

CHEMICKÉ FORMY RTUTI VE VODNÍCH EKOSYSTÉMECH – VLASTNOSTI, ÚROVNĚ, KOLOBĚH A STANOVENÍ

PAVLÍNA HOUSEROVÁ, KAREL JANÁK, PETR KUBÁŇ, JANA PAVLÍČKOVÁ a VLASTIMIL KUBÁŇ

Ústav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, kuban@mendelu.cz

Došlo 25.2.05, přepracováno 9.8.05, přijato 30.9.05.

Klíčová slova: rtuť, methylртуť, chemické formy rtuti, toxicita, životní prostředí, potravní řetězce, extrakce, separace, stanovení

Obsah

1. Úvod
2. Chemické formy rtuti – fyzikální a chemické vlastnosti
3. Přirozený bio-geochemický cyklus chemických forem rtuti
 - 3.1. Rozdělení chemických forem rtuti mezi složky vodního ekosystému
 - 3.2. Chemické a biologické přeměny chemických forem rtuti (transformace a degradace) ve vodních ekosystémech
 - 3.3. Bioakumulace chemických forem rtuti ve vodních organismech
4. Zdroje znečištění životního prostředí
5. Toxicita chemických forem rtuti
 - 5.1. Ekotoxicita chemických forem rtuti
 - 5.2. Toxicita chemických forem rtuti pro člověka
6. Stanovení rtuti ve vzorcích vodního ekosystému
 - 6.1. Faktory ovlivňující stabilitu chemických forem rtuti během odběru a skladování vzorků
 - 6.2. Stanovení celkového obsahu rtuti (T-Hg)
 - 6.2.1. Rozklady vzorků
 - 6.2.2. Metody stanovení celkového obsahu rtuti
 - 6.3. Stanovení chemických forem rtuti
 - 6.3.1. Metody izolace chemických forem rtuti
 - 6.3.2. Metody stanovení chemických forem rtuti
 - 6.3.2.1. Separace chemických forem rtuti plynovou chromatografií (GC)
 - 6.3.2.2. Separace chemických forem rtuti vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC)
 - 6.3.2.3. Separace chemických forem rtuti kapilární elektroforézou (CE)
7. Závěr

1. Úvod

Rtuť a její sloučeniny patří mezi jednu z nejtoxičtějších látek vyskytujících se ve vodních ekosystémech. Problém kontaminace vodních ekosystémů rtutí a jejími sloučeninami je všeobecně znám jak ve vědeckých kruzích, tak i v laické veřejnosti. Výzkum zaměřený na sledování koncentrace jednotlivých sloučenin rtuti, jejich zdrojů a vlivů na lidský organismus je podporován celou řadou organizací^{1–3}. V České republice, stejně jako v ostatních vyspělých částech světa, existuje zvýšené riziko výskytu toxických kovů (Hg, Pb, Cd atd.) v životním prostředí. V současné době jsou sloučeniny rtuti uvolňovány do vodních ekosystémů převážně z antropogenních zdrojů, tj. v důsledku činnosti člověka^{1–5}.

Výskyt a transport rtuti a jejich sloučenin ve vodních ekosystémech je poněkud odlišný od jiných těžkých kovů v důsledku vysoké tenze par kovové rtuti a vysoké reaktivity iontů rtuti se sloučeninami obsahujícími koncové –SH a alkylové skupiny.

Rtuť se ve vodních ekosystémech vyskytuje ve velkém množství chemických forem, které se liší chemickými, fyzikálními i toxikologickými vlastnostmi. Z organokovových sloučenin rtuti se v biologických materiálech nejčastěji setkáváme s halogenidy methylrtuti, které mají výraznou tendenci se akumulovat v potravních řetězcích, zvláště pak právě ve vodních ekosystémech^{6–8}.

Rtuť jakožto globální polutant vyskytující se ve všech složkách životního prostředí je součástí celé řady komplexních bio-geochemických cyklů v životním prostředí, např. vodně-biologických, atmosférických cyklů aj. Kontaminace vodních ekosystémů rtutí nejvýznamněji ovlivňuje organismy na nejvyšších trofických úrovních potravní pyramidy. Vysoké koncentrace rtuti v rybách, které mají celosvětově velký nutriční význam, mohou významně ovlivňovat jak zdraví člověka, tak i piscivorních ptáků^{9–16}.

Zatímco o vlivu rtuti na životní prostředí a o vlivu chemických forem rtuti na zdraví je dostupná celá řada informací, informace o pohybu rtuti a jejich sloučenin ve vodních ekosystémech jsou značně omezené^{1–3,17}. V současnosti se do popředí zájmu dostává studium výskytu těžkých kovů a dalších specifických polutantů ve vodních tocích a přehradách v ČR. Tyto studie jsou zaměřeny především na sledování koncentrace těžkých kovů v několika druzích ryb^{6,8,18–25}, jejich distribuci v součástech vodních ekosystémů^{21,22,25} a distribuci v orgánech a tkáních ryb a ptáků^{10,16,26}. Tyto studie však hlavní pozornost věnují stanovení celkové koncentrace rtuti (T-Hg). Stanovení jednotlivých sloučenin rtuti a jejich výskytu v součástech vodních systémů nebyla doposud věnována náležitá pozornost.

Vzhledem k velmi rozdílné toxicitě jednotlivých forem rtuti je důležité stanovovat ve všech složkách životní-

ho prostředí a především v potravinách nejenom celkový obsah rtuti, ale také zastoupení jejich jednotlivých chemických forem (specií).

Pro porozumění mechanismů pohybu, distribuce a toxických účinků sloučenin rtuti na ekosystém je nutné vyvinout spolehlivé metody umožňující stanovení velice nízkých koncentrací jednotlivých chemických forem Hg. Stanovení chemických forem rtuti je z analytického hlediska komplikováno nejenom velmi složitou maticí biologických materiálů, ale také poměrně nízkými obsahy chemických forem rtuti v těchto materiálech a v neposlední řadě také jejich toxicitou. Vývoj analytické metody pro stanovení chemických forem rtuti v biologických materiálech vyžaduje nejenom vývoj a optimalizaci vlastní separační a detekční metody, ale také nalezení vhodných odběrních a skladovacích podmínek a vývoj a optimalizaci vhodné izolační metody. Celé stanovení je současně velmi komplikováno možností transformací jednotlivých chemických forem rtuti v odebraných vzorcích během celého procesu analýzy vzorku^{27–31}.

V tomto článku podáme stručný přehled vlastností, koloběhu a metod stanovení chemických forem rtuti ve vodních ekosystémech.

2. Chemické formy rtuti – fyzikální a chemické vlastnosti

Rtut' se vyskytuje pouze v omezeném počtu oxidačních stavů (0, +I, +II). Přesto vytváří širokou škálu sloučenin, které se liší jak svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, tak i svou toxicitou. Mezi nejdůležitější chemické formy rtuti náleží elementární (kovová) rtuť, rtuťné (Hg_2^{2+}) a rtuťnaté (Hg^{2+}) anorganické formy rtuti a organokovové sloučeniny rtuti.

