

MOBILITA, TRANSFORMACE A ZÁKLADNÍ METODY STANOVENÍ SLOUČENIN ARSENU V PŮDĚ A ROSTLINÁCH

JIŘINA SZÁKOVÁ^a, MARTIN MIHALJEVIČ^b
a PAVEL TLUSTOŠ^a

^a Katedra agrochemie a výživy rostlin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, ^b Ústav geochemie, mineralogie a nerostných zdrojů, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 6, 128 43 Praha 2
szakova@af.czu.cz

Došlo 20.9.05, přepracováno 11.4.06, přijato 22.6.06.

Klíčová slova: arsen, speciace, půda, rostlina, mobilita, příjem, transformace

Obsah

1. Úvod
2. Geochemické, pedologické a biologické aspekty přístupu arsenu a jeho sloučenin pro rostliny
3. Analytické metody stanovení sloučenin arsenu ve vzorcích rostlin a půd
 - 3.1. Příprava vzorků k analýze
 - 3.2. Instrumentální analytické metody stanovení sloučenin arsenu v biologických materiálech
4. Závěr

1. Úvod

Hlavním cílem analytického stanovení rizikových prvků je získání podkladů pro hodnocení vlivu kontaminace na lidskou populaci i další složky životního prostředí, identifikace možných zdrojů znečištění a hledání souvislosti mezi úrovní kontaminace a případným vlivem na zdraví člověka nebo životní prostředí. Je tedy nutno zkoumat a pochopit transportní mechanismy chemických prvků, aby bylo možno pochopit jejich chemický cyklus v biosféře. V biologických systémech jsou však mobilita a transport chemických prvků závislé zejména na chemické formě daného elementu. Stanovení celkového obsahu prvků ve vzorcích není tedy v tomto případě dostačující. Nolan a spol.¹ v této souvislosti zmiňují biopřístupnost prvků, která charakterizuje takový podíl prvku, který je v daném systému biologicky aktivní. U suchozemských rostlin jde např. o takové formy prvku v půdě, které mohou být přijímány kořeny rostlin během vegetačního cyklu a mohou ovlivnit životní cyklus daných rostlin. Distribuci prvku do přesně definovaných specií v daném systému,

což představuje isotopové složení, valenční stav, anorganické sloučeniny a komplexy, organokovové sloučeniny, organické a makromolekulární sloučeniny a distribuci prvku do rozličných chemických a fyzikálních forem, jako je zastoupení podílu volných iontů, komplexů a chelátů daných prvků v roztoku nebo amorfní a krystalické formy těchto prvků v tuhé fázi pak nazýváme specií.

Arsen patří mezi prvky, u kterých je problematika speciace teoreticky i prakticky velmi dobře zpracována². V České republice nepředstavuje problematika kontaminace zemědělské půdy arsenem nejaktuálnější problém, ale je nutno vzít v úvahu vliv spalování hnědého uhlí, které má po celém světě mimořádně vysoké obsahy arsenu³. Dalším problémem pak jsou jednotlivé lokality, kde se nacházejí ložiska barevných a vzácných kovů, které jsou doprovázeny zvýšenými obsahy arsenu. Nejznámější z těchto lokalit je oblast Kutné Hory, kde středověká těžba stříbra zanechala poměrně masivní kontaminaci životního prostředí arsenem. Hlavním zdrojem arsenu je zde arsenopyrit a různé sekundární minerály⁴. Oblast Mokrsko je pak jedním z největších ložisek zlata v oblasti Českého masivu se zásobou zlata, která představuje až 80–100 tun. Ruda obsahuje zvýšená množství arsenu (až 1 %), který je obsažen zejména v arsenopyritu a arsenem bohatém pyritu⁵. Geochemické aspekty případného uvolňování arsenu z arsenových minerálů do vodního prostředí byly již intenzivně studovány⁶. Mobilita arsenu a jeho sloučenin v půdě a jeho biopřístupnost rostlinám však ještě vyžaduje intenzivní výzkum.

2. Geochemické, pedologické a biologické aspekty přístupu arsenu a jeho sloučenin pro rostliny

Arsen patří mezi nejintenzivněji studované rizikové prvky z důvodu jeho toxicity pro člověka i ostatní živočichy. Rovněž fytotoxicita tohoto prvku je známa. Chaney⁷ považuje hladinu As v rostlinách 0,01–1 mg kg⁻¹ za normální a obsahy 3–10 mg kg⁻¹ za fytotoxické. Ze zemědělských plodin jsou na účinky As nejcitlivější luštěniny. Fytotoxicita As se u rostlin projevuje plasmolýzou pletiv kořenů a žloutnutím listů vedoucím až k nekróze špiček a okrajů listů⁸. Po přidavku 100 mg kg⁻¹ arsenu v podobě kyseliny arseničné do půdy se obsah tohoto prvku v zelenině pohyboval v rozmezí od < 0,01 mg kg⁻¹ v kukuřici a zelí do 3,0 mg kg⁻¹ v bramborách⁹. Byl rovněž prokázán vliv zvýšené koncentrace As na snížení absorpce některých mikroprvků jako B, Cu, Mn a Zn rostlinami¹⁰. Porovnání analytických dat popisujících distribuci arsenu v říčních a jezerních sedimentech a v půdách v Kanadě a v USA ukázalo, že variabilita obsahů arsenu v těchto

materiálech je určována především geologickými charakteristikami podloží¹¹. Je ale známo, že arsen se v různých složkách životního prostředí vyskytuje ve velkém počtu anorganických i organických sloučenin, které se od sebe liší chemickými vlastnostmi, toxikologickými charakteristikami, biopřístupností pro rostliny a chováním v systému půda – rostlina. Přehled základních dosud identifikovaných sloučenin arsenu publikovali Francesconi a Kuehnelt².

Hlavními zdroji arsenu v půdě jsou arsenopyrit (FeAsS) a další sulfidy obsahující As jako hlavní nebo stopovou komponentu, např. lölingit (FeAs₂) nebo pyrit (FeS₂) s obsahem arsenu. Po uvolnění ze sulfidů je As(III) oxidován na As(V) a v závislosti na jeho koncentraci mohou sloučeniny arsenu koprecipitovat s nově tvořenými hydro-oxidy železa (HFO) nebo mohou být adsorbovány na povrchu těchto minerálů, popřípadě se mohou zapojit do obou procesů. HFO jsou nejdůležitějšími sorbenty As v půdách, ale svůj význam mají i oxohydroxidy hliníku a jílové minerály^{6,12,13}.

V prostředí s vysokou primární koncentrací As a současně Ba, Ca, Fe, K, Mg a Pb mohou zvětráváním sulfidů vznikat sekundární minerály, zejména arseničnany. Nejčastěji jsou zmiňovány karminit (Pb(Fe³⁺)₂(AsO₄)₂(OH)₂), kaňkit (Fe³⁺)₂(AsO₄) · 3 H₂O), farmakosiderit (K(Fe³⁺)₄(AsO₄)₃(OH)₄ · 6–7 H₂O), pikrofarmakolit (H₂Ca₄Mg(AsO₄)₄ · 11 H₂O), talmesit (Ca₂Mg(AsO₄) · 2 H₂O), tilasit (CaMg(AsO₄)F) a skorodit (FeAsO₄ · 2 H₂O) (cit.^{14,15}). Stupeň oxidace sulfidů závisí na koncentraci kyslíku, počtu iontů železa, teplotě a přítomnosti acidofilních mikroorganismů.

