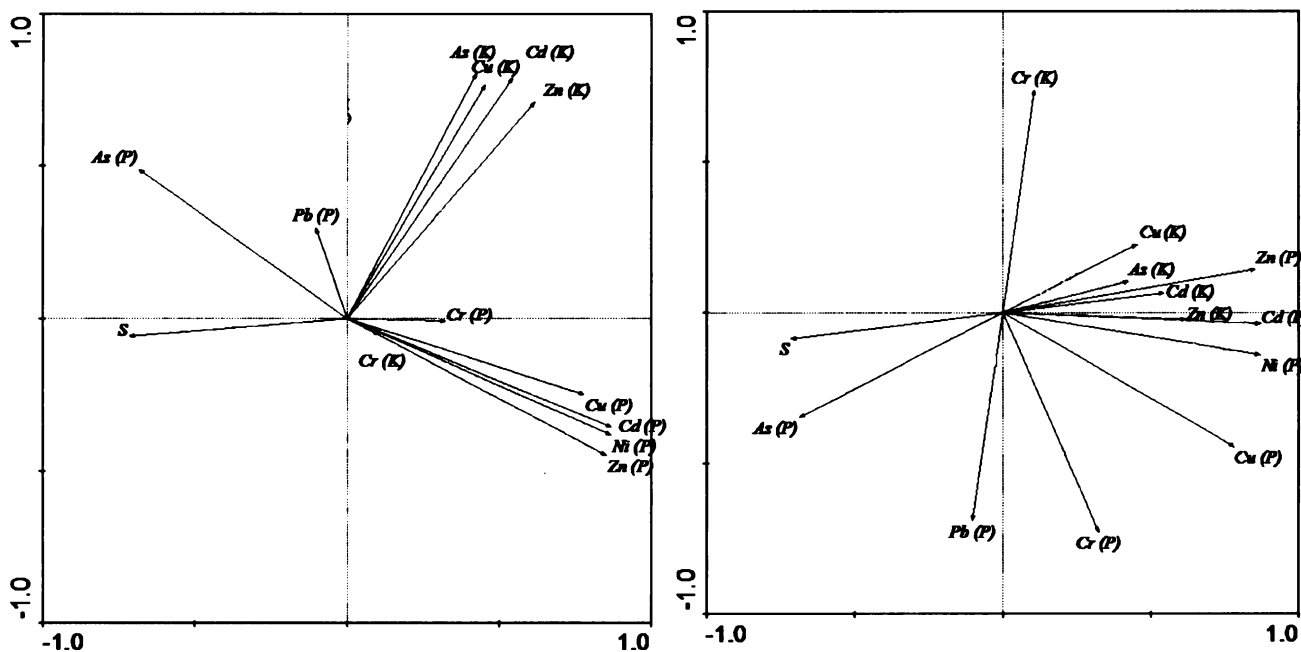
V této práci bylo k porovnání výsledků využito multivariační analýzy a to multivariační analýzy hlavních komponent (PCA – Principal Components Analysis). Postupem mnohorozměrné techniky byla provedena projekce mnohorozměrných dat do prostoru o dvou rozměrech.



Obrázek 34: Multivariační analýza PCA závislosti inhibice růstu rostlin (vztahovaná na úbytek hmotnosti sušiny) na koncentraci těžkých kovů v půdě a rostlině, pro hybridní kukuřiči CE704x2023. A) Zobrazení koordinačních os 1 a 2 (kumulativní míra korelace os ke vstupním datům je 81,6 %); B) Zobrazení koordinačních os 1 a 3 (kumulativní míra korelace os ke vstupním datům je 67,8%)

Pro sestavení grafů na obrázcích 34 a 35 byly použity hmotnosti sušiny jednotlivých vzorků vyjádřené v gramech (S), koncentrace kovů v použitých půdách v jednotkách g/Kg půdy (P) a koncentrace kovů v rostlinných vzorcích v jednotkách g/Kg sušiny (K).