Elementární rtuť je jediný kov, který je při normální teplotě kapalný (bod tání $-38,9\text{ }^\circ\text{C}$) (cit.³²) s poměrně vysokou tenzí par a kromě vzácných plynů je jediným prvkem, jehož páry jsou téměř výhradně jednoatomové. Nejběžnější sloučeniny jednomocné rtuti jsou halogenidy, které obsahují ion Hg_2^{2+} . Kalomel (Hg_2Cl_2) je poměrně málo rozpustný ve vodě (2 mg l^{-1} při $25\text{ }^\circ\text{C}$) (cit.³²), a proto je také méně toxický než ostatní ve vodě rozpustné sloučeniny rtuti. Dříve byl hojně používán v lékařství, ale jeho vážným nedostatkem bylo velké nebezpečí kontaminace rozpustnějším, silně jedovatým HgCl_2 . Dvojmocná rtuť vytváří mnohem větší množství chemických sloučenin než rtuť jednomocná. Patří mezi ně oxidy, sulfidy, halogenidy, soli silných oxokyselin (dusičnany, chloristany a sírany) a řada koordinačních sloučenin obsahujících především velmi stálé sulfidické vazby ($\text{Hg}^{\text{II}}\text{-S}$) a dále vazby $\text{Hg}^{\text{II}}\text{-X}$ a $\text{Hg}^{\text{II}}\text{-N}$.

Organokovové sloučeniny rtuti obsahují jeden nebo dva uhlovodíkové zbytky navázané na atom kovu a vytváří tak sloučeniny typu RHgX nebo RHgR' , kde R a R' představují uhlovodíkové zbytky (nejčastěji $\text{CH}_3\text{-}$, $\text{C}_2\text{H}_5\text{-}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-}$) a X anion nejčastěji halogenid, dusičnan, sulfid

nebo síran. Organokovové sloučeniny rtuti jsou poměrně často vytvářeny v životním prostředí z anorganických forem rtuti mechanismem neenzymatického přenosu methylové skupiny z methylkobalaminu (CH_3B_{12}) na Hg^{2+} .

3. Přirozený bio-geochemický cyklus chemických forem rtuti

Bio-geochemický cyklus rtuti je charakterizován jako součet všech vstupů a výstupů sloučenin rtuti v daném ekosystému. Celkový bio-geochemický cyklus zahrnuje uvolnění rtuti (Hg^0) a nově vzniklých těkavých sloučenin rtuti (CH_3)₂Hg z půd, hornin, povrchových a odpadních vod, obohacených o antropogenní emise, jejich transport za současné transformace atmosférou³³, ukládání sloučenin rtuti zpět na zemi a v povrchových vodách, sorpci sloučenin rtuti na částičky sedimentů nebo půdy, její absorpci živou přírodou, transformaci jednotlivých chemických forem rtuti a jejich bioakumulaci.

Cyklus sloučenin rtuti je neustále opakován, pouze část rtuti je navázána do nerozpustných sloučenin nebo akumulována ve vodních potravních řetězcích a nemůže být znovu uvolněna do atmosféry. Pro nevratné vázání rtuti v biosféře jsou významné thiolové skupiny (-SH) přítomné v molekulách tvořících rozpuštěný organický uhlík (DOC). Tyto skupiny jsou obsaženy především v hydrofobní frakci rozpuštěné organické hmoty (DOM) v podobě huminových a fulvových kyselin^{34,35}. Konstanty stability ($\log K$) komplexů rtuti s molekulami (skupinami) vyskytujícími se v DOC v porovnání s $\log K$ rtuti a běžných komplexotvorných činidel uvádí tabulka I.

Tabulka I

Konstanty stability ($\log K$) komplexů rtuti s molekulami (skupinami) vyskytujícími se v DOC v porovnání s $\log K$ rtuti a běžných komplexotvorných činidel

Ligand	$\log K_{\text{HgL}}$	$\log K_{\text{HgL}_2}$	Lit.
Glycin	10,3	19,2	35
Cystein	14,4	–	35
Thiomočovina	11,4	22,1	35
EDTA	21,5; 23,1	–	34,35
Kys. thiosalicylová	25,7	–	35
Glutathion	–	30,7	34
Diethyldithiokarbamát	–	33,4	34
Sulfid	–	37,7	35
Kys. thioglykolová	34,5	43,8	35
Huminové kys. (Suwannee River)		26,1–32,2 ^a	34
Hydrofob. kompl. z odpadních vod		>30 ^a	34

^a Typ a množství koordinujících ligandů není znám

Tabulka II

Příklad pozadřových koncentrací specií rtuti [ng L^{-1}] a relativní zastoupení methylrtuti k celkové rtuti MeHg/T-Hg [%] ve vodách

Typ vody	Lokalita	MeHg [ng L^{-1}]	Hg ²⁺ [ng L^{-1}]	Tot Hg [ng L^{-1}]	MeHg/T-Hg [%]	Lit.
Odpadní	Španělsko	14±1	200±14	214±14	6,5	40
Mořská	Španělsko	60±4	120±8	180±8	33	40
Mořská ^a	Gijón, ESP	35±1	210±8	245±8	14,3	39
Rašeliništní	Švédsko SV	0,48–0,77	nestanoven	–	–	42
Jezerní	Bajkal	0,002–0,16	0,14–2,02	0,14–2,18	1,4–7,3	z 36
Potoční	Almadén, ESP	0,05–0,34	9,1–43	9,2–43	0,5–7,9	36
Potoční	Aljaška	0,04–0,2	0,1–1,4	0,14–1,6	12,5–28,6	z 36
Ledovec	Antarktida	0,14	0,83	0,97	14,4	133

^a Přístav, ** konc. v ng L^{-1} , - pozadí v oblasti těžby Hg

3.1. Rozdělení chemických forem rtuti mezi složky vodního ekosystému

O distribuci sloučenin rtuti ve složkách životního prostředí (v atmosféře, vodě, sedimentu nebo v biotě) rozhoduje především podobnost vlastností příslušné chemické formy rtuti s vlastnostmi složky životního prostředí. Mezi nejdůležitější faktory ovlivňující zastoupení chemických forem rtuti patří především chemické a mikrobiologické složení prostředí (koncentrace kyslíku, pH, redoxní podmínky, množství rozpuštěného uhlíku a sírných sloučenin, mikroorganismů atd.), ale také teplota a přítomnost volných radikálů³.

V atmosféře je přes 95 % rtuti přítomno ve formě elementární (kovové) rtuti (Hg^0), která v ní zůstává od 6 dnů až po 2 roky. Přibližně 5 % atmosférické rtuti je navázáno na částičky, které v atmosféře přetrvávají kratší dobu a ukládají se zpět na zemi v podobě mokrého nebo suchého spadu snadněji než volná rtuť. Mokrou depozicí se na zemi vrací přibližně 66 % atmosférické rtuti. Rtuť přítomná v atmosféře globálně cykluje obvykle na patřičné zemské polokouli, avšak může být vlivem cirkulace vzdušných mas deponována ve značné vzdálenosti od zdroje³.