Zemědělství rovněž představuje možné riziko vstupu organických i anorganických sloučenin arsenu do životního prostředí, protože se tyto sloučeniny používají jako pesticidy a též jako přídavky do krmných směsí v drůbežářském průmyslu¹⁶. Tyto přípravky nejsou v Evropě schváleny k používání, ale studium transformací těchto sloučenin a vlivu přídavku těchto sloučenin do půdy na zemědělské plodiny může pomoci objasnit případné nepříznivé dopady jejich aplikace.

Mobilita arsenu v půdě je velmi nízká ve srovnání s mobilnějšími elementy, jako jsou kadmium nebo zinek. Koncentrace výměnně vázaného arsenu stanoveného ve 27 vzorcích kontaminovaných půd se pohybovala v rozmezí 1,2–19 % celkového obsahu¹⁷. V souboru 35 vzorků půd, které se lišily celkovým obsahem arsenu a fyzikálně-chemickými vlastnostmi nepřekročil obsah arsenu extrahovatelný roztokem 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ 1,22 % celkového obsahu tohoto prvku¹⁸. Baroni a spol.¹⁹ stanovili, že vodou extrahovatelné obsahy arsenu v půdách, které obsahovaly 5,3–1226 mg kg⁻¹ celkového arsenu se pohybovaly v rozmezí 0,010–0,040 mg kg⁻¹. Pouze v extrémně kontaminované luční půdě (2035 mg kg⁻¹) dosáhl vodou extrahovatelný obsah arsenu hodnoty 8,48 mg kg⁻¹. Z literatury je známo, že arsen je v půdě přítomen zejména ve formě arseničnanu, ale v redukčních podmínkách se snadno přeměňuje na arsenitan^{20–23}. Pokud hodnota redox potenciálu půdní suspenze poklesla pod 0 mV, pak byl přítomný ar-

sen převážně ve formě As(III). Za oxidačních podmínek byl přítomen As(III) i As(V) (cit.²³). Byla prokázána i přítomnost malého množství metylovaných sloučenin v půdě^{22,24}. Tlustoš a spol.²⁵ našli ve vodním extraktu nekontaminované půdy 91 % arseničnanu, 6 % arsenitanu a 3 % dimethylarsinátu (DMA). V této souvislosti byl diskutován i vliv typu a původu půdy, a také hladiny celkového arsenu v půdě^{26,27}. Byly také popsány rozdílné sorpční charakteristiky jednotlivých sloučenin arsenu v závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech půdy^{28,29}. Chování metylovaných sloučenin arsenu v půdě se liší od anorganických sloučenin tohoto prvku, přičemž zejména adsorpční charakteristiky DMA na oxidy železa (goethit a ferrihydrit) ukázaly nižší schopnost adsorpce této sloučeniny ve srovnání s As(V) a methylarsonátem (MA)³⁰.

Důležitou roli při oxidaci a redukcí arsenu v půdě, sedimentech, čistírenských kalech apod. hraje aktivita mikrobiální biomasy^{31,32}. Půdní bakterie jsou také schopny redukovat arseničnany na arsenitany a poté je metylovat na dimethylarsan. Rovněž houby jsou schopny konvertovat organické i anorganické sloučeniny arsenu na těkavé methylarsany^{33,34}. Metabolická aktivita specifických mikrobiálních populací půdní biomasy hraje významnou roli ve speciální anorganického arsenu v půdním roztoku. V aerobních půdních podmínkách byla v modelovém experimentu pozorována rychlá mikrobiální oxidace arsenitanu na arseničnan; redukce arseničnanu však zaznamenána nebyla³⁵. Možnost ztrát arsenu z půdy tvorbou těkavých arsanů studovali Michalke a spol.³⁶ v průběhu anaerobní inkubace čistírenských kalů a prokázali přítomnost arsenodivíku, methylarsanu, dimethylarsanu a trimethylarsanu. Rovněž studium tvorby těkavých sloučenin arsenu čistými kulturami mikroflory anaerobního čistírenského kalu (*Methanobacterium formicicum*, *Methanosarcina barkeri*, *Methanobacterium thermo-autotrophicum*, *Desulfovibrio vulgaris*, *D. gigas*, a *Clostridium collagenovorans*) prokázalo přítomnost všech výše uvedených sloučenin arsenu a navíc jedné sloučeniny, kterou se nepodařilo identifikovat. Také Abedin a spol.³⁷ popsali významné ztráty arsenu jeho těkáním v podobě metylovaných arsanů v půdním roztoku odebraném v oblasti rhizosféry rostlin rýže. Je tedy zřejmé, že pro detailní popis transformace a imobilizace sloučenin arsenu v půdě je třeba v dalším výzkumu zaměřit pozornost i na tvorbu těkavých sloučenin arsenu během vegetace. Vliv mikrobiální aktivity v půdě na transformaci arseničnanu na arsenitan a na výskyt MA a DMA v kontaminovaných půdách popsal i Pongratz³⁸. Carbonell-Barrachina a spol.³⁹ studovali transformaci arsenu v čistírenských kalech a zjistili, že dominantní podíl mobilního arsenu v tomto materiálu tvořila DMA. Lze tedy potvrdit, že mikrobiální transformace sloučenin arsenu hraje velmi významnou roli ve změnách mobility tohoto prvku v půdě, ale tento problém není ještě dostatečně prozkoumán. Rovněž objasnění účinku půdní organické hmoty a biologických parametrů půdy na transformaci a biopřístupnost arsenu zůstává významným tématem pro další výzkum.

Příjem jednotlivých sloučenin arsenu v půdě rostlinami a jejich fyto toxicitu shrnul Sheppard⁴⁰ a Dembitsky a Řezanka⁴¹. Hlavní roli v tomto případě hrají půdní vlastnosti a zdroj kontaminace arsenem. Ukázalo se např., že anorganické sloučeniny arsenu jsou pětikrát toxicitější na písčité než na jílovitých půdách. Flustoš a spol.⁴² také zaznamenali vyšší fyto toxicitu DMA po experimentálním přidavku této sloučeniny do písčité půdy ve srovnání s půdou hlinitou. V této práci se také anorganické sloučeniny arsenu projeví jako méně toxické ve srovnání s DMA. Důvodem však byla zejména vyšší mobilita DMA v půdě a tedy vyšší podíl biopřístupného arsenu ve srovnání s anorganickými sloučeninami. V hydroponické kultuře byl arsen přijímán kořeny fazolu v pořadí As(V) > As(III) > MA > DMA (cit.⁸). Rovněž u rostlin rýže v kapalně půdní suspenzi se ukázalo, že DMA byl rostlinami méně přijímán ve srovnání s anorganickými sloučeninami arsenu⁴³. Příjem arsenu rostlinami rýže se zvyšoval úměrně se zvyšující se koncentrací As(III) v suspenzi při nízkém redox potenciálu této suspenze. Methylarsonát (MA) pak byl rostlinami rýže přijímán více než anorganické sloučeniny a tento příjem se zvyšoval s klesajícím pH a redox potenciálem suspenze^{23,43}. Jiang a Singh⁴⁴ pěstovali rostliny jílku (*Lolium perenne* L.) a ječmene (*Hordeum vulgare* L.) v hlinité půdě kontaminované arsenem jednak ve formě arsenitanu a jednak ve formě arseničnanu a pozorovali významnější negativní vliv arsenitanu na výnos obou plodin ve srovnání s arseničnanem. Rozdíly v obsazích arsenu v rostlinách po aplikaci arsenitanu a arseničnanu byly ale nevýznamné. Marin a spol.⁴³ rovněž studovali přesun arsenu do jednotlivých částí rostlin rýže pěstované v půdní suspenzi s přidavkem jednotlivých sloučenin arsenu. Bylo zjištěno, že obsahy arsenu v listech se rychleji zvyšovaly po přidavku DMA do půdní suspenze, zatímco přidavek As(III), As(V) a MA do půdní suspenze vedl k vyšším obsahům arsenu v kořenech. Baroni a spol.¹⁹ monitorovali obsahy arsenu v půdě a v 64 vzorcích rostlin v oblasti zasažené důlní činností a ukázali, že obsahy arsenu v rostlinách byly velmi nízké bez ohledu na úroveň kontaminace půdy v daném místě. Pouze ve vzorku máty vodní (*Mentha aquatica* L.) byly stanoveny vyšší obsahy arsenu v nadzemní biomase (216 mg kg⁻¹) a v kořenech (540 mg kg⁻¹) a rovněž v kořenech rákosu obecného (*Phragmites australis* L.), kde bylo nalezeno 688 mg As kg⁻¹. Chang a spol.⁴⁵ zjistili, že tzv. faktory transferu arsenu (dané jako poměr celkového obsahu prvku v rostlině a v půdě) v nadzemních částech 11 druhů rostlin rostoucích na půdě kontaminované odpady z důlní činnosti nepřekročily hodnotu 0,01.

Ve vzorcích extraktu buněk tkáňové kultury barvínku menšího (*Vinca minor* L.) pěstovaného v médiu s přidavkem arseničnanu byly stanoveny obsahy arsenitanu, arseničnanu a též menší podíly MA a DMA (cit.⁴⁶). Tyto výsledky naznačují, že vyšší rostliny jsou schopny methylovat sloučeniny arsenu. Tato skutečnost však není v současné době zcela objasněna a vyžaduje podrobnější zkoumání chování sloučenin arsenu v rhizosféře a v rostlinách. V kořenech ředkvičky (*Raphanus sativus* L.) byl dominantní sloučeninou arsenitan, zatímco arseničnan byl více

zastoupen v listech. Vysoké podíly DMA v rostlinách (17 % v kořenech a 18 % v listech) ve srovnání s půdou, kde bylo více než 90 % arsenu přítomno ve formě arseničnanu, rovněž naznačují schopnost rostlin ředkvičky methylovat sloučeniny arsenu^{25,47}. Výskyt jednotlivých sloučenin arsenu ve vyšších rostlinách a jejich distribuce do vyšších částí těchto rostlin jsou jednoznačně ovlivněny druhem rostliny^{48,49}. Vliv druhu rostliny na výskyt sloučenin arsenu a jejich koncentraci demonstrovali i Geiszinger a spol.⁵⁰. Zatímco v extraktech nadzemní biomasy srhy laločnaté (*Dactylis glomerata* L.) a jitrocelu kopinatého (*Plantago lanceolata* L.) rostoucích v oblasti kontaminované arsenem byly stanoveny převážně anorganické sloučeniny arsenu, v extraktech nadzemní biomasy jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) rostoucího v téže lokalitě byly stanoveny převážně organické sloučeniny arsenu, kdy převažoval MA. V dalších pracích pak byl v různých druzích vyšších rostlin popsán příjem zejména anorganických sloučenin^{51–53}.

Sledování methylace arsenu v rostlinách psinečku tenkého (*Agrostis tenuis* Sibth.) ukázalo, že arseničnan, který byl přidán do kultivačního média, byl přijat kořeny rostlin, přeměněn na arsenitan, a později methylován v listech, kde byla zaznamenána zvýšená aktivita enzymu methyltransferasy⁵³. Abedin a spol.³⁷ naznačili v krátkodobém experimentu s kořeny klíčnic rostlin rýže, že příjem MA a zvláště DMA byl nižší ve srovnání s anorganickými sloučeninami arsenu. Vzhledem k tomu, že pracovali pouze s kořeny rostlin, můžeme o případném přesunu sloučenin arsenu do nadzemní biomasy na základě těchto výsledků jen spekulovat. V nedávné době zkoumali Quaghebeur a Rengel⁵⁴ v nádobovém experimentu přesun arsenu z kořenů do nadzemní biomasy huseníčku Thalova (*Arabidopsis thaliana* L.) a rovněž potvrdili význam arsenitanu v těchto procesech. Distribuce arsenu v jednotlivých částech rostlin je ovlivněna celkovým obsahem arsenu v rostlině a také stavem výživy rostliny. V této souvislosti jsou významné zejména obsahy fosforu, které významně ovlivňují příjem a transformaci jednotlivých sloučenin arsenu^{55,56}. Vysoký podíl DMA v plodech paprik⁵⁷ naznačuje, že vysoký obsah DMA je obvyklý pro rozmnožovací orgány rostlin, ale pro potvrzení této domněnky je třeba mnoha dalších experimentů.

Carbonell-Barrachina a spol.⁵⁸ diskutovali mechanismus tolerance rostlin vůči kontaminaci arsenem a rozlišili: *i*) omezený příjem arsenu kořeny nebo omezený transport tohoto prvku do nadzemní biomasy (odmítání), *ii*) zabudování arsenu do buněčné stěny a buněčných kompartmentů (detoxikace) a *iii*) specifické metabolické pochody (biochemická tolerance). V souvislosti s tímto bodem je v poslední době diskutována možnost tvorby komplexů arsenu s fytochelatinu^{59,60}.

Pro studium pohybu prvků v rhizosféře je vhodné volit takové rostliny, které jsou schopny kumulovat vysoké obsahy prvků, což se snáze projeví významnými změnami v půdním roztoku v oblasti rhizosféry. Arsen však patří mezi prvky, které jsou vyššími rostlinami přijímány jen velmi omezeně. Ma a spol.⁶¹ popsali jako vůbec první kap-

radinu *Pteris vittata*, která je schopná ve své nadzemní biomase akumulovat extrémní koncentrace arsenu (až do 23 g kg^{-1}). V poslední době bylo popsáno i několik dalších druhů kapradin včetně *Pityrogramma calomelanos*⁶², a *Pteris cretica*, *Pteris longifolia* a *Pteris umbrosa*⁶³, které jsou schopné akumulovat arsen v podobných koncentracích jako *Pteris vittata*. Ma a spol.⁶¹ popsali, že arsen je v listech kapradiny *Pteris vittata* zastoupen (ze 47–80 %) právě v anorganické formě. *Pityrogramma calomelanos* je druh kapradiny hojně rostoucí na půdách vysoce kontaminovaných arsenem v oblasti jižního Thajska. Tato rostlina je schopna kumulovat arsen zejména v listech (až $8,4 \text{ g As kg}^{-1}$ sušiny), zatímco oddenky této rostliny obsahovaly pouze 88–310 mg As kg^{-1} sušiny⁶². Z celkového obsahu arsenu v oddencích kapradiny bylo vodou extrahováno přibližně 60 %, přičemž 95 % tohoto podílu bylo přítomno jako arseničnan. Naproti tomu arsen obsažený v listech kapradiny byl vodou extrahovatelný mnohem snadněji (86–93 %) a převládající sloučeninou byl arsenitan (60–72 %). Organické sloučeniny arsenu byly nalezeny jen v některých vzorcích a pouze ve stopových koncentracích. Výsledky naznačují, že *P. calomelanos* je schopna za rok odstranit z půdy až 2 % celkového obsahu arsenu.

Fitz a spol.⁶⁴ pěstovali *P. vittata* v půdě obsahující $2,27 \text{ g As kg}^{-1}$ a obsah arsenu v jednotlivých částech rostliny klesal v pořadí mladé listy > staré listy >> oddenky > kořeny. Během kultivace se zvýšil obsah rozpustných organických sloučenin v půdním roztoku v oblasti rhizosféry o 86 %, což vedlo ke zvýšení rozpustnosti Fe v důsledku vzniku komplexů. Přestože rostliny odebraly z půdy poměrně velké množství arsenu, jeho obsah v půdním roztoku v oblasti rhizosféry po skončení vegetačního období nepoklesl. Důvodem je pravděpodobně vysoká pufrací schopnost půdy a tvorba komplexů s organickými sloučeninami. Metoda postupné extrakce půdy v oblasti rhizosféry a okolní půdy naznačily, že arsen byl přijímán rostlinami zejména z méně mobilních frakcí. Je tedy zřejmé, že *P. vittata* je vhodnou rostlinou pro studium chování arsenu v oblasti rhizosféry, ale v našich podmínkách má jen omezenou možnost uplatnění např. pro fytořediční účely. Rovněž vysoké procento arsenitanu v nadzemní biomase této rostliny není mezi vyššími rostlinami typické.

3. Analytické metody stanovení sloučenin arsenu ve vzorcích rostlin a půd

3.1. Příprava vzorků k analýze

Vzhledem k tomu, že většina instrumentálních analytických technik používaných pro stanovení sloučenin arsenu vyžaduje přípravu roztoku (viz dále), je pro věrohodné stanovení obsahů sloučenin arsenu v rostlinné biomase nezbytné zvolit takový extrakční postup, který uvolní analyty pokud možno kvantitativně a bez jakékoli chemické změny. Byla vyvinuta celá řada extrakčních postupů od extrakce vodou za laboratorní teploty po extrakci vybra-

ným rozpouštědlem za zvýšeného tlaku nebo extrakce za zvýšené teploty s mikrovlnným ohřevem. Výsledky získané takto odlišnými postupy jsou pak jen obtížně porovnatelné. Metody stanovení sloučenin arsenu v suchozemských biologických materiálech jsou mnohem méně propracované než metody extrakce těchto sloučenin ve vzorcích rostlin z vodních ekosystémů. I v tomto případě jsou však výsledky často velmi variabilní. V případě mořské řasy *Hijikia fusiforme* se extrahovatelnost sloučenin arsenu pohybovala od 33 % extrahovatelných směsí methanol-voda (9:1) až do 74 % extrahovatelných $1,5 \text{ mol l}^{-1}$ roztokem kyseliny fosforečné⁶⁵. U sladkovodní řasy *Chlorella vulgaris* se extrahovatelnost pohybovala v rozmezí od 74 % extrahovatelných vodou až do 100 % extrahovatelných směsí methanol-voda, kde podíl methanolu přesahoval 40 obj.%. Fosfátový pufr v koncentraci $0,03 \text{ mol l}^{-1}$ byl schopen vyextrahovat 84 % celkového obsahu arsenu v řase⁶⁶. Extrahovatelnost arsenu z ponořených zelených částí vodních rostlin směsí methanol-voda (9:1) pak nepřesáhla 16,1 % celkového obsahu arsenu⁶⁷.

Při analýzách suchozemských rostlin se ukázalo, že extraktant na bázi směsí methanol-voda je ve většině případů málo účinný. Například extrakce vzorků rýže ukázala účinnost jen 24–36 % (cit.⁶⁸). Podobně nízké extrahovatelné obsahy arsenu stanovili při použití směsí methanol-voda i Bohari a spol.⁶⁹, kteří úspěšně zvýšili účinnost extrakce rostlinného materiálu přidávkem kyseliny fosforečné. Extrakce vzorků broskvových listů však ukázala lepší extrahovatelnost arsenu směsí methanol-voda (3:1) ve srovnání s extrakcí vodou⁷⁰ a podobná situace byla zaznamenána i při analýze vzorků lyofilizovaných jablek⁷¹.

Pro zvýšení účinnosti extrakce se používá např. extrakce za zvýšené teploty s mikrovlnným ohřevem s využitím různých vodních extrakčních činidel jako je voda, 10% $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$ (cit.⁷²), $0,3 \text{ mol l}^{-1}$ kyselina fosforečná⁶⁹ nebo 2 mol l^{-1} kyselina trifluoroctová⁶⁸. Použitím těchto postupů bylo dosaženo téměř 100% extrahovatelnosti arsenu z různých částí vyšších rostlin. Ukázalo se ale, že při použití kyseliny trifluoroctové pro extrakci zrna rýže se v průběhu extrakce arseničnan částečně redukuje na arsenitan⁶⁸. Dalším postupem doporučeným pro kvantitativní extrakci sloučenin arsenu z vyšších rostlin je použití ultrazvukové lázně⁷¹ nebo kontinuální extrakce za zvýšeného tlaku^{55,73}. Dosavadní výsledky pak naznačují, že extrahovatelnost arsenu nezávisí jen na použitém činidlo a druhu analyzované rostliny, ale i na konkrétní části této rostliny a na množství sloučenin arsenu v těchto rostlinách. Porovnání osmi extrakčních činidel (demineralizovaná voda, směs methanol-voda v různých poměrech, methanol, 20 mmol l^{-1} fosfátový pufr a směs methanol-fosfátový pufr) použitých pro extrakci sloučenin arsenu z různých částí rostliny papriky (*Capsicum annum*, L.) ukázalo, že zatímco u plodů a kořenů paprik byla neúčinnějším extraktantem demineralizovaná voda, u nadzemní zelené biomasy bylo nejvyšší účinnosti extrakce dosaženo s použitím 20 mmol l^{-1} roztoku fosfátového pufru při pH 6; tato extrahovatelnost však nepřesáhla 50 % celkového

obsahu arsenu v zelené nadzemní biomase paprik. Se zvyšujícím se obsahem methanolu v extrakční směsi byl pozorován pokles účinnosti extrakce arsenu ze všech analyzovaných částí rostlin papriky. V plodech paprik byly stanoveny As(III), As(V) a DMA. V zelené nadzemní biomase a kořenech byl hlavní sloučeninou As(V), dále As(III) a též malé podíly DMA a MA (nepřesahující 5 %). Praktické hodnocení vlivu sloučenin arsenu na životní prostředí a na chování těchto sloučenin ve vyšších rostlinách může být zkresleno použitím různých extrakčních činidel v jednotlivých experimentech nebo na jednotlivých kontaminovaných místech⁵⁷. Jak zdůrazňuje Francesconi⁷⁴, podmínky extrakce vhodné pro jednu sloučeninu arsenu mohou být zcela nevhodné pro sloučeninu jinou. Pro správnou interpretaci výsledků speciace arsenu ve vzorcích vyšších rostlin bude analýza jednotlivých vzorků vždy vyžadovat podrobnou úpravu či modifikaci extrakčního postupu.

Poněkud jiná je situace u vzorků půd obsahujících řadu anorganických a organických komponent, které mohou obsahovat As ve své struktuře nebo na svých povrchích. Množství jednotlivých forem arsenu se v tomto případě nejčastěji odhaduje použitím takového loužidla, při kterém nastane vhodná desorpční rovnováha nebo se daná fáze As rozpustí. Volba chemické sloučeniny použité pro extrakci se řídí zejména předpokládanými formami As obsaženými v půdách. Silné kyseliny nejsou schopny kvantitativně uvolnit prvky pevně vázané na silikátovou matici půdních vzorků, přesto se využívají tyto extrakční metody pro přibližný odhad celkového obsahu prvků v půdě, především při zevrubné znalosti půdních parametrů. Lze konstatovat, že tato činidla uvolňují potenciálně mobilizovatelný obsah prvků v půdě, tj. takový podíl, který lze změnou fyzikálně-chemických podmínek (pH, sorpční kapacita, obsah půdní organické hmoty) převést na podíl rostlinám přístupný. Roztoky neutrálních solí uvolňují z půdy frakce prvků přibližně odpovídající podílu prvků přijímaných rostlinami. Jsou tedy velmi vhodné při studiu přestupu prvků z půdy do rostlin⁷⁵. Pro stanovení biopřístupných podílů arsenu v kontaminované půdě a následné hodnocení hygienických rizik při expozici člověka vysokým koncentracím tohoto prvku byly testovány i extrakční metody simulující podmínky v zaživacím traktu člověka^{76,77}.

Metody postupné extrakce se v praxi používají pro stanovení frakcí chemických prvků v půdách, sedimentech, čistírenských kalcích a jiných biologických odpadech, kompostech, popílčích, tuhých spadech, odpadech z těžby minerálů a rud^{78,79}. Byly vyvinuty s cílem přesněji definovat zastoupení prvků v jednotlivých frakcích půdy. Obvykle tyto metody zahrnují tři až sedm samostatných stupňů a je tedy přirozené, že jde o metody časově náročné, vyžadující zkušený laboratorní personál a samozřejmě odpovídající instrumentální analytické vybavení. V rámci metody postupné extrakce se používá řada extrakčních činidel, přičemž každé následující je buď účinnější, nebo chemicky zcela odlišné od předchozího. Selektivita jednotlivých činidel je pak ovlivněna zejména chemickými vlastnostmi zvoleného extraktantu, experimentálními parametry, pořadím jednotlivých stupňů, vlivy matrice, jako např. read-

sorpcí prvků, a heterogenitou vzorku. Nejčastější stupně metody postupné extrakce shrnují např. Hlavay a spol.⁸⁰.

Srovnání výsledků získaných pěti různými metodami postupné extrakce ukázalo významnou rozdílnost analytických dat získaných jednotlivými metodami, zvláště u snadno extrahovatelných podílů arsenu⁸¹. Data nevykazují žádné významné závislosti obsahů arsenu extrahovatelných jednotlivými metodami ani průkazný vliv sledovaných půdních charakteristik. Zdá se, že bude nutno doplnit další poznatky o případné readsorpci či redistribuci mobilních forem arsenu v průběhu extrakce, jak upozorňují např. Gómez-Ariza a spol.⁸². Rovněž je pro další experimenty nutno doporučit práci s rozsáhlejšími soubory vzorků, které umožní věrohodnější a podloženější statistické hodnocení výsledků. Největší rozdíly mezi výsledky získanými jednotlivými extrakčními postupy lze nalézt u frakce popsané jako součet frakcí vázaných na oxidy. Je známo, že oxalátový pufr uvolňuje zejména podíly prvků vázaných na krystalické oxidy železa, zatímco roztok hydroxylamin-hydrochloridu je popisován jako činidlo uvolňující zejména prvky vázané na oxidy manganu. Byla pozorována readsorpce arsenu extrahovaného z půdy okyseleným roztokem hydroxylamin-hydrochloridu ($0,25 \text{ mol l}^{-1}$) na povrch goethitu. Tento jev byl úspěšně potlačen přidávkou kyseliny šťavelové do reakční směsi⁸³.

Odlišné postavení půdní chemie arsenu ve srovnání s ostatními běžně sledovanými rizikovými prvky vedlo k individuálnímu přístupu ve vývoji vhodných metod postupné extrakce. Například Keon a spol.⁸⁴ definují slabě a silně adsorbované podíly arsenu, podíl arsenu koprecipitovaný s půdními oxidy a s amorfními monosulfidy, podíl arsenu koprecipitovaný s krystalickými hydroxid-oxidy železa, dále arsen vázaný ve formě oxidů, podíl arsenu koprecipitovaný s pyrity a konečně sulfidy arsenu. Mihaljevič a spol.⁸⁵ srovnávali čtyři metody postupné extrakce včetně klasické metody dle Tessiera a spol.⁸⁶ především z geochemického pohledu. Konstatovali, že pouze metoda, kterou publikovali Hall a spol.⁸⁷, se ukázala jako vhodná pro frakcionaci arsenu, protože obsahy tohoto prvku extrahovatelné z modelově připravené směsi minerálů odpovídaly hodnotám očekávaným. Tato metoda zahrnuje: i) výměnnou frakci extrahovatelnou 1 mol l^{-1} roztokem CH_3COONa , ii) frakci vázanou na amorfní oxohydroxidy železa extrahovatelnou 1 mol l^{-1} roztokem $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ v $0,25 \text{ mol l}^{-1}$ HCl , iii) frakci vázanou na krystalické oxohydroxidy železa extrahovatelnou $0,25 \text{ mol l}^{-1}$ roztokem $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ve 25% CH_3COOH , iv) frakci vázanou na sulfidy a organickou hmotu extrahovatelnou $8,8 \text{ mol l}^{-1}$ $\text{H}_2\text{O}_2 + 3,2 \text{ mol l}^{-1}$ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ a nakonec v) zbytkovou frakci získanou celkovým rozkladem vzorku ve směsi HF-HClO_4 . Autoři zároveň zdůraznili, že metoda není dostačující pro přesnou kvantifikaci jednotlivých frakcí arsenu, ale slouží pouze k odhadu distribuce arsenu do labilních, méně labilních a zbytkových forem tohoto prvku v kontaminovaných půdách. Hudson-Edwards a spol.⁸⁸ pak shrnují, že před volbou vhodné metody postupné extrakce je třeba zajistit co nejdetailnější popis fyzikálně-chemických

a geochemických vlastností studovaných půd. Dále pak doporučují použít vždy více než jednu extrakční metodu, případně použít některé doplňkové analytické techniky pro ověření správnosti výsledků.

Száková a spol.⁸⁹ hodnotili vliv extrakčního činidla na extrahovatelnost mobilních podílů sloučenin arsenu v půdě. Byla testována půda s experimentálním přidavkem roztoků arsenitanu, arseničnanu, MA a DMA v koncentraci 15 mg As kg⁻¹ půdy. Vzorky byly extrahovány demineralizovanou vodou, 0,01 mol l⁻¹ roztokem CaCl₂ a 0,05 mol l⁻¹ roztokem (NH₄)₂SO₄. Srovnáváme-li použité extrakční činidla, pak s výjimkou vzorku půdy po přidavku MA vykazoval síran amonný vyšší extrakci As(III) ve srovnání s chloridem vápenatým a deionizovanou vodou. Zatímco v kontrolních vzorcích extrahovatelné podíly arsenu nepřesáhly 1 % celkového obsahu arsenu v půdě, experimentální přidavek sloučenin arsenu se odrazil ve vyšší extrahovatelnosti tohoto prvku (1,4–8,1 % celkového obsahu arsenu), přičemž se projevil vliv sloučeniny arsenu aplikované do půdy i použitého extrakčního činidla. Ze stanovených sloučenin arsenu převládal arseničnan s malými podíly arsenitanu, MA a DMA v závislosti na sloučenině arsenu aplikované do půdy. Po aplikaci MA do půdy byla v extraktech stanovena kyselina methyларsonitá (MA(III)), což naznačuje vliv mikrobiální činnosti v půdě. Lze konstatovat, že použité extraktanty mohou vést k podobné interpretaci výsledků stanovení sloučenin arsenu, protože distribuce arsenu v jednotlivých sloučeninách tohoto prvku byla porovnatelná u všech tří testovaných činidel. Je však také zřejmé, že přesnější hodnocení transformace arsenu v půdě bude v dalším výzkumu vyžadovat detailnější výzkum mobility arsenu a jeho sloučenin v průběhu vegetace pokusných rostlin včetně sledování procesů v rhizosféře. Při studiu forem stopových látek v půdách se v poslední době loužící postupy doplňují speciálními spektroskopickými metodami mikrorentgenové absorpce či mikrorentgenové fluorescence, které specifikují vazbu arsenu na daném fázovém rozhraní⁹⁰.

3.2. Instrumentální analytické metody stanovení sloučenin arsenu v biologických materiálech

V posledních 20 letech byla vyvinuta celá řada instrumentálních analytických technik použitelných pro stanovení jednotlivých sloučenin arsenu v nejrůznějších materiálech z oblastí životního prostředí, přičemž v posledních 4 letech bylo publikováno více než 400 aplikací těchto technik. Jejich kompletní přehled připravili Francesconi a Kuehnelt². Tento přehled zahrnuje i levné a jednoduché rozlišení As(III) a As(V) spektrofotometrickými metodami, které našlo uplatnění zejména v analýzách vod. Další technikou, která byla testována, je pak kombinace vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC) s využitím optické emisní spektrometrie (OES) jako elementově specifické techniky detekce. Tato metoda je však omezena nízkou citlivostí metody OES. Atomová absorpční a atomová fluorescenční spektrometrie (AAS a AFS) v kombi-

naci s technikou generování hydridů (HG), někdy v kombinaci s kolekcí vymrazováním následovanou plynovou chromatografií jsou rovněž poměrně levné techniky, které jsou používány pro stanovení sloučenin tvořících těkavé hydridy (As(III), As(V), MA, DMA) zejména ve vzorcích vody nebo moči. Podobné uplatnění má i technika HPLC-HG-AAS, nebo HPLC-HG-AFS, přičemž byla popsána i varianta, kdy jsou sloučeniny arsenu rozdělené HPLC rozloženy UV zářením či aplikací oxidačních činidel a poté redukovány na AsH₃ a zaváděny do detekčního systému. Účinnost rozkladu však závisí na druhu sloučenin arsenu přítomných ve vzorku a také na matici analyzovaného vzorku⁹¹.

Kombinace HPLC s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (HPLC-ICPMS) je robustní a velmi citlivou technikou, která umožňuje identifikaci a kvantifikaci širokého spektra sloučenin arsenu. Kvantifikace těchto sloučenin je však založena na srovnání se standardy příslušných sloučenin, je proto závislá na tom, zda jsou tyto sloučeniny k dispozici a neumožňuje identifikaci nových sloučenin arsenu. Mobilní fáze použitelná pro tuto techniku nesmí obsahovat vysoké koncentrace organických rozpouštědel, proto není tato technika vhodná pro stanovení nepolárních sloučenin arsenu, jako např. arsenolipidů. Přes tato omezení je technika HPLC-ICPMS v současné době nejrozšířenější metodou stanovení sloučenin arsenu. U materiálů s obsahem redukovatelných sloučenin arsenu (voda, moč, půda) lze pak s úspěchem využít kombinace HPLC-HG-ICPMS (cit.^{92,93}).

Z dalších méně rozšířených technik je třeba zmínit plynovou chromatografii v kombinaci s hmotnostním spektrometrem (GC-MS), která je použitelná jen pro těkavé sloučeniny arsenu; ostatní sloučeniny vyžadují derivatizaci. Kombinace HPLC-MS-MS pak umožňuje identifikaci neznámých sloučenin arsenu a získání podrobných informací o struktuře těchto sloučenin^{94,95}. Kapilární elektroforéza s UV nebo MS detekcí (CE-UV, CE-MS) nedosahuje detekčních limitů dostatečně nízkých pro biologické vzorky⁹⁶. Rentgenová spektroskopie je technikou, která umožňuje stanovení sloučenin arsenu ve vzorku *in situ* a nevyžaduje převedení tuhých vzorků do roztoku. Tato technika je s úspěchem používána zejména u vzorků sedimentů a půd⁹⁷, ale i u biologických materiálů s vyšším obsahem arsenu⁹⁸. Lze ji však použít pouze k stanovení celkových obsahů arsenu. Pro stanovení sloučenin arsenu ve vodě či půdách lze využít i elektrochemických metod^{99–101}.

4. Závěr

Je zřejmé, že biopřístupnost sloučenin arsenu v půdě je závislá na procesech sorpce a biotransformace těchto sloučenin jak v oblasti rhizosféry, tak i v okolní půdě a speciace arsenu v půdním roztoku je odpovědná za kvantitativní a kvalitativní aspekty speciace arsenu v rostlinách. V souvislosti s možnostmi analytického stanovení sloučenin arsenu je třeba shrnout, že přestože metody frakcionace prvků v půdě a speciace sloučenin arsenu v půdě

a rostlinách patří k moderním analytickým postupům a mohou významně napomoci k poznání procesů transformace arsenu v těchto materiálech, existují při jejich aplikaci mnohá omezení. Široké spektrum používaných metod ztěžuje vzájemné porovnání výsledků, používaná extrakční činidla často nejsou dostatečně selektivní a výsledky dostatečně citlivě neodrážejí změny sledovaných parametrů. Pro zvýšení věrohodnosti výsledků těchto typů analýz je vhodné v konkrétních experimentech kombinovat použité techniky, případně využít další použitelné techniky, jako např. při analýzách půd techniku difuzního gradientu v tenkém filmu (diffusive gradient in thin films, DGT) či stanovení mobility prvků v půdním roztoku odebraném během vegetace. U rostlin je pak třeba dále rozvíjet a optimalizovat metody extrakce či využít nedestruktivních technik, tedy např. laserové ablace nebo rentgenové spektrometrie.

Problematika byla řešena v rámci výzkumného projektu GA ČR číslo 205/06/0298.

LITERATURA

- Nolan A. L., Lombi E., McLaughlin M. J.: *Austr. J. Chem.* 56, 77 (2003).
- Francesconi K. A., Kuehnelt D.: *Analyst* 129, 373 (2004).
- Yudovich Y. E., Ketris M. P.: *Int. J. Coal Geol.* 61, 141 (2005).
- Hyršl J., Kaden M.: *Aufschluss* 43, 95 (1992).
- Morávek P., Janatka J., Pertoldová J., Straka E., Ďurišová J., Pudilová M.: *Econ. Geol. Monogr.* 6, 252 (1989).
- Mihaljevič M., Sistr L., Ettler V., Šebek O., Průša J.: *J. Geochem. Explor.* 81, 59 (2004).
- Chaney R. L.: *Final Report of the Workshop on the Internat. Transportation*. Pan American Health Organisation, Washington 1985.
- O'Neill P., v knize: B. J. Alloway (ed.): *Heavy Metals in Soils*. Str. 83. Blackie, Londýn 1990.
- Pyles R. A., Woolson E. A.: *J. Agric. Food Chem.* 30, 866 (1982).
- Carbonell-Barrachina A., Burlo-Carbonell F., Mañtaix-Beneito J.: *J. Plant Nutr.* 17, 1887 (1994).
- Grosz A. E., Grossman J. N., Garrett R., Friske P., Smith D. B., Darnley A. G., Vowinkel E.: *Appl. Geochem.* 19, 257 (2004).
- Pichler T., Hendry M. J., Hall G. E. M.: *Canad. Environ. Geol.* 40, 495 (2000).
- Raven K. P., Jain A., Loeppert R. H.: *Environ. Sci. Technol.* 32, 344 (1998).
- Frost R. L., Klopogge J. T.: *Spectrochim. Acta, Part A* 59, 2797 (2003).
- Filippi M., Goliáš V., Pertold Z.: *Environ. Geol.* 45, 716 (2004).
- Jackson B. P., Bertsch P. M.: *Sci. Technol.* 35, 4868 (2001).
- Brouwere K. D. E., Smolders E., Merckx R.: *Eur. J. Soil Sci.* 55, 165 (2003).
- Szákóvá J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Vaněk V.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 363, 594 (1999).
- Baroni F., Boscagli A., DiLella L. A., Protano G., Riccobono F.: *J. Geochem. Explor.* 81, 1 (2004).
- Masscheleyn P. H., Delaune R. D., Patrick W. H. Jr.: *Environ. Sci. Technol.* 25, 1414 (1991).
- McGeehan S. L., Naylor D. V.: *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 337 (1994).
- Bowell R. J.: *Environ. Geochem. Health* 16, 84 (1994).
- Marin A. R., Masscheleyn P. H., Patrick W. H. Jr.: *Plant Soil* 152, 245 (1993).
- Garcia-Manyes S., Jimenez G., Padro A., Rubio R., Rauret G.: *Talanta* 58, 97 (2002).
- Tlustoš P., Goessler W., Szákóvá J., Balík J.: *Appl. Organomet. Chem.* 16, 216 (2002).
- Bissen M., Frimmel F. H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 367, 51 (2000).
- Bowell R. J., Morley N. H., Din V. K.: *Appl. Geochem.* 9, 15 (1994).
- Smith E., Naidu R., Alston A. M.: *J. Environ. Qual.* 28, 1719 (1999).
- Smith E., Naidu R., Alston A. M.: *J. Environ. Qual.* 31, 557 (2002).
- Lafferty B. J., Loeppert R. H.: *Environ. Sci. Technol.* 39, 2120 (2005).
- Meng X. G., Jing C. Y., Korfiatis G. P.: *ACS Symp. Ser.* 835, 70 (2003).
- Dopp E., Hartmann L. M., Florea A.-M., Rettenmeier A. W., Hirner A. W.: *Crit. Rev. Toxicol.* 34, 301 (2004).
- Baker M. D., Innis W. E., Mayfield C. I., Wong P. T. S., Chau Y. K.: *Environ. Technol. Lett.* 4, 89 (1983).
- Frankenberger W. T. Jr, Losi M. E., v knize: *Bioremediation: Science and Applications*. (Skipper H. D., Turco R. F. (ed.), str. 173. Soil Science Society of America, Madison 1995.
- Macur R. E., Jackson C. R., Botero L. M., McDermott T. R., Inskeep W. P.: *Environ. Sci. Technol.* 38, 104 (2004).
- Michalke K., Wickenheiser E. B., Mehring M., Hirner A. V., Hensel R.: *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2791 (2000).
- Abedin M. J., Feldmann J., Meharg A. A.: *Plant Physiol.* 128, 1120 (2002).
- Pongratz R.: *Sci. Total Environ.* 224, 133 (1998).
- Carbonell-Barrachina A. A., Jugsujinda A., Burlo-Carbonell F., Delaune R. D., Patrick W. H.: *Water Res.* 34, 216 (2000).
- Sheppard S. C.: *Water Air Soil Pollut.* 64, 539 (1992).
- Dembitsky V. M., Řezanka T.: *Plant Sci.* 165, 1177 (2003).
- Tlustoš P., Balík J., Szákóvá J., Pavlíková D.: *Rostl. Vyr.* 44, 7 (1998).
- Marin A. R., Masscheleyn P. H., Patrick W. H. Jr.:

- Plant Soil 139, 175 (1992).
44. Jiang Q. Q., Singh B. R.: Water Air Soil Pollut. 74, 321 (1994).
 45. Chang P., Kim J. Y., Kim K. W.: Environ. Geochem. Health 27, 109 (2005).
 46. Cullen W. R., Reimer K. J.: Chem. Rev. 89, 713 (1989).
 47. Tlustoš P., Goessler W., Száková J., Pavlíková D., Balík J.: Plant, Soil Environ. 50, 540 (2004).
 48. Schmidt A. C., Mattusch J., Reisser W.: Proc. ISEB 2001 Meeting "Phyto-remediation" Leipzig, May 2001. Str. 117.
 49. Kuehnelt D., Lintschinger J., Goessler W.: Appl. Organomet. Chem. 14, 411 (2000).
 50. Geiszinger A., Goessler W., Kosmus W.: Appl. Organomet. Chem. 16, 245 (2002).
 51. Zhang W. H., Cai Y., Tu C., Ma L.Q.: Sci. Total Environ. 300, 167 (2002).
 52. Tu C., Ma L. Q.: J. Environ. Qual. 31, 641 (2002).
 53. Wu J. H., Zhang R., Lilley R. M.: Funct. Plant Biol. 29, 73 (2002).
 54. Quaghebeur M., Rengel Z.: Physiol. Plant. 120, 280 (2004).
 55. Vela N. P., Heitkemper D. T., Stewart K. R.: Analyst 126, 1011 (2001).
 56. Quaghebeur M., Rengel Z. Smirk M.: J. Anal. At. Spectrom. 18, 128 (2003).
 57. Száková J., Tlustoš P., Goessler W., Pavlíková D., Balík J.: Appl. Organomet. Chem. 19, 308 (2005).
 58. Carbonell-Barrachina A. A., Burlo-Carbonell F., Burgos-Hernandez A., Lopez E. Mataix-Beneito J.: Sci. Hortic. 71, 167 (1997).
 59. Raab A., Feldmann J., Meharg A. A.: Plant Physiol. 134, 1113 (2004).
 60. Gupta G. K., Tohoyama H., Joho M., Inouhe M.: J. Plant Res. 117, 253 (2004).
 61. Ma L. Q., Komar K. M., Tu C., Zhang W. H., Cai Y., Kennelley E. D.: Nature 409, 579 (2001).
 62. Visoottiviseth P., Francesconi K., Sridokchan W.: Environ. Pollut. 118, 453 (2002).
 63. Zhao F. J., Dunham S. J., McGrath S. P.: New Phytol. 156, 27 (2002).
 64. Fitz W. J., Wenzel W. W., Zhang H., Nurmi J., Štípek K., Fischerová Z., Schweiger P., Köllensperger G., Ma L. Q., Stinger G.: Environ. Sci. Technol. 37, 5008 (2003).
 65. Kuehnelt D., Irgolic K. J., Goessler W.: Appl. Organomet. Chem. 15, 445 (2001).
 66. Goessler W., Lintschinger J., Száková J., Mader P., Kopecký J., Doucha J., Irgolic K. J.: Appl. Organomet. Chem. 11, 57 (1997).
 67. Zheng J., Hintelmann H., Dimock B., Dzurko M. S.: Anal. Bioanal. Chem. 377, 14 (2003).
 68. Heitkemper D. T., Vela N. P., Stewart K. R., Westphal C. S.: J. Anal. At. Spectrom. 16, 299 (2001).
 69. Bohari Y., Lobos G., Pinochet H., Pannier F., Astruc A., Potin-Gautier M.: J. Environ. Monit. 4, 596 (2002).
 70. He B., Fang Y., Jiang G. B., Ni Z. M.: Spectrochim. Acta, Part B 57, 1705 (2002).
 71. Caruso J. A., Heitkemper D. T., B'Hymer C.: Analyst 126, 136 (2001).
 72. Quaghebeur M., Rengel Z.: Plant Physiol. 132, 1600 (2003).
 73. Schmidt A. C., Reisser W., Mattusch J., Popp P., Wennrich R.: J. Chromatogr., A 889, 83 (2000).
 74. Francesconi K. A.: Appl. Organomet. Chem. 17, 682 (2003).
 75. Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Balíková M.: Chem. Listy 95, 179 (2001).
 76. Ruby M. V., Davis A., Schoof R., Eberle S., Sellstone C. M.: Environ. Sci. Technol. 30, 422 (1996).
 77. Juhasz A. L., Smith E., Weber J., Naidu R.: Proc. 8th Int. Conf. on the Biogeochemistry of Trace Elements, Adelaide 2005. Str. 148.
 78. Filgueiras A. V., Lavilla I., Bendicho C.: J. Environ. Monit. 4, 823 (2002).
 79. Száková J., Sysalová J., Tlustoš P.: Plant, Soil Environ. 51, 376 (2005).
 80. Hlavay J., Prohaska T., Weisz M., Wenzel W. W., Stinger G. J.: Pure Appl. Chem. 76, 415 (2004).
 81. Tlustoš P., Száková J., Stárková A., Pavlíková D.: Centr. Eur. J. Chem. 3, 830 (2005).
 82. Gómez-Ariza J. L., Giráldez I., Sánchez-Rodas D., Morales E.: Anal. Chim. Acta 399, 295 (1999).
 83. Wenzel W. W., Kirchbaumer N., Prohaska T., Stinger G., Lombi E., Adriano D. C.: Anal. Chim. Acta 436, 1 (2001).
 84. Keon N. E., Swartz C. H., Brabander D. J., Harvey C., Hemond H. F.: Environ. Sci. Technol. 35, 2778 (2001).
 85. Mihaljevič M., Poňavič M., Ettlér V., Šebek O.: Anal. Bioanal. Chem. 377, 723 (2003).
 86. Tessier A., Campbell P. G. C., Bisson M.: Anal. Chem. 51, 844 (1979).
 87. Hall G. E. M., Vaive J. E., Beer R., Hoashi M.: J. Geochem. Explor. 56, 59 (1996).
 88. Hudson-Edwards K. A., Houghton S. L., Osborn A.: Trends Anal. Chem. 23, 745 (2004).
 89. Száková J., Tlustoš P., Goessler W., Pavlíková D., Balík J., Schlagenhaufen C.: Anal. Bioanal. Chem. 382, 142 (2005).
 90. Sparks D. L.: Environmental Soil Chemistry, 2. vyd. Academic Press, San Diego 2002.
 91. Sanchez-Rodas D., Geiszinger A., Gomez-Ariza J. L., Francesconi K. A.: Analyst 127, 60 (2002).
 92. Wei X. Y., Brockhoff-Schwegel C. A., Creed J. T.: J. Anal. At. Spectrom. 16, 12 (2001).
 93. Nakazato T., Tao H., Taniguchi T., Isshiki K.: Talanta 58, 121 (2002).
 94. Larsen B. R., Astorga-Llorens C., Florencio M. H., de Bettencourt A. M.: J. Chromatogr. 926, 167 (2001).
 95. Pergantis S. A., Wangkarn S., Francesconi K. A., Thomas-Oates J. E.: Anal. Chem. 72, 357 (2000).

96. Sun B. G., Macka M., Haddad P. R.: *Electrophoresis* 23, 2430 (2002).
97. Paktunc D., Foster A., Laflamme G.: *Environ. Sci. Technol.* 37, 2067 (2003).
98. Langdon C. J., Meharg A. A., Feldmann J., Balgar T., Charnock J., Farquhar M., Pearce T. G., Semple K. T., Cotter-Howells J.: *J. Environ. Monit.* 4, 603 (2002).
99. Ferreira M. A., Barros A. A.: *Anal. Chim. Acta* 459, 151 (2002).
100. Muñoz E., Palmero S.: *Talanta* 65, 613 (2005).
101. Cepriá G., Alexa N., Lordos E., Castillo J. R.: *Talanta* 66, 875 (2005).

J. Száková^a, M. Mihaljevič^b, and P. Tlustoš^a
(^a *Department of Agrochemistry and Plant Nutrition, Czech University of Agriculture, Prague,* ^b *Institute of Mineralogy, Geochemistry and Mineral Resources, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **Mobility, Transformation, and Essential Methods of Determination of Arsenic Compounds in Soil and Plants**

The influence of sorption and biotransformation of As compounds and their speciation in rhizosphere and/or in the bulk soil on bioavailability of these compounds is evident. Various analytical methods of determination of As compounds in soil and plants are available for investigation of transformation of As in soil and plants. However, many limitations of these methods were reported. A variety of methods make difficult a comparison of results from individual laboratories, selectivity of extraction agents is frequently insufficient, and the results do not sufficiently reflect changes in experimental parameters. For improvement of credibility of the results, a combination of two or more techniques is recommended. For soil samples, diffusive gradient in thin films or determination of As mobility in soil solution collected during vegetation period are available. For plants, optimization of extraction techniques or application of non-destructive techniques such as X-ray spectrometry and laser ablation are necessary in further research.