Na obrázku 34A a 35A je vidět, že suma těžkých kovů v půdě směřuje do stejného poloprostoru jako suma těžkých kovů v sušině, tudíž lze usuzovat, že při zvyšování koncentrace kovů v půdě se bude zvyšovat koncentrace v rostlinách. Naopak je patrné, že suma hmotnosti sušiny míří do opačného poloprostoru než suma koncentrací kovů v půdě i v sušině, což potvrzuje i obrázek 34B a 35B. Z toho lze vyvodit, že při zvyšování objemu kovů v sušině, potažmo v půdě, se bude hmotnost sušiny zmenšovat.



A)

B)

Obrázek 35: Multivariační analýza PCA závislosti inhibice růstu rostlin (vztažená na úbytek hmotnosti sušiny) na koncentraci těžkých kovů v půdě a rostlině, pro hybridní kukuřici L2023. . A) Zobrazení koordinačních os 1 a 2 (kumulativní míra korelace os ke vstupním datům je 78,8%); B) Zobrazení koordinačních os 1 a 3 (kumulativní míra korelace os ke vstupním datům je 63,5%)

6.0 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo porovnání chování dvou hybridů kukuřice, dceřiného CE 704x2023 a mateřského L 2023, po vysazení v zemině odebrané na lokalitě Kutná Hora, kde byla předpokládána kontaminace těžkými kovy. Poznatky plynoucí z této práce lze shrnout do těchto bodů:

- Při pěstování kukuřice v kontaminovaných půdních vzorcích došlo k inhibici růstu rostlin v porovnání s kontrolou pěstovanou v zahradním substrátu. Inhibice u neředěných rostlin byla vyšší než u vzorků ředěných (ředění bylo provedeno zahradním substrátem v poměru 1:1).
- Růst rostlin pěstovaných v neředěné půdě po fytořemediaci byl méně inhibován než u rostlin pěstovaných v neředěné půdě, na které fytořemediace neproběhla. Podobně se chovaly i rostliny pěstované v půdách ředěných zahradním substrátem.
- Hmotnost sušiny hybridu CE 704x2023 byla při pěstování v zahradním substrátu o necelou 1/3 vyšší u kořenů, stonků i listů než u hybridu L 2023. V kontaminovaných půdách, ředěných i neředěných, byl ve většině případech rozdíl více než dvojnásobný ve prospěch CE 704x2023.
- Největší množství kovů bylo stanoveno v kořenech, méně pak v listech a nejméně ve stoncích hybridní kukuřice
- Obsahy olova a niklu v sušině se nacházely ve všech vzorcích pod bodem stanovitelnosti.
- Zinek a arsen byly jako jediné kovy stanoveny ve všech vzorcích.
- Akumulace těžkých kovů byla u rostlin pěstovaných v neředěné půdě po fytořemediaci vyšší než u rostlin pěstovaných v neředěné půdě, na které fytořemediace neproběhla. Obdobně tomu bylo i u rostlin pěstovaných v půdách ředěných zahradním substrátem.
- Nejvyšší akumulace těžkých kovů byla stanovena v rostlinách pěstovaných ve fytořemediované půdě ředěné zahradním substrátem. Tyto vzorky také dosahovaly nejvyšších hodnot hmotnosti sušiny.
- Nejvyšší hodnoty množství arsenu naakumulovaného v rostlinných částech se pohybovaly kolem 360 μg , kadmia kolem 28 μg , chrómu kolem 147 μg , mědi kolem 96 μg a zinku kolem 2046 μg .
- U hybridu CE 704x2023 byl ve většině případů stanoven vyšší obsah těžkých kovů než u hybridu L 2023 a byla u něho také zaznamenána vyšší produkce sušiny.

- Hybrid CE 704x2023 je pro použití k fytořemediaci vhodnější než hybrid L 2023.
- Multivariační analýza potvrdila snižování hmotnosti sušiny v závislosti na zvyšování koncentrace těžkých kovů v rostlinách, potažmo na zvyšování koncentrace těžkých kovů v půdě.