Nedávno byla publikována hypotéza dokladující možnou souvislost mezi zeslabením ozónové vrstvy a přítomností par rtuti v troposféře³³. Bylo prokázáno, že atomární rtuť se v troposféře může oxidovat hydroxylovými radikály vznikajícími z ozonu a vodních par za tvorby oxidu rtuťnatého, a to jak v podobě plynné, tak i aerosolu.

V sedimentech^{3,35–38} a v povrchových vodách^{34,36,39,40} se rtuť vyskytuje nejčastěji v oxidačním stavu +II, a to vázaná především na ligandy obsahující thiolové skupiny (-SH)^{34,35}. Takto vzniklé sloučeniny rtuti mají velmi rozdílnou rozpustnost ve vodě. Transport a rozdělení rtuti v povrchových vodách a sedimentech jsou ovlivněny konečnou formou sloučeniny rtuti.

Převládajícím procesem ovlivňujícím distribuci sloučenin rtuti ve vodě a v sedimentech je sorpce sloučenin

rtuti na částičky sedimentu, především obsahují-li hodně železa a hliníku. Rtuť se velice snadno adsorbuje na huminové materiály a rašelinu (DOC)^{35,39,40–42}.

Ve vodě je v malém množství přítomna také rozpuštěná plynná rtuť, z níž je více než 97 % ve formě rtuti elementární². Těkavé formy rtuti (např. elementární rtuť, dimethylrtuť) se z vodního prostředí snadno uvolňují do atmosféry. Naproti tomu iontové nebo komplexní sloučeniny rtuti jsou navázané na pevné částice, klesají s nimi vodním sloupcem ke dnu a ukládají se v sedimentech^{3,34}.

Adsorpce rtuti klesá s rostoucí koncentrací chloridových iontů v prostředí³⁵. Část suspendované organické matrice (DOM) může být zpět uvolněna do vodního sloupce resuspenzí. Až 70 % rtuti rozpuštěné ve vodách bývá vázáno na organickou matici², nejvyšší kontaminace vody nastává blízko rozhraní voda-sediment. Sloučeniny rtuti vázané na organickou matici mohou být transportovány odtokem z kontaminovaného ekosystému do jiných ekosystémů. Mohou být rovněž uvolněny z organické matrice chemickou nebo biologickou redukcí na elementární rtuť, popřípadě mohou být biologicky přeměněny na těkavé organické formy rtuti. Příklad pozadřových koncentrací chemických forem rtuti ve vodách uvádí tabulka II.

Organické formy rtuti (methylrtuť aj.) snadno vstupují do vodních potravních řetězců, neboť díky své lyofilní povaze jsou snadněji než anorganické sloučeniny rtuti vstřebávány a akumulovány biologickými tkáněmi. O vzniku, degradaci a bioakumulaci organických sloučenin rtuti pojednávají následující kapitoly.

3.2. Chemické a biologické přeměny chemických forem rtuti (transformace a degradace) ve vodních ekosystémech

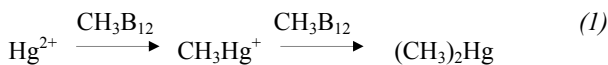
Rtuť přítomná v životním prostředí může být transformována biotickou a abiotickou oxidací a redukcí, biologickými přeměnami mezi anorganickými a organickými for-

mami rtuti a fotolýzou organických sloučenin rtuti^{3,35}. Tyto přeměny sloučenin rtuti probíhají ve všech složkách životního prostředí a jsou schématicky znázorněny na obr. 1. Z toxikologického hlediska patří mezi nejdůležitější biochemický proces methylace anorganické rtuti^{35,36}.

V atmosféře dochází nejčastěji k oxidaci elementární rtuti ozonem, kdy za spolupůsobení hydroxylových radikálů vzniká oxid rtuťnatý³³. Oxidované formy rtuti (např. Hg^{2+}) jsou z atmosféry odstraněny dešťovými srážkami. Sloučeniny rtuti mohou být dále oxidovány nebo redukovány peroxidem vodíku, chlornanem a organickými peroxy-sloučeninami nebo radikály vyskytujícími se v atmosféře. Organokovové sloučeniny rtuti podléhají v atmosféře fotolýze³.

Nejdůležitějším transformačním procesem rtuti ve vodách je biotransformace. V povrchových vodách dochází také k fotolýze methylrtuti, která však nedosahuje významu biotransformace. Anorganické sloučeniny rtuti vstupující do vodního ekosystému mohou být snadno přeměněny na sloučeniny methylrtuti. Většinou je methylace rtuti mikrobiálně řízený proces, který probíhá za aerobních i anaerobních podmínek. Mechanismus methylace rtuti zahrnuje neenzymatickou methylaci rtuťnatých iontů methylkobalaminovými sloučeninami v přítomnosti různých typů mikroorganismů (druhy bakterií z rodů *Bifidobacterium*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Metha-*

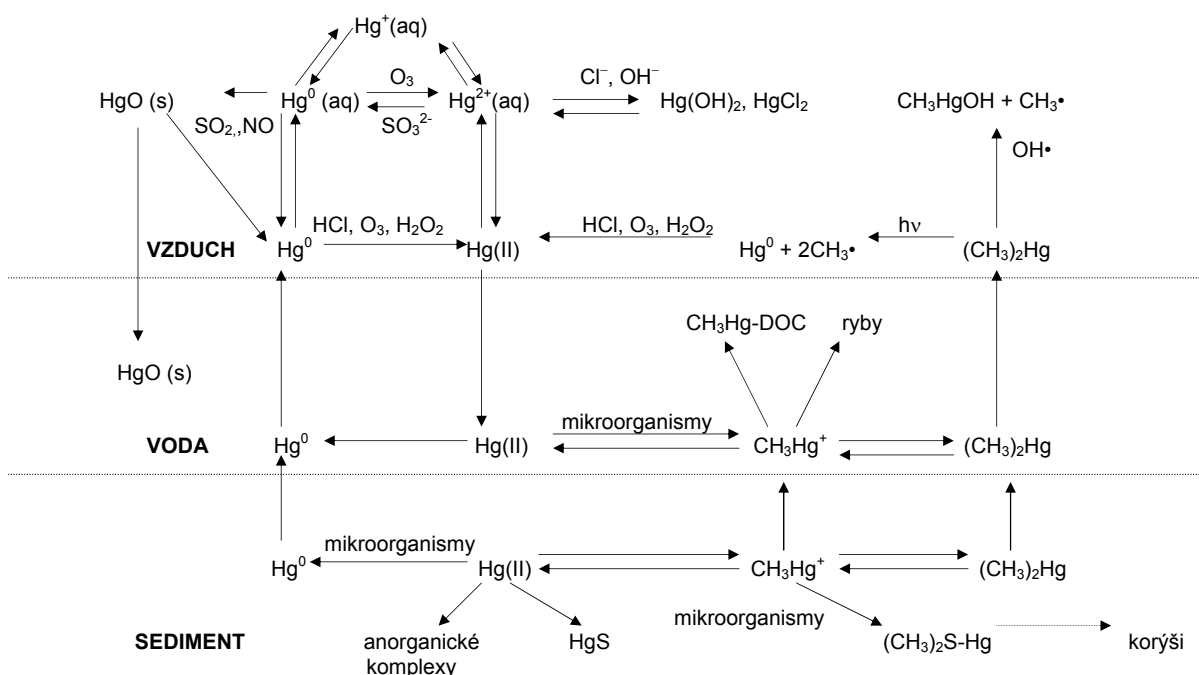
nobacterium, *Pseudomonas*) vyskytujících se v sedimentech (viz rovnice 1).



Rychlost tvorby methylrtuti je závislá na koncentraci methylkobalaminových sloučenin, koncentraci Hg^{2+} , přítomnosti organických i anorganických komplexotvorných látek, koncentraci kyslíku ve vodě při aerobní methylaci, na teplotě vody, na množství a druhu mikroorganismů, pH a redoxních podmínkách vodního systému^{3,35,36}. Významnou a poměrně komplexní úlohu při methylaci rtuti hraje množství a charakter DOM. Methylace Hg^{2+} může být snižována vzrůstající koncentrací DOC, protože dochází k rychlé sorpci Hg^{2+} na organické částice a Hg^{2+} již nejsou přístupné mikrobiální methylaci³⁵. Mikrobiální methylace probíhá optimálně při pH 4,7 (cit.³⁵).

I když je biotická methylace sloučenin rtuti převládajícím procesem, může ve vodních ekosystémech docházet také k abiotické methylaci Hg^{2+} methyl deriváty olova nebo cínu a také v přítomnosti vysoké koncentrace huminových látek.

Dialkylové sloučeniny rtuti (např. dimethylrtuť) jsou těkavé, ve vodě špatně rozpustné a snadno přecházejí do atmosféry. Elementární rtuť je ve vodě vytvářena demethylací MeHg nebo redukcí Hg^{2+} a je následně uvolňována



Přerušovaná čára představuje hranici mezi složkami životního prostředí
aq = kapalná fáze, DOC = rozpuštěné organické látky, s = pevná fáze

Obr. 1. Přeměny sloučenin rtuti probíhající ve složkách vodního ekosystému³

do atmosféry. Redukce Hg^{2+} na elementární rtuť je zvyšována účinkem slunečního záření a inhibována chloridovými ionty³. Ve vodním ekosystému se rtuť vyskytuje také v podobě HgS , který je málo rozpustný, ukládá se v sedimentu a snižuje tak formování MeHg (cit.³).

Sloučeniny rtuti vyskytující se v sedimentech podstupují stejné chemické a biochemické transformace, které již byly popsány u vod. Hg^{2+} obvykle vytváří komplexy s chloridovými a hydroxidovými ionty přítomnými v sedimentech. Tvorba komplexů je ovlivněna pH a složením sedimentu. Organokovové sloučeniny rtuti jsou opět formovány a degradovány mikrobiálními nebo abiotickými procesy. Při vysoké koncentraci Hg^{2+} v sedimentech byl zaznamenán pokles rychlosti methylace Hg^{2+} , který byl způsoben úhynem mikroorganismů⁶. Mícháním sedimentu (např. v ústí řeky) se výrazně zvyšuje vrstva sedimentu, ve které probíhá methylace (z 3–5 cm na 15 cm)⁴³. Proces methylace je současně podporován vyšším přísunem SO_4^{2-} , Hg^{2+} a DOC do spodnějších vrstev sedimentu a odvodem vzniklé MeHg do okolní vody.

3.3. Bioakumulace chemických forem rtuti ve vodních organismech

Vysoká bioakumulační schopnost organokovových sloučenin rtuti, spjatá s jejich lyofilní povahou, jim umožňuje snadný průnik biologickými membránami. Sloučeniny rtuti jsou vodními organismy přijímány buď přímo z vody (sedimentu), ale častěji se do vodních organismů dostávají s potravou. Rozpuštěné sloučeniny rtuti jsou přijímány vodními organismy adsorpcí nebo absorpcí přes povrch těla nebo respiračními orgány. Při příjmu methylrtuti potravou musí nejprve dojít k jejímu uvolnění z potravy trávením (rozkladem potravy) v žaludku a ve střevech.

Obsah celkové rtuti i methylrtuti ve vodních organismech vzrůstá s trofickou úrovní potravní pyramidy. Např. bezobratlé organismy obsahují pouze kolem 50 % celkové rtuti přítomné v podobě MeHg , na rozdíl od piscivorních ptáků, kteří mají ve svalovině až 95 % obsahu celkové rtuti v podobě MeHg (cit.^{2,44}).

Obsahy celkové rtuti se ve vodách zatížených pouze pozadřovou kontaminací pohybují v desetinách až desítkách ng l^{-1} (cit.^{36,39,42,45,46}); vodní zdroje nacházející se v blízkosti dolů na těžbu barevných kovů a rtuti však dosahují úrovní až tisíckrát větších³⁶. V sedimentech jsou obsahy celkové Hg nejčastěji v desítkách až stovkách $\mu\text{g kg}^{-1}$ (cit.^{3,36}). V průmyslových oblastech mohou obsahy celkové rtuti v sedimentech dosahovat jednotek miligramů, v blízkosti dolů na těžbu barevných kovů a rtuti pak až g kg^{-1} (cit.^{36,46}). Nejvyšší přípustná koncentrace rtuti ve vodách ČR je $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ (cit.⁴⁷).

Rostliny přijímají rtuť přímou cestou, nejčastěji přes kořenový systém, ve kterém ji také nejvíce akumulují^{48,49}. Schopnost rostlin přijímat sloučeniny rtuti ze sedimentu nebo půdy je omezená, protože ji nedokáží uvolnit z velmi pevných komplexů s huminovými kyselinami. Schopnost

přijímat sloučeniny rtuti vzrůstá u rostlin s rostoucí povrchovou plochou (vysoká je např. u řas). Příjem rtuti rostlinou je ovlivněn také dalšími faktory, mezi které patří: pH sedimentu, šířka humusové vrstvy a aktivita mikroorganismů. Koncentrace celkové rtuti se ve vodních rostlinách pohybují v rozmezí desítek až stovek $\mu\text{g kg}^{-1}$ (cit.³). Některé rostliny, např. vodní kapradí (*Azolla caroliniana*), mají schopnost vázat velká množství Hg^{2+} (až 578 mg dm^{-3} v sušině), čehož se prakticky využívá k odstraňování těžkých kovů ze životního prostředí⁵⁰.

Bezobratlé organismy žijící v sedimentech (zoobentos) mají obvykle ve svých tkáních vyšší obsahy rtuti (desítky až tisíce $\mu\text{g kg}^{-1}$) než bezobratlé organismy žijící ve vodním sloupci (např. dafnie – desítky $\mu\text{g kg}^{-1}$). Toto pozorování je v souladu s vyšší koncentrací rtuti v jejich potravě i životním prostředí^{2,51}. Naměřené sezónní změny v obsazích Hg ve škeblích (*Mytilus galloprovincialis*)⁷ mohou souviset se změnou teploty vody. Protože sloučeniny rtuti jsou u bezobratlých organismů spíše ukládány ve střevech nebo skeletu, svalovina bezobratlých organismů obsahuje nižší procentuální obsahy MeHg než svalovina ryb. U bezobratlých organismů bývá méně než 65 % celkové rtuti přítomno ve formě MeHg (cit.⁵¹).

Ryby akumulují sloučeniny rtuti z potravy i vodního prostředí. Více než 90% rtuti vyskytující se ve svalovině dravých ryb je ve formě methylrtuti, převážně akumulované z potravy, i když část anorganických forem rtuti přijímaných potravou může být také methylována střevními bakteriemi^{11,52–56}. Koncentrace rtuti v rybě svalovině vzrůstá s věkem jedince, sezónní variace pak korelují s teplotou vody. Akumulace MeHg je v létě vyšší, protože ryby přijímají více potravy⁵⁷. Bioakumulace methylrtuti v rybách dále vzrůstá s klesající hodnotou pH vody a rostoucím obsahem DOC. Naproti tomu je bioakumulace methylrtuti snižována s rostoucí tvrdostí vody (obsahem vápníku) a obsahem kyslíku⁴⁹.

Obsah celkové rtuti ve svalovině ryb je pravidelně kontrolován ve všech vyspělých zemích. V ČR je vyhláškou Ministerstva zdravotnictví č. 305/2004 Sb., která se odvolává na nařízení Evropské komise č. 221/2002/ES, stanoven maximální limit Hg (mg kg^{-1} čerstvé hmotnosti) ve svalovině ryb na $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$. U vybraných druhů ryb uvedených v bodě vyhlášky 3.3.1.1. je akceptován maximální limit Hg (mg kg^{-1} čerstvé hmotnosti) ve svalovině 1 mg kg^{-1} (cit.⁵⁸).

Piscivorní vodní savci a ptáci, jako predátoři vyskytující se na vrcholu potravní pyramidy, akumulují ve svém těle MeHg , kterou přijímají v potravě (ryby), ve větším množství než savci a ptáci, kteří se živí také vodními rostlinami, obojživelníky a hmyzem^{59,60,61}. U savců byly nalezeny vysoké obsahy celkové rtuti v játrech a ledvinách^{9,62}, u ptáků v játrech, ledvinách a peři^{10,16,63–67}. Pelicháním peří se ptáci akumulované rtuti částečně zbavují. Vzhledem k tomu, že byly nalezeny vysoké korelace mezi obsahem Hg v peří a ostatních tkáních, lze peří odebrané v době jeho výměny použít jako vzorkovací materiál⁴⁹. Koncentrace rtuti ve všech tkáních u savců i ptáků vzrůstá s věkem

jedince. Obsahy methylrtuti bývají v játrech u většiny savců i ptáků nižší než v ostatních tkáních (svalovinė), díky demethylačním mechanismům^{62,63,65}.

4. Zdroje znečištění životního prostředí

Rtut' patří mezi kovy přirozeně se vyskytující ve všech složkách životního prostředí. Normální koncentrace rtuti se ve vyvřelých a sedimentárních horninách pohybují v rozmezí 10–50 ng g⁻¹ (cit.³⁶), ale např. minerál rumělka obsahuje 86,2 % rtuti³. Do všech složek životního prostředí je rtut' uvolňována jak z přírodních zdrojů (zvětráváním minerálů, sopečnou činností, lesními požáry a vypařováním z oceánů a mokřadů), tak v důsledku činnosti člověka.

Antropogenní zdroje činí 60–80 % (cit.³). Mezi hlavní antropogenní zdroje rtuti patří vyluhování z hlusiny v lokalitách s aktivní i ukončenou těžbou rtuti³⁶, spalování uhlí a jiných fosilních paliv, výroba chloru, vyluhování z odpadů obsahujících sloučeniny rtuti na skládkách, spalování odpadů ve spalovnách, kremace, vypouštění kontaminovaných komunálních vod, výroba cementu, tavení kovů, odpady z chemického průmyslu, používání fungicidně upravených semen a těžba vzácných kovů amalgamací. I přes omezování těžby a používání rtuti uniká v současné době do životního prostředí dvojnásobné až trojnásobné množství rtuti než tomu bylo v 18. století^{2,3,34}.

Rtut' se dostává do atmosféry, do pedosféry i do všech druhů přírodních vod, kde se snadno bioakumuluje v potravních řetězcích (kapitola 3.3.). Uvolněná kovová rtut' a těkavé sloučeniny rtuti se primárně dostávají do vyšších vrstev atmosféry. V důsledku jejich relativně vysoké stability a dlouhých cyklů přeměny mohou sloučeniny rtuti při příznivé povětrnostní situaci kontaminovat oblasti velmi vzdálené od místa vzniku³. Podobně jako jiné perzistentní polutanty i páry a sloučeniny rtuti cyklují kolem zeměkoule a následně ve značné míře kontaminují polární oblasti³³. Zdrojem různých chemických forem rtuti jsou také vodní ekosystémy (kapitola 3.2.).

5. Toxicita chemických forem rtuti

Vzhledem ke globální přítomnosti rtuti ve všech složkách životního prostředí a z toho zákonitě vyplývající kontaminace v potravních řetězcích, je toxicitě chemických forem rtuti věnována velká pozornost^{68,69}. Toxické účinky jednotlivých forem rtuti vykazují řadu podobností, ale také významné rozdíly. Závisí na chemických i fyzikálních vlastnostech jednotlivých chemických forem rtuti, na jejich množství, cestě intoxikace a době expozice. Zde se stručně omezíme na porovnání toxicity jednotlivých chemických forem rtuti pro člověka a pro vodní ekosystémy.

5.1. Ekotoxicita chemických forem rtuti

U rostlin působí expozice rtutí redukcí fotosyntézy v důsledku snížené syntézy chlorofylu, sníženého dýchání

a příjmu vody. Anorganické formy rtuti ovlivňují plasmovou membránu rostlin, sloučeniny methylrtuti ovlivňují především metabolismus organel v cytoplasmě⁴⁹.

Toxicita rtuti pro bezobratlé organismy je kromě vývojové vyspělosti organismu závislá na faktorech ovlivňujících rozpustnost a vstřebatelnost chemických forem rtuti, jako je teplota vody, koncentrace iontů (toxicita vzrůstá s teplotou a klesá s tvrdostí vody), koncentrace rozpuštěné organické hmoty (DOM), průtok vody a koncentrace jednotlivých chemických forem rtuti⁴⁹.

U ryb se intoxikace rtutí projevuje často pouze nižšími hmotnostními přírůstky⁴⁹. Vodní ptáci a savci (např. kormorán, norek, vydra) jsou exponováni nejčastěji sloučeninami methylrtuti přijímanými v potravě. Toxické účinky rtuti závisí na množství zkonsumované potravy, trofické úrovni konzumovaných ryb, obsahu rtuti v potravě a tělesné hmotnosti zvířat přijímajících kontaminovanou potravu. Biodostupnost rtuti z ptačí potravy se pohybuje kolem 80 % (cit.¹⁰). Podobně jako u člověka se otrava sloučeninami methylrtuti projevuje i u savců živících se rybami neurologickými účinky.

U mnoha druhů ptáků se otrava rtutí projevuje reprodukčními problémy, změnou chování a vyšší embryonální úmrtností. Ptáci jsou často vyzábli, mají nekoordinované pohyby, zčeřeně peří a staví hnízda menší velikosti. Při pitvě uhynulého jedince jsou patrná drobná poranění ledvin a jater. Sloučeniny methylrtuti se koncentrují převážně v bílku, naopak anorganické formy rtuti ve žloutku vejce⁴⁹. Mořští ptáci jsou vůči účinkům MeHg odolnější než ptáci žijící a lovící na souši⁴⁹. Ke stanovení úrovně expozice ptáka se s výhodou používá peří, protože jde o nedestruktivní způsob vzorkování.

U řady obratlovců byl prokázán příznivý vliv selenu na dekontaminaci po otravě rtutí. Ačkoli přesný mechanismus účinku selenu není znám, předpokládá se, že anorganické formy rtuti, které vznikají demethylací methylrtuti v játrech, jsou vázány selenem a vytvářejí Hg-selenoproteiny a selenid HgSe^{62,65}. Poměr Hg:Se byl v játrech arktických mořských savců 1:1 (cit.⁶²).

5.2. Toxicita chemických forem rtuti pro člověka

Expoziční cesta rtuti je u lidí nejčastěji inhalační, orální a dermální. Expozice sloučeninami rtuti se u lidí projevuje imunologickými, neurologickými, reprodukčními, vývojovými, genotoxickými a karcinogenními účinky a mohou končit i smrtí⁷⁰.

Inhalační expozice nastává především elementární (kovovou) rtutí a dialkylovými organokovovými sloučeninami rtuti s vysokou tenzí par za normální teploty. Kapalná rtut' je špatně absorbována kůží a zažívacími orgány, ale její páry jsou snadno absorbovány plicemi. K typické inhalační expozici dochází u stomatologů při odvrťování starých amalgamových plomb⁷¹, ale i v okolí krematorií. Toxické účinky kovové rtuti způsobují široký rozsah neurologických potíží, dušnost, nefrotický syndrom projevující se edémem a ztrátou albuminu močí. Způsobují rovněž

ztrátu paměti a smrt. Cílovými orgány elementární rtuti jsou ledviny a centrální nervový systém (CNS)⁷⁰.

Při orální expozici závisí toxické účinky především na chemické formě rtuti. Málo rozpustné sloučeniny rtuti (např. sloučeniny jednomocné rtuti) jsou méně toxické. Anorganické sloučeniny rtuti se akumulují v ledvinách a v buňkách mukózních membrán gastrointestinálního traktu^{69,70}.

Organokovové sloučeniny rtuti, na rozdíl od anorganických sloučenin rtuti, pronikají snadno bariérami krev mozek a placentou a ukládají se v ledvinách a vlasech. Jsou přibližně 10× toxicitější než anorganické formy rtuti. Působí především na CNS. U dospělých lidí se poškození vztahuje selektivně na oblasti mozku, ve kterých jsou soustředěny smyslové a koordinační funkce. Při vyšších dávkách může být zasažen vedle CNS také periferní nervový systém. Nejvážnějším obdobím lidského života vůči expozici MeHg je prenatální období. Hromadné otravy lidí organokovovými sloučeninami rtuti byly zaznamenány v Minamatě v Japonsku (1952) a v Iráku (1971)⁷².

V životním prostředí se organokovové sloučeniny rtuti, z nichž nejrozšířenější jsou sloučeniny methylrtuti, akumulují všude tam, kde se mohou rozpouštět v tucích. Z podobného důvodu (větší prostupnost biomembránami) se absorbují snadněji než Hg^{II} v gastrointestinálním traktu. Názory autorů na biodostupnost rtuti z potravy se různí. Cabañero udává⁸, že u člověka je při trávení potravy v žaludku uvolněno přibližně 9–20 % rtuti a dále ve střevě dalších 9–17 % rtuti. Jiní autoři^{32,73} po orální expozici dokladují vysoký stupeň absorpce methylrtuti (až 95 %) ve srovnání s anorganickou rtutí (cca 7 %). Prozatím není nic známo o absorpci a toxicitě Hg^{II} vázané v pevných koordinačních sloučeninách obsahujících thiolové skupiny, jako je cystein, cystin, methionin resp. kyselina thioglykolová.

6. Stanovení rtuti ve vzorcích vodního ekosystému

6.1. Faktory ovlivňující stabilitu chemických forem rtuti během odběru, skladování a přípravy vzorků

Odběr a uchovávání vzorku pro stanovení chemických sloučenin rtuti je velmi náročný na standardizaci podmínek, které by měly zaručit, že nedojde ke změně složení vzorku v procesu jeho odběru, uchovávání a analýzy.

Již samotný odběr vzorku je velmi důležitý a musí zajistit, aby odebraný materiál byl, a až do doby analýzy zůstal, reprezentativním vzorkem analyzovaného materiálu. K tomu je v případě chemických forem rtuti třeba zajistit, aby v průběhu odběru a i následné úpravy nedošlo nejen k poklesu celkového množství rtuti ve vzorku, ale ani ke změně poměru jednotlivých chemických forem rtuti.

Pokles celkového množství rtuti ve vzorku může nastat jednak adsorpcí na povrchu stěn odběrové nádoby,

nebo na povrchu částic rozpustné organické matrice (DOM). Dalším významným zdrojem ztrát je odpařování a transformace těkavých chemických forem rtuti (Hg⁰, MeHg). Změna poměru zastoupených sloučenin rtuti ve vzorku se nejčastěji týká přeměny methylrtuti na anorganickou rtuť (Hg²⁺), méně často přeměny opačné a jen výjimečně transformace mezi kovovou (atomární) rtutí a rtutí anorganickou. Vzhledem k výrazně odlišné toxicitě jednotlivých chemických forem rtuti je tedy třeba vzorek při odběru zakonzervovat tak, aby se celkové množství rtuti, stejně jako poměr jejich různých forem, v průběhu skladování neměnil.

Stabilita sloučenin rtuti ve vzorku je ovlivněna kromě složení vzorku (matrice) a vlastní úrovně chemických forem rtuti ve vzorku, řadou regulovatelných fyzikálních parametrů, především pak skladovací teplotou, pH vzorku, iontovou silou, materiálem skladovací nádoby a expozicí slunečním zářením^{27,74}. Při stanovení chemických forem rtuti ve vodách může sehrát nepříznivou roli ponechání částic organické hmoty ve vodném vzorku v průběhu skladování. U vodných vzorků se proto většinou již v místě odběru doporučuje odfiltrovat rozpuštěnou organickou hmotu a upravit pH okyselením tak, aby se zvýšila rozpustnost chemických forem rtuti ve vodném vzorku^{27,40,42}.

Stabilita vzorků se podpoří jejich zmrazením, uchováváním extraktů v lednici v nádobách z tmavého Pyrex skla nebo PTFE a používáním konzervačních činidel. Jako konzervační činidla se pro anorganickou rtuť používají silné minerální kyseliny (HNO₃, HCl, H₂SO₄) v kombinaci s oxidačními činidly (K₂Cr₂O₇, KMnO₄)²⁷. Konzervace roztokem K₂Cr₂O₇ v kyselině dusičné a chlorovodíkové (5 ml HNO₃, 5 ml HCl a 5 ml 1% K₂Cr₂O₇ na 1 litr roztoku) prodlužuje stabilitu roztoků o koncentraci 1 mg l⁻¹ Hg²⁺ na 1 měsíc⁷⁵, nelze ji však použít pro roztoky určené ke stanovení chemických forem rtuti. MeHg je nejčastěji konzervována methanolem, nebo směsí HCl a NaCl (cit.²⁷).

Biologické vzorky a sedimenty se většinou zakonzervují lyofilizací, nebo zmrazením v místě odběru^{36,55,76}. Pokud byl vzorek po odběru zmrazen, je třeba před jeho přípravou k analýze jej celý opětně rozmrazit a homogenizovat.

Zatímco u většiny biologických vzorků je v průběhu skladování minimální nebezpečí přeměny methylrtuti na anorganickou rtuť, u sedimentů byla během skladování vzorků při laboratorních podmínkách pozorována methylační anorganické rtuti až z 50 %. U vzorků ryb, přírodních vod a jiných biologických materiálů byl tento jev nevýznamný^{30,31}.

Formování „umělé“ MeHg bylo také pozorováno při používání nevhodných izolačních postupů (destilace s vodní parou, superkritická fluidní extrakce)^{43,77,78}, při alkalickém nebo kyselém rozkladu za horka, při používání tetraethylboritanu sodného jako ethylačního činidla a v acetonových a acetonitrilových extraktech vzorků^{30,31}. Degradace MeHg na Hg²⁺ byla zaznamenána v cysteinových extraktech, pokud docházelo současně k oxidaci cysteinu na cystin²⁸ a v dichlormethanových extraktech²⁹.

6.2. Stanovení celkového obsahu rtuti (T - Hg)

6.2.1. Rozklady vzorků

Pro stanovení celkové rtuti se používá úplná mineralizace vzorku. Mineralizace vzorku se provádí nejčastěji silnými minerálními kyselinami např. konc. HNO_3 (cit.¹⁶), konc. HCl (cit.⁷⁹), směsí konc. HNO_3 s 30% H_2O_2 (cit.^{36,80,81}) a směsí kyseliny dusičné s kyselinou sírovou (1:1, 1:4)^{11,62}. Někdy je ke směsi kyseliny dusičné a sírové ke zvýšení mineralizačního účinku ještě přidáváno silné oxidační činidlo (HClO_4 , BrCl)^{9,43}. Mineralizace vzorku se provádí při vysokých teplotách (100–200 °C) pod zpětným chladičem nebo v mikrovlnných pecích.

Kovy mohou být akumulovány přímo z půd a sedimentů technikou difuzních gradientů v tenkých filmech (DGT) tvořených selektivní chelatační pryskyřicí. Tato technika se také používá k určení hloubkových profilů kovů v půdách a sedimentech⁸². Pro stanovení mobilních a mobilizovatelných forem rtuti v půdách, sedimentech a v kompostu se využívají různé kombinace extrakčních činidel, nejčastěji na bázi kyselin^{83–85}. Pro akumulaci rtuti z vodných roztoků byly také testovány elektrárenské popílky⁸⁶.

6.2.2. Metody stanovení celkového obsahu rtuti

Pro stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku je třeba nejprve všechny chemické formy rtuti převést do jedné formy. Vzhledem ke stabilitě chemických forem rtuti i k formě potřebné pro vlastní stanovení, jsou organické formy rtuti převáděny na rtuť anorganickou (Hg^{2+}), která je stanovena podle způsobu detekce buď přímo, nebo výhodněji po redukci jako rtuť atomární. Oxidace chemických forem rtuti na Hg^{2+} se provádí silnými kyselinami (HCl , H_2SO_4 , HNO_3), oxidačními činidly v kyselém prostředí (H_2O_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KMnO_4 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, KBr/KBrO_3), UV zářením a mikrovlnným zářením. Nejúčinnější je kombinace chemické oxidace se současným působením UV záření (fotooxidace)^{81,87–91}.

K vlastnímu stanovení se používá atomová absorpční spektrometrie (AAS)^{6,11,50,62,88,90–93}, atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)^{8,31,43,45,53,87,89,94–99}, atomová emisní spektrometrie (AES), indukčně vázané plasma ve spojení s hmotnostní (ICP-MS)^{88,89,100–102} nebo optickou emisní spektrometrickou detekcí (ICP-OES)²⁸ a výjimečně neutronová aktivační analýza (NAA)^{103,104}, anodická rozpouštěcí voltametrie (ASV)¹⁰⁵ a nedestruktivní metody stanovení rtuti (rentgenfluorescenční spektrometrie – XRF, PIXE a laserová ablace ve spojení s MS)^{106–109}. Stanovení rtuti ICP-MS (ICP-OES) je ovlivněno silnou sorpcí rtuti ve zmlžovači, která může být snížena přidávkou sirných sloučenin (2-sulfanylethanolu)⁸¹ nebo zlata (Au^{3+}) v HNO_3 (cit.¹¹⁰).

Některé techniky používají pro stanovení rtuti metodu generování studených par. Tato metoda využívá toho, že rtuť má dostatečnou tenzi par i za laboratorní teploty, takže je možné za této teploty přímo měřit absorpci nebo fluores-

cenci odpovídající koncentraci volných atomů rtuti. Studené páry rtuti jsou generovány redukcí dvojmočné rtuti, přítomné v roztoku v iontové formě, na elementární rtuť redukčními činidly jako jsou SnCl_2 v kyselém prostředí (nejčastěji používán)^{11,45,53,87,91,97,98}, NaBH_4 (cit.^{31,88,89,90,91,94,99}), formaldehyd, nebo kyselina askorbová v alkalickém prostředí (pH 11)¹¹¹. Páry rtuti vytvořené ve vyvíjecí nádobě jsou přes sušící trubice naplněné CaCl_2 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, silikagelem nebo přes speciální membránové (Nafion) vysoušecí kazety transportovány v proudu argonu do měřicí cely. Ke stanovení nízkých koncentrací rtuti se využívá zachycení rtuti na amalgamátoru (obvykle křemelina potažená vrstvou zlata nebo sítko ze zlatého drátu). Po ukončení kolekce rtuti za běžné teploty je amalgamátor následně zahřát na teploty kolem 1000 °C a rtuť je vypuzena do měřicí cely.

Různé techniky atomové absorpční spektrometrie se navzájem liší citlivostí a způsobem atomizace vzorku. Ke stanovení rtuti se měří absorpce záření na rezonanční čáře rtuti 253,7 nm. Plamenová AAS, podobně jako atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ET-AAS) mají poměrně malou citlivost^{48,92,112}.

Velmi dobrou citlivostí a vysokou selektivitou se vyznačuje atomová absorpční spektrometrie s metodou generování studených par rtuti (CV-AAS)^{6,11,50,88,90,91,93}. Monoatomická pára rtuti, získaná redukcí Hg^{2+} v roztoku, je proudem vzduchu, argonu nebo dusíku transportována do absorpční průtokové kyvety. Před vlastním měřením absorpce v průtokové kyvetě je většinou zařazena fokusace zóny rtuti na amalgamátoru.

Rovněž při stanovení rtuti atomovou fluorescenční spektrometrií (AFS) se nejčastěji využívá metoda generování studených par^{8,31,43,45,53,87,89,94–99}. Podobně jako přístroje CV-AAS, jsou také přístroje CV-AFS často vybaveny amalgamační prekoncentrační jednotkou, která zvyšuje citlivost stanovení⁴⁵. CV-AFS má i bez prekoncentrace velmi nízkou mez detekce (0,1 ppt), vysokou selektivitu a lineární dynamický rozsah¹¹³. Mezi hlavní nevýhody této metody patří zhášení fluorescence a samoabsorpce záření při vysokých koncentracích rtuti.

Pro stanovení celkového obsahu rtuti byly vyvinuty speciální analyzátoři TMA 254 (Trace Mercury Analyser) a AMA 254 (Advanced Mercury Analyser) české provenience, které jsou na českém trhu již od konce 80. let 20. století. Tyto analyzátoři umožňují přímé stanovení obsahu rtuti v pevných a kapalných vzorcích, kdy rozklad vzorku probíhá *in situ* přímo v přístroji v uzavřeném systému. Vzorek je v přístroji nejprve termicky rozložen v proudu kyslíku, spaliny jsou transportovány proudem kyslíku do amalgamátoru (křemelina potažená zlatem), kde je selektivně zachycena rtuť. Po nakoncentrování je rtuť vypuzena rychlým ohřevem do tzv. tandemových kyvet o různé optické délce a absorpce rtuti je měřena při 253,65 nm. Totéž množství par rtuti je tedy měřeno dvakrát s odlišnou citlivostí (15:1). Metoda dosahuje mimořádně nízké meze detekce stanovení (0,01 ng Hg) a výsledky jsou nezávislé na matici vzorku¹¹⁴.

6.3. Stanovení chemických forem rtuti

6.3.1. Metody izolace chemických forem rtuti

Izolace chemických forem rtuti z biologických materiálů patří mezi nejkomplicovanější část analýzy. Nesmí při ní docházet k transformaci a úniku jednotlivých chemických forem rtuti, extrakční výtěžky musí být kvantitativní a reprodukovatelné. V poslední době byla vyvinuta technika zředění vzorku izotopicky značenými interními standardy s analýzou používající hmotnostní spektrometrické detekce (SIDMS – Speciated Isotope Dilution Mass Spectrometry). Přidání interních standardů v podobě $^{199}\text{Hg}^{2+}$ a $\text{CH}_3^{201}\text{Hg}^+$ ihned po odběru vzorku umožňuje kompenzaci nejen ztrát, ale i případných transformací chemických forem rtuti ve vzorku^{42,74,76}.

Při stanovení chemických forem rtuti se používají mírnější extrakční podmínky, tak aby nedocházelo k transformaci jednotlivých chemických forem, ale zároveň aby výtěžky chemických forem rtuti byly kvantitativní. Izolace chemických forem rtuti z biologických materiálů se provádí kyselou nebo alkalickou hydrolyzou. Izolaci chemických forem rtuti z matrice lze provést buď klasickou destilací, destilací s vodní parou, extrakcí v systému kapalina-kapalina, superkritickou fluidní extrakcí nebo některou z moderních technik (mikrovlnná extrakce – MWE, zrychlená extrakce rozpouštědlem – ASE, extrakce rozpouštědlem za vysokých tlaků – PSE aj.).

První metodu pro extrakci chemických forem rtuti z ryb vyvinul Westöo¹¹⁵. Westöoho metoda je založena na uvolnění chemických forem rtuti koncentrovanou HCl, extrakci uvolněných sloučenin rtuti do benzenu a jejich převedení zpět do vodné fáze pomocí hydroxidu amonného s Na_2SO_4 . Většina extrakčních postupů využívajících uvolnění chemických forem rtuti kyselinou je založena na Westöoho metodě. Benzen je nahrazován méně toxickým toluenem nebo CH_2Cl_2 a sloučeniny rtuti jsou převáděny do vodné fáze pomocí cysteinu nebo thioisranu sodného^{28,116–119}.

Poměrně složitý a časově náročný Westöoho postup je nutný pouze při použití neselektivní detekce, kdy je zapotřebí vzniklý extrakt přečistit. Při selektivní detekci je možné použít jedнокrokovou extrakci zředěnou kyselinou chlorovodíkovou^{28,120,121}, okyseleným roztokem ethanolu (2 % HCl + 10 % $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)^{74,83}, kyselinou octovou¹²² nebo acetátovým pufrem¹²¹.

Při alkalické hydrolyze se jako extrakční činidla používají silné nebo slabé báze, např. 35% KOH (cit.⁹⁴), 3M NaOH (cit.¹²³), alkoholický roztok KOH^- ^{6,87,89,121,124}, nejčastěji však tetramethylammonium hydroxid (TMAH)^{76,81,88,100}.

6.3.2. Metody stanovení chemických forem rtuti

Pro rozlišení jednotlivých forem prvku se využívají rozdíly v chemických i fyzikálních vlastnostech těchto forem. Dříve se ke stanovení chemických forem rtuti používalo selektivní jedнокrokové extrakce, selektivní redukce chemických forem rtuti roztokem NaBH_4 o různé koncentraci⁹⁰ nebo dvoukrokové redukce roztoky SnCl_2 a NaBH_4 (cit.⁹¹)

ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií (CV-AAS) nebo atomovou fluorescenční spektrometrií (CV-AFS).

V současné době se analýza chemických forem rtuti provádí kombinovanými (tandemovými) technikami, které spojují separační metody (plynovou chromatografií, vysoce účinnou kapalinovou chromatografií nebo kapilární elektroforézou) s prvkově, v některých případech i izotopově, selektivní detekcí a umožňují tak selektivně a většinou i velmi citlivě stanovit všechny přítomné chemické formy¹¹⁷. Nejčastěji se k rozdělení chemických forem rtuti používá plynové nebo kapalinové chromatografie.

6.3.2.1. Separace chemických forem rtuti plynovou chromatografií (GC)

Při separaci chemických forem rtuti plynovou chromatografií je důležité převést všechny analyty chemickou modifikací (derivatizací) na těkavé, termicky stabilní formy. Při derivatizaci nesmí docházet k porušení původních vazeb v analyzovaných chemických formách rtuti. Derivatizace také slouží k vyizolování analytů z matrice.

Derivatizaci chemických forem rtuti před GC analýzou lze provést:

- alkylací Grignardovými činidly (např. BuMgCl) v nevodném prostředí^{125,126},
- alkylací tetraalkylboritany (NaBEt_4 , cit.^{39,77,79,94,112,124,127–129} aj., NaBPh_4 , cit.^{7,121}, NaBPr_4 , cit.^{40,100,128} ve vodném prostředí pH 5–6,
- tvorbou hydridů s KBH_4 ve vodném prostředí¹³⁰.

Z těchto postupů je nejvíce propracována ethylace tetraethylboritanem sodným. Nevýhodou ethