

Technika DGT jako substituent biomonitorů pro predikci dostupnosti kovů v půdách

HANA DOČEKALOVÁ¹, PETR ŠKARPA¹ a BOHUMIL DOČEKAL²

¹Agronomická fakulta, Mendelova Univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, CZ-613 00 Brno

²Ústav analytické chemie AVČR, v. v. i., Veveří 97, CZ-602 00 Brno, Česká republika

DGT as a surrogate of biomonitors for predicting the bioaccessibility of metals in soils

The aim of this study was to assess the copper uptake of radish (*Raphanus sativus*) and to test the capability of DGT to predict bioaccessibility of the metals for this plant. Radish was grown in pots filled with control-uncontaminated and artificially contaminated soils differing by copper content. Copper concentrations in plant measured after mineralization procedure using apparatus APION were compared with the soil metal concentrations obtained by common leaching procedures 2M HNO₃ and 0.1M NaNO₃, and free ion metal concentrations in soil pore water, as well as the effective concentration measured by DGT.

Key words: radish (*Raphanus sativus*), bioaccessibility, copper, DGT technique, extraction procedures

Úvod

Akumulace těžkých kovů, které se do životního prostředí dostávají lidskou činností (Ferusson, 1990; Yanai et al., 2006; Boughriet et al., 2007), má v rozsáhlých plochách zemědělské půdy negativní vliv na půdní ekosystémy. Kovy mohou ovlivňovat růst rostlin, mikrobiální společenstva, půdní faunu a úrodnost půd. Aby bylo možné odhadnout účinky a rizika spojená se zvýšenou koncentrací kovů v půdním systému, je nutné určit tzv. biodostupnou frakci kovu, což je taková forma kovu, která je mobilní, tvoří labilní komplexy, jednoduše vstupuje do rostlin a následně do potravních řetězců a ovlivňuje tak zdraví organismů i člověka. Biodostupnost je ovlivňována složitým systémem chemických a biologických procesů a jejich vzájemnými interakcemi. Závisí na druhu a vlastnostech rostliny (fyziologie, morfologie, ekologie a pod.), vlastnostech půdy (forma kontaminujícího kovu, acidita půdy, redoxní potenciál, zrnitost, vlhkost, obsah organické hmoty, minerální složení) i na externích faktorech jako jsou klimatické podmínky a způsob obdělávání půdy. Všechny frakce z celkového obsahu kovů nejsou dostupné rostlinám a půdním organismům (Tessier a Turner, 1995). Proto klasická totální minerální analýza nemůže poskytnout žádnou informaci o biochemické aktivitě těžkých kovů a musí být nahrazena metodami stanovení biodostupné frakce. Většinou jsou k odhadu biodostupné frakce využívány chemické metody.

V minulosti bylo vyvinuto mnoho extrakčních postupů, které používají série činidel pro rozdělení jednotlivých frakcí kovů (Tessier et al., 1979; Ure et al., 1993; Gupta a Aten, 1993). Extrakce vodou či roztoky slabých solí (0,1M NaNO₃ nebo 0,01M CaCl₂) poskytují lepší korelace s frakcemi kovů dostupnými rostlinám než silné kyseliny a silná komplexující

činidla, která jsou spíše používány pro stanovení celkových koncentrací (Koster et al., 2005; Aten a Gupta, 1996). Extrakce dusičnanem sodným je běžně používána pro stanovení biodostupného podílu kovů v půdách (Gupta a Aten, 1993). Nicméně, žádný z používaných extrakčních postupů neposkytuje informaci o frakcích skutečně dostupných rostlinám, mikroorganismům a půdní fauně. Informují pouze o tzv. potenciálně dostupných frakcích, které mohou být uvolněny z pevné fáze půdy při fyzikálně chemických změnách systému, jako je salinita, pH, redoxní potenciál, koncentrace chelatačních ligandů ap.

Vedle extrakčních postupů je k odhadu biodostupnosti kovů analyzován také půdní roztok. Za biodostupné jsou považovány „labilní formy“ kovů, které jsou rozpuštěny v půdním roztoku a jsou v rovnováze s pevnou fází půdy. Je ovšem známo, že prvky vázané v pevné fázi půdy mohou být uvolněny vlivem aktivity mikroorganismů nebo kořenů rostlin, které do svého okolí vylučují sloučeniny, které tvoří s kovy komplexy, nebo lokálně změni pH, redoxní potenciál a změni tak pevnost vazby kovu na pevnou fází půdy.

Biologické metody používají k odhadu biodostupnosti určité druhy rostlin jako jsou mechy, lišejníky, vodní mechy, řasy, houby, ale i vyšší rostliny a živočichy, kteří kovy přijímají z prostředí a hromadí ve svých tělech, aniž by došlo k jejich viditelnému poškození a jejich příjem souvisí s koncentrací v okolním prostředí (Gerhardt et al., 2007; Rhea et al., 2006; Fialkowski et al., 2003; Smolders et al., 2002; Carru et al., 1996). I když použití živých organismů má dnes již širokou historii, má i řadu omezení. Biodostupnost takto získaná je vždy specifická pouze pro danou situaci, je závislá na vlastnostech matrice, látky i organismu.

Vzhledem k limitům všech používaných postupů jsou hledány a vyvíjeny nové techniky, které by byly schopny

lépe, věrohodněji a pokud možno jednoduše určit biodostupné formy kovů v půdě. Mezi nové nástroje pro odhad dostupnosti kovů v půdách patří technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT), která měří koncentrace labilních forem iontů kovů ve vodách *in situ* a také hmotnostní toky iontů kovů v půdách a pórových vodách sedimentů (Davison a Zhang, 1994; Zhang a Davison, 1995; Zhang et al., 1998; Harper et al., 1998).

Pasivní vzorkovače DGT jsou aplikovány *in situ* a technika nevyžaduje odběr vzorků, čímž jsou vzorky chráněny před eventuálními změnami forem kovů způsobenými oxidací vzdušným kyslíkem či změnou redoxních podmínek. Svým aktivním, nedestruktivním způsobem vzorkování vypovídá o podílu kovu dostupného pro kořenový systém rostlin. Technika DGT pracuje s dvěma vrstvami hydrogelu. V první vrstvě hydrogelu je zakotven iontoměnič, nejčastěji Chelex-100, který akumuluje labilní formy kovů. Transport kovů do vzorkovače DGT je řízen koncentračním gradientem ve druhé vrstvě difúzního gelu definované tloušťky (Zhang a Davison, 1995).

Cílem práce bylo porovnání příjmu mědi ředkví setou (*Raphanus sativus* L.) pěstovanou na půdách s různým obsahem mědi s hodnotami mědi v půdě zjištěnými technikou DGT, z koncentrace v půdním roztoku a koncentracemi získanými pomocí extrakčních postupů.

Metodika

Vzorky půd

Na pozemku školního zemědělského podniku Žabčice spravovaného Mendelovou univerzitou v Brně situovaného 25 km jižně od Brna bylo na podzim 2010 odebráno 200 kg půdy z hloubky 0 – 20 cm. Půdy v katastru pracoviště jsou neutrální až slabě kyselé (pH 6,9 – 7,4) s nedostatkem humusu. Odebraná půda byla zbavena větších nečistot na vzduchu usušena, homogenizována a použita pro biologické a chemické experimenty.

Experiment s ředkví setou

Suchá homogenizovaná půda byla obohacena roztokem chloridu měďnatého o 100 mg Cu · kg⁻¹ (půda A) a 200 mg Cu · kg⁻¹ (půda B), zvlhčena na hodnotu odpovídající 50 % maximální vodní kapacity (WHC), což odpovídalo 24, 9 ± 1,1 hmot. %. Obohacená a neobohacená půda byla nadávkována do Mitscherlichových vegetačních nádob (6 kg do každé nádoby, z každé koncentrace 8 replik) a nechána ekvilibrovat po dobu tří měsíců. Půda z poloviny nádob byla použita k analýze a polovina byla v dubnu 2011 oseta semeny ředkve seté (5 semen/nádoba). Rostliny rostly 6 týdnů za udržování půdní vlhkosti 50 % WHC bez hnojení. Po sklizni byly rostliny zváženy, usušeny při teplotě 105 °C a následně mineralizovány při 380 °C v oxidační atmosféře kyslíku, ozonu a oxidů dusíku v zařízení APION (Tessek, CZ). Popel byl rozpuštěn ve zředěné kyselině dusičné a koncentrace mědi stanovena atomovou absorpční spektrometrií (ET AAS, Perkin Elmer AAnalyst 600 Zeeman).

Z každé nádoby byly před a po sklizni odebrány dva vzorky a z každého typu půdy byl vytvořen směsný vzorek pro následné extrakční postupy a DGT experimenty.

Extrakce půdního vzorku kyselinou dusičnou

Podíly vzorků o hmotnosti 10 g byly třepány v extrakčních polyethylenových nádobkách po dobu 16 hod. se 100 ml 2 mol · l⁻¹ kyseliny dusičné při laboratorní teplotě. Extrakt byl přefiltrován přes celulózový filtrační papír 589/5 do polyethylenových nádobek.

Extrakce půdního vzorku dusičnanem sodným

Výluh v dusičnanu sodném je využíván pro stanovení biologicky významných koncentrací těžkých kovů v půdách. Podíly vzorků o hmotnosti 4 g byly po dobu 16 hod. třepány v extrakčních polypropylenových nádobkách při laboratorní teplotě s 10 ml 0,1 mol · l⁻¹ NaNO₃. Po centrifugaci při 3 000 ot. /min. po dobu 10 min. byl supernatant přefiltrován přes celulózový filtrační papír 589/5. Filtrát byl jímán do polypropylenové nádoby a pro stabilizaci okyselen 50 µl koncentrované kyseliny dusičné.

Současně byly provedeny DGT experimenty v suspenzích připravených z neosetých a osetých nádob.

DGT experimenty

Vliv doby expozice jednotek DGT na množství zachyceného kovu

Gely a vzorkovací jednotky DGT byly připraveny dle konvenčních postupů (Zhang a Davison, 1995). 75 g směsného vzorku každého typu neoseté a oseté půdy bylo naváženo do 8 plastických nádobek, zvlhčeno destilovanou vodou do saturace (0,25 ml · l⁻¹) a ponecháno 24 hod. ekvilibrovat. Do každé nádoby byly při 25 °C vloženy tři DGT jednotky. Po 6, 12, 24, 30, 48, 72 a 96 hodinách byly vyjmuty, opláchnuty, otevřeny a sorpční gel byl eluován 1 ml 1M HNO₃. Po vyjmutí DGT vzorkovačů byl získán půdní roztok centrifugací půdy a filtrací získaného roztoku přes membránový filtr (45 µm). Obsahy mědi v eluátu a půdním roztoku byly měřeny ET AAS a použity k výpočtu poměru $R = C_{DGT}/C_{sol}$.

Vliv tloušťky difúzního gelu na množství zachyceného kovu

K vytvoření různých difúzních gradientů byly použity DGT jednotky s různou tloušťkou difúzních gelů, které simulovaly různý „požadavek“ na doplňování kovu z pevné fáze do půdního roztoku. Tři DGT jednotky naplněné difúzními gely o rostoucí tloušťce (0,048, 0,08 a 0,128 cm) byly vloženy do suspenzí připravených z původní a obohacených půd na dobu 24 hodin. Po uplynutí experimentu byl sorpční gel vyňat a po eluci 1M HNO₃ byl v eluátu změřen obsah mědi ET AAS.

Výsledky a diskuze

Extrakční postupy

Obsahy mědi nalezené v půdních vzorcích extrakcí 2M HNO₃, 0,1M NaNO₃, spolu s obsahem vypočítaným z půdního roztoku a změřené pomocí DGT jsou shrnuty

Tab. 1

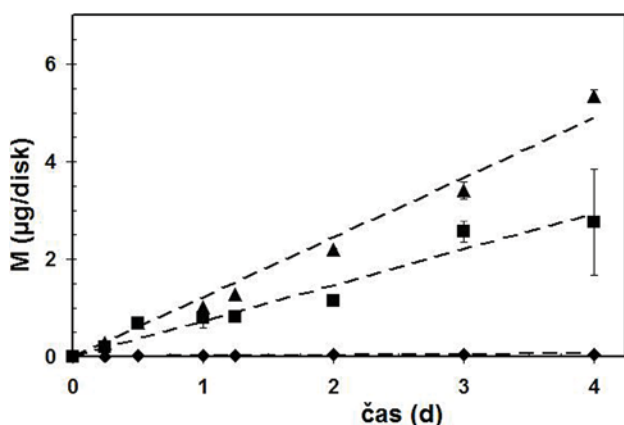
Obsah mědi v půdních vzorcích stanovených extrakcí 2M HNO₃, 0,1M NaNO₃, vypočítaný z obsahu mědi v půdním roztoku a z měření DGT
Copper content in soil samples determined by extraction procedures with 2M HNO₃, 0.1M NaNO₃, evaluated from copper content in soil solution and DGT measurement

Půdní vzorek	2M HNO ₃ mgCu · kg ⁻¹	0,1M NaNO ₃ mgCu · kg ⁻¹	Půdní roztok mgCu · kg ⁻¹	DGT mgCu · kg ⁻¹
Kontrolní půda	6,8 ± 0,5	0,011 ± 0,002	0,008 ± 0,001	0,003 ± 0,001
Půda A	124 ± 11	0,115 ± 0,011	0,076 ± 0,019	0,032 ± 0,003
Půda B	225 ± 19	0,259 ± 0,039	0,100 ± 0,006	0,051 ± 0,003

v tab. 1. Ve všech případech obsahy kovů zjištěné jednotlivými extrakčními činidly klesají v pořadí 2M HNO₃ > 0,1M NaNO₃ > půdní roztok > DGT. Kvazitotální obsah mědi stanovený extrakcí kyselinou dusičnou odpovídá přidanému množství mědi ve formě chloridu měďnatého, což potvrdilo správnost a reprodukovatelnost obohacovacího procesu. Obsah mědi získaný extrakcí dusičnanem sodným dosahuje pouze cca 0,1 % kvazitotálního obsahu. Svědčí to o silné vazbě přirozené i přidané mědi na půdní matici. Koncentrace mědi zjištěná z půdního roztoku nejlépe koreluje s obsahem tohoto kovu zjištěného extrakcí dusičnanem sodným ($R^2 = 0,99$). Hodnoty obsahu mědi zjištěné před a po výsevu ředkve pro jednotlivá činidla se významně nelišila. Ředkev během svého růstu přijímala z půdy do svých tkání určité množství mědi, to však neovlivnilo její obsah v půdě.

Experiment s ředkví setou

Hmotnosti rostlin ředkve seté na všech třech půdách se statisticky vzájemně nelišily, což znamená, že přídavek chloridu měďnatého do půdy neovlivnil růst rostliny. Hmotnost jedné rostliny byla $7,30 \pm 1,81$ g. Z naměřených hodnot byl spočítán průměrný tok mědi do rostliny vyjádřený jako $\mu\text{g Cu}$ vstupující do ředkvičky za den, který byl korelován s tokem mědi do jednotky DGT.



Obr. 1. Závislost navázaného množství mědi na disku DGT jednotky v závislosti na době expozice pro osetou půdu. ♦ kontrolní půda; ■ půda A, obohacená 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ půda B, obohacená 200 mg Cu · kg⁻¹.

Fig. 1. Measured mass of copper in the DGT disc for different times for sown soil. ♦ control soil sample; ■ soil A, enriched with 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ soil B, enriched with 200 mg Cu · kg⁻¹.

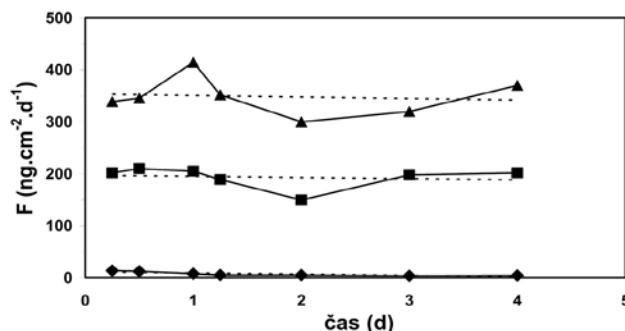
DGT experimenty

Vliv doby expozice jednotek DGT na množství zachyceného kovu

Závislost množství mědi vázané v sorpčním gelu M (ng/jednotka DGT) na době expozice t byla sledována v časovém intervalu 0 až 96 hodin pro jednotlivé půdní vzorky (kontrolní půda osetá/neosetá, půda A osetá/neosetá, půda B osetá/neosetá). Množství měďnatých iontů navázaných v sorpčním gelu vzrůstá úměrně s dobou expozice, viz obr. 1. Tento lineární průběh závislosti ukazuje, že koncentrace měďnatých iontů v půdním roztoku a na rozhraní vzorkovací jednotky a půdního systému je konstantní. Na obr. 2 je graficky znázorněna závislost toku mědi do jednotky DGT pro osetou původní a obohacenou půdu.

Z časových závislostí též vyplývá, že v obou typech půd (oseté i neoseté) u vzorků půd s přídavkem mědi byl tok iontů v rámci statistických chyb měření nezávislý na čase t (až do 96 hod.), kromě kontrolní půdy, která má malou zásobu uvolnitelné mědi a hmotnostní tok iontů po 12 h klesá z hodnoty $12 - 14 \text{ ng} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ na $5 - 7 \text{ ng} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$. Naopak zásoba uvolnitelné mědi u obohacených půd je proporcionální přídavku (100 a $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a tyto půdy jsou schopny v rozsahu čtyř dnů dodávat měď do půdního roztoku plynule při zatížení daném sondou DGT. Toky Cu činí pro přídavky 0 , 100 a $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v oseté půdě $6 - 7$, 190 a $349 \text{ ng/cm}^2 \cdot \text{d}$, v neoseté 5 , 149 a $350 \text{ ng/cm}^2 \cdot \text{d}$.

S ohledem na lineární průběh závislosti se lze domnívat, že hmotnostní tok iontů je ovlivňován komplexními rovnováhami a jejich kinetikou, jak v homogenní fázi



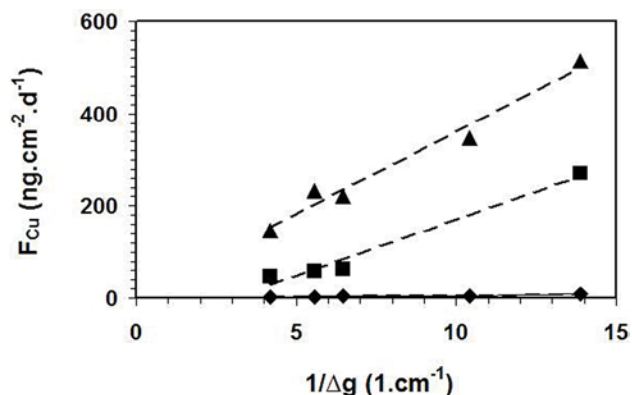
Obr. 2. Závislost toku mědi do DGT jednotky v závislosti na době expozice pro osetou půdu. ♦ kontrolní půda; ■ půda A, obohacená 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ půda B, obohacená 200 mg Cu · kg⁻¹.

Fig. 2. Measured flux of copper into the DGT disc for sown soil. ♦ control soil sample; ■ soil A, enriched with 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ soil B, enriched with 200 mg Cu · kg⁻¹.

půdního roztoku, tak v heterogenním systému pevná fáze/ půdní roztok.

Vliv tloušťky difúzního gelu na množství zachyceného kovu

Závislost toku mědi do jednotky DGT na reciproké hodnotě tloušťky difúzní vrstvy $F = f(1/\Delta g)$ je lineární pro všechny tři půdní varianty (obr. 3), což svědčí o tom, že při 24 hodinové expozici jsou ionty mědi uvolňovány z pevné fáze do půdního roztoku velkou rychlostí a stačí doplňovat úbytek odebraný jednotkou DGT, tak, že koncentrace iontů v půdním roztoku v blízkosti vzorkovací jednotky DGT je konstantní.



Obr. 3. Závislost toku mědi do DGT jednotky v závislosti na reciproké tloušťce difúzní vrstvy $1/\Delta g$ pro osetou půdu. ◆ kontrolní půda; ■ půda A, obohacená 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ půda B, obohacená 200 mg Cu · kg⁻¹.

Fig. 3. Measured mass of copper in the DGT disc as an inverse function of the diffusion layer thickness $1/\Delta g$ for sown soil. ◆ control soil sample; ■ soil A, enriched with 100 mg Cu · kg⁻¹; ▲ soil B, enriched with 200 mg Cu · kg⁻¹.

Mobilita a doplňování iontů kovů z pevné fáze do půdního roztoku

Dostupnost kovů rostlinám je určena nejen jejich koncentrací v půdním roztoku, ale i jejich mobilitou a kinetikou uvolňování z pevné fáze do půdního roztoku, které je vyvoláno lokálním snížením koncentrace v blízkosti kořenů rostliny nebo DGT jednotky.

Poměr R , který vyjadřuje podíl koncentrace v půdě změřené DGT technikou, c_{DGT} , a jinou nezávislou analytickou metodou, c_{sol} ,

$$R = c_{DGT}/c_{sol}; 0 < R < 1$$

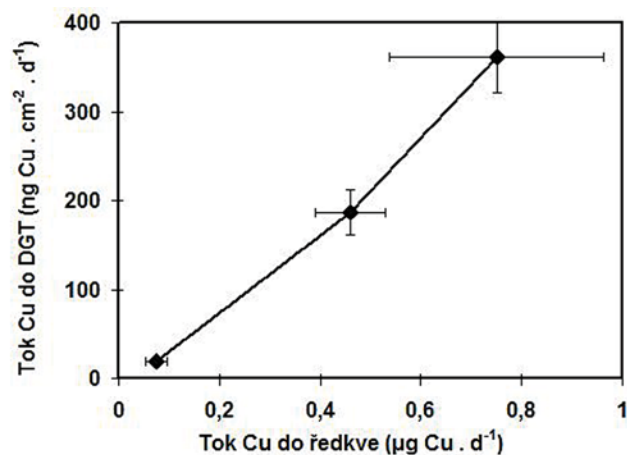
reprezentuje schopnost a kapacitu půdy doplňovat toto snížení koncentrace a kinetiku doplňování. Poměr R blízký jedné značí rychlé a dostatečné doplňování kovu z pevné

fáze do půdního roztoku, reprezentuje frakce mobilní a labilní. Poměr R blízký nule vypovídá o nedostatečném, či žádném doplňování kovů z pevné fáze a o snižování koncentrace kovu v blízkosti DGT jednotky s časem.

Hodnoty poměru R jsou shrnuty pro všechny tři typy půd v tab. 2. Je vidět, že měď přidaná ve formě chloridu měďnatého vykazuje i po třech měsících ekvilibrace jiné chování, je uvolňována větší rychlostí než měď obsažená v přirozených formách v neobohacené půdě. Rozdílná dostupnost mědi přírodní a přidané souvisí s charakterem a složením půdy a jejím zatížením mědí.

Vzájemné porovnání jednotlivých postupů

Koncentrace mědi ve všech variantách půdních vzorků získané technikou DGT byly porovnávány s výsledky získanými pomocí extrakčních postupů a s koncentrací mědi v půdním roztoku. Vysoké hodnoty korelačních koeficientů ($R^2 > 0,95$) byly nalezeny mezi obsahem mědi v rostlinách ředkve seté a obsahem mědi v půdě stanoveným z analýzy půdního roztoku a mezi obsahem mědi v rostlinách ředkve a obsahem mědi v půdě změřené technikou DGT. Na obr. 4 je znázorněna korelace toku mědi do rostliny s tokem mědi do jednotky DGT.



Obr. 4. Tok mědi do DGT a tok mědi do rostliny ředkve seté.

Fig. 4. The copper flux into the DGT disc and into the radish plant.

Závěr

Pro odhad celkového obsahu, biodostupnosti a mobility mědi v odebraném půdním vzorku byly použity extrakce kyselinou dusičnou a dusičnanem sodným. Současně byl analyzován odebraný půdní roztok a do připravených suspenzí půd byly aplikovány jednotky DGT za různých experimentálních podmínek. Množství mědi zjištěné ve vyluzích kyseliny dusičné dokazuje, že půdní vzorky byly obohaceny v požadovaném množství 100 a 200 mg · kg⁻¹ mědi.

Experimenty s DGT ukázaly, že obohacená půda je schopna stálou rychlostí doplňovat úbytek mědi v půdním roztoku odčerpaný jednotkou DGT, zatímco rychlost doplňování u kontrolní neobohacené půdy po 24 hodinách klesá. Přidaná měď se tedy chová jinak než přirozená.

Tab. 2
Hodnoty poměru R pro všechny tři typy půd
R-value for all types of soil samples

Půdní vzorek	C_{sol} (ng · ml ⁻¹)	C_{DGT} (ng · ml ⁻¹)	Poměr R $R = C_{DGT}/C_{sol}$
Kontrolní půda	13 ± 3	1,4 ± 0,6	0,11 ± 0,04
Půda A	127 ± 12	45 ± 14	0,32 ± 0,11
Půda B	202 ± 13	64 ± 7	0,32 ± 0,04

Vysoké hodnoty korelačních koeficientů ($R^2 > 0,95$) byly nalezeny mezi obsahem mědi v rostlinách ředkve seté a obsahem mědi v půdě stanoveným extrakcí dusičnanem sodným a obsahem mědi zjištěným z analýzy půdního roztoku a mezi obsahem mědi v rostlinách ředkve a obsahem mědi v půdě změřené technikou DGT. Obsah mědi v půdě zjištěný pomocí dusičnanu sodného je v průměru dvakrát vyšší než obsah zjištěný z půdního roztoku. Obsah spočítaný z DGT měření je zhruba poloviční, než poskytuje půdní roztok. Lze vyvodit, že půdní roztok obsahuje některé specíe, které jsou DGT neměřitelné.

Koncentrace mědi stanovená DGT technikou je v porovnání s výsledky získanými extrakčními postupy a analýzou půdního roztoku blíže ke skutečnému obsahu biodostupných forem kovů přítomných v půdě a prokazatelně koreluje s obsahem mědi v těle rostliny ředkve seté.

Lze se tak domnívat, že koncentrace mědi změřená technikou DGT odpovídá lépe skutečnému obsahu biodostupných forem mědi v půdě než hodnoty získané běžně používanými extrakčními postupy.

Techniku DGT lze tedy doporučit jako techniku vhodnou pro stanovení biodostupných forem mědi, což lze podpořit vysokým korelačním koeficientem ($R^2 > 0,98$) mezi obsahem mědi v ředkvi a obsahem mědi v půdách stanoveným technikou DGT. Technika DGT je v současné době jediná technika, která *in situ* simuluje kořenový systém rostlin.

Práce byla podpořena Grantovou agenturou ČR, Projekt č. P503/10/2002.

References

- ATEN, C. & GUPTA, S. K., 1996: On heavy metals in soil; Rationalization of extractions by dilute salt solutions, comparison of the extracted concentrations with uptake by ryegrass and lettuce, and the possible influence of pyrophosphate on plant uptake. *Sci. Total Environ.*, 178, 45 – 53.
- BOUGHRIET, A., PROIX, N., BILLON, G., RECOURT, P. & OUDDANE, B., 2007: Environmental impacts of heavy metal discharges from a smelter in Deule-canal sediments (Northern France): Concentration levels and chemical fractionation. *Environ. chem.*, 4, 114 – 122.
- CARRU, A. M., TEIL, M. J., BLANCHARD, M., CHEVREUIL, M. & CHESTERIKOFF, A., 1996: Evaluation of the roach (*Rutilus rutilus*) and the perch (*Perca fluviatilis*) for the biomonitoring of metal pollution. *J. Environ. Sci. Heal.*, 31, 5, 1 149 – 1 158.
- DAVISON, W. & ZHANG, H., 1994: In situ speciation measurements of trace components in natural-waters using thin-film gels. *Nature*, 367, 546 – 548.
- FIALKOWSKI, W., FIALKOWSKA, E., SMITH, B. D. & RAINBOW, P. S., 2003: Biomonitoring survey of trace metal pollution in streams of a catchment draining a zinc and lead mining area of Upper Silesia, Poland, using the amphipod *Gammarus fossarum*. *Int. Rev. Hydrobiol.*, 88, 2, 187 – 200.
- FERUSSON, J. E., 1990: Chemistry of environmental impact and health effect. The heavy elements. *Pergamon Press, Oxford*, 156 p.
- GERHARDT, A., KIENLE, C., ALLAN, I. J., GREENWOOD, R., GUIGUES, N., FOUILLAC, A. M., MILLS, G. A. & GONZALEZ, C., 2007: Biomonitoring with *Gammarus pulex* at the Meuse (NL), Aller (GER) and Rhine (F) rivers with the online Multispecies Freshwater Biomonitor. *J. Environ. Monitor.*, 9, 9, 979 – 985.
- GUPTA, S. K. & ATEN, C., 1993: Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in simple-model to predict the biological relevance of heavy-metal concentrations in contaminated soils. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 25 – 46.
- HARPER, M. P., DAVISON, W., ZHANG, H. & TYCH, W., 1998: Kinetics of metal exchange between solids and solutions in sediments and soils interpreted from DGT measured fluxes. *Geochim. cosmochim. Acta*, 62, 2 757 – 2 770.
- RHEA, D. T., HARPER, D. D., FARAG, A. M. & BRUMBAUGH, W. G., 2006: Biomonitoring in the Boulder River watershed, Montana, USA: Metal concentrations in biofilm and macroinvertebrates, and relations with macroinvertebrate assemblage. *Environ. Monit. Assess.*, 115 (1 – 3), 381 – 393.
- SMOLDERS, R., BERVOETS, L. & BLUST, R., 2002: Transplanted zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as active biomonitors in an effluent-dominated river. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21, 9, 1 889 – 1 896.
- TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C. & BISSON, M., 1979: Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace-metals. *Anal. Chem.*, 51, 844 – 851.
- TESSIER, A. & TURNER, D. R., 1995: Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. *Wiley, New York*, 254 p.
- URE, A. M., QUEVAUVILLER, P. H., MUNTAU, H. & GRIEPIE, B., 1993: Speciation of heavy metals in soils and sediments: An account of the improvement and harmonization of extraction technique undertaken under the auspices of the BCR of the Commission-of-the-European-Communities. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 51, 135 – 151.
- YANAI, J., ZHAO, F. J., MCGRATH, S. P. & KOSAKI, T., 2006: Effect of soil characteristics on Cd uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Environ. Pollut.*, 139, 167 – 175.
- ZHANG, H. & DAVISON, W., 1995: Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.*, 67, 3 391 – 3 400.
- ZHANG, H., DAVISON, W. & KNIGHT, B., 1998: *In situ* measurements of solution concentrations and fluxes of trace metals in soils using DGT. *Environmental Science & Technology*, 32, 704 – 710.

Článek nebol jazykovo upravený.

Rukopis doručení 10. 9. 2013

Revidovaná verzia doručená 11. 10. 2013

Rukopis akceptovaný red. radou 30. 10. 2013

DGT as a surrogate of biomonitors for predicting the bioaccessibility of metals in soils

Bioaccessible metal forms could be transported from the soil to the plants and consequently to the food chain. Some of them may be toxic to plants, animals and in final step may affect the human health. The methods

for assessment of bioaccessible metals and the mobile part of metals in a soil solid phase are still searched and developed intensively. The DGT technique proved to be such suitable method.

The relationship between concentration of copper measured by DGT technique and their elevated levels in radish plant was investigated to confirm the capability of DGT to predict copper uptake by plants at varying copper supply. The amount of copper uptake to plant tissue was correlated with the DGT recovered fluxes, with copper concentrations in soil solution and with those obtained by leaching procedures.

The DGT-estimated copper concentration was expected to be closer to the actual content of bioaccessible metal

species than those obtained by extraction procedures and that evaluated from copper content in soil solution. The amount of copper uptake to plant tissue grown on tested none treated and gradually spiked soils significantly correlated with the DGT recovered fluxes ($R^2 > 0.98$).

It was demonstrated that DGT technique can be effectively employed to estimate the bioaccessibility of copper for prediction of biological relevance and can be used as an alternative tool for assessment of bioaccessible metals pool in soil.