7.0 Použitá literatura

- [1] Kučerová P., Macková M., Macek T.: Perspektivy fytořemediace při odstraňování organických polutantů a xenobiotik z životního prostředí. *Chemické listy* 93, 19-26 (1999).
- [2] Dercová K.; Makovnicková J.; Barančíková B.; Žuffa J.: Bioremediácia toxických kovov kontaminujúcich vody a pody. *Chemické listy* 99, 682 – 693 (2005).
- [3] Clemente R., Walker D.J., Roig A., Brnal M.P. Heavy metal bioavailability in a soil affected by mineral sulphides contamination following the mine spillage at Aznalcóllar (Spain). *Biodegradation*, vol14, Iss. 3, 2003: 199
- [4] Golan-Goldrith A., Barazani O., Nepovím A., Soudek P., Smrček S. a kol., Plant response to heavy metals and organic pollutants in cell culture and at whole plant level. *Journal of soils and sediments* 4, 133-140 (2004).
- [5] EPA/600/R-99/107 February 2000: Introduction to Phytoremediation <http://www.clu-in.org> ze dne 20. 2. 2008
- [6] Toshihiro Yoshihara. Clearing of cadmium contaminated soil using plants for phytoremediation <http://criepi.denken.or.jp/en/index.html> ze dne 25. 1. 2008
- [7] Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document, Prepared by Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group Phytotechnologies Workteam <http://www.itrcweb.org/> ze dne 15.1 2008
- [8] Edmans J.S., Brabander D.J., Coleman D.S Uptake and mobility of uranium in black oaks: implications for biomonitoring depleted uranium-contaminated. *Chemosphere* 44, 2001: 789
- [9] Brooks R.R., Wither E.D., Nickel accumulation by *Rinorea bengalensis* (Wall.) O.K. *Journal of Geochemical Exploration*, Vol.7, 1977: 295
- [10] Baker A.J.M., McGrath S.P., Sidoli C.M.D., Reeves R.D., The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metal-accumulating plants. *Resources, Conservation and Recycling*, Vol.11, Iss. 1-4, 1994
- [11] Ozturk L., Karanlik S., Ozkultu F., Cakmak I., Kochian L.V.: Shoot biomass and zinc/cadmium uptake for hyperaccumulator and non accumulator *Thlaspi* species in response to growth on a zinc-deficient calcareous soil. *Plant Science*, vol 164, Iss. 6, 2003: 1095

-
- [12] Boominathan R., Doran P.M.: Cadmium tolerance and antioxidative defenses in hairy roots of the cadmium hyperaccumulator, *Thlaspi caerulescens*. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol.83, Iss.2, 2003:158
- [13] Wenzel W.W., Jockwer F.: Accumulation of heavy metals in plants grown on mineralised soils of the Austrian Alps. *Environmental Pollution*, Vol 104, Iss.1, 1999: 145
- [14] Anderson C.W.N., Brooks R.R., Chiarucci A., Lacoste C.J., Leblanc M., Rpbinson B.H., Simcok R., Stewart R.B.: Phytomining for nickel, thalium and gold. *Journal of Geochemical Exploration*, Vol.67, Iss. 1-3, 1999: 407
- [15] Vaněk T., Soudek P., Tykva R., Kališová I.: Možnosti využití fytořemediace pro odstranění kontaminace způsobené toxickými kovy a radionuklidy.
http://www.diamo.cz/hpvt/2002/sekce/zahlazovani/Z07/P_07.htm ze dne 18. 1. 2008
- [16] Eapen S., Suseelan K.N., Tivarekar S., Kotwal S.A., Mitra R.: Potential for rhizofiltration of uranium using hairy root cultures of *Brassica juncea* and *Chenopodium amaranticolor*. *Environmental Research*, Vol.91, 2003: 127
- [17] Cunningham S., Berti W.R., Huang J.W.: Phytoremediation of contaminated soils. *Tibtech*, Vol.13, 1995: 393
- [18] Soudek P.: Přednáška "Fytořemediace" pro bakalářské studium "Chemie životního prostředí" PŘF UK. <http://www.ueb.cas.cz> ze dne 20. 2. 2008
- [19] Schnoor J.L.: Phytoremediation. Technology Evaluation Report TE-98-01. Prepared for Ground-Water Remediation Technology Analysis Center, 1998
- [20] Anderson T.A., Guthrie E.A., Walton B.T.: Bioremediation. *Environ Dci Technolpgy*, Vol.27, 1993: 2630-2636
- [21] Davis L.C., Ericson L.E.: Phitovolatilization of volatile contaminants. Department of Biochemistry, Chemistry and Biochemistry Hall, Kansas State University, Manhattan. Department of Chemical Engineering, Durland Hall, Kansas State University, Manhattan
<http://www.ecc.ksu.edu/hsrc/ag/2002/abstracts/25Davis.pdf> ze dne 20. 3. 2008
- [22] Rugh C.L., Wilde Stack N.M., Thomson D.M., Summers A.O., Meagner R.B.: Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arbidopsis thaliana* plants expressing modified bacterial merA gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol.93, 1996: 3182-3187
- [23] Pilon-Smits E., Pilon M.: Breeding mercury-breathing plants for environmental cleanup. *Trends in plant science*, Vol.5, Iss.6, 2000: 235

-
- [24] Morgenstern K.: Plant profile – Corn, 2007 <http://www.sacredearth.com> ze dne 16. 2. 2008
- [25] Multimediální učební texty pícninářství: Ústav výživy zvířat a pícninářství MZLU v Brně. <http://www.af.mendelu.cz> ze dne 15.1.2008
- [26] Luo Ch., Shen Z., Li X.: Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59, 2005: 1–11
- [27] Chiu K K., Ye Z H., Wong M H.: Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanioides* and *Zea mays* using chelating agents. *Chemosphere* 60, 2005: 1365–1375
- [28] Cockerman L.G., Shane B.S., Basic Environmental Toxicology. Lewis Publishers 1994
- [29] Hawkes Stehen J.: What is a „Heavy metal“ ? *Journal of Chemical Education* 74, Vol.11, 1997: 1374
- [30] Adriano D.C., Bolan N.S., Vangronsveld J., Wenzel W.W.: Heavy Metals. *Encyclopedia of Soils in the Environment* (D.Hillel.,ed.), Elsevier Academic Press. 2002: 175-182
- [31] Kafka Z., Punčochářová J.: Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy* 96, 2002: 611-617
- [32] Pitter P.: *Hydruchemie*, 1999
- [33] Integrovaný registr znečišťování <http://www.irz.cz> ze dne 21. 1. 2008
- [34] Státní zdravotní ústav <http://www.szu.cz/> ze dne 21. 1. 2008
- [35] Eurochem, databáze chemických látek <http://www.eurochem.cz> ze dne 7. 2. 2008
- [36] Dastych M.: Oddělení klinické biochemie Fakultní nemocnice Brno. Selen - esenciální stopový prvek <http://www.roche-diagnostics.cz> ze dne 25. 2. 2008
- [37] Environmentální zátěže ve správě DIAMO, s. p., Stráž pod Ralskem. Informační materiál. 2006: 54
- [38] Bílek j.: Báňskohistorický výzkum kutnohorského revíru. 1976: 152
- [39] Bendl J., Černohorský T., Dočkal B., Janoš P., Kanický V., Otruba V., Plško E., Toman J.: *Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*. Spektroskopická společnost Jana Marca Marci a Katedra analytické chemie Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně, 1997
- [40] Černohorský T., Jandera P.: *Atomová spektroskopie*. 1 vydání, Univerzita Pardubice. 1997
-

-
- [41] Fišerová K.: Testy toxicity fytořemediovaných půd. Diplomová práce, VŠCHT, 2007: 38
- [42] Barazani O., Dudai N., Khadka U., Golan-Goldhirsh A.: Cadmium accumulation in *Allium shoenoprasum* L. grown in an aqueous medium. *Chemosphere* 57, 2004: 1213
- [43] Katrušáková A., Diplomová práce, VŠCHT, 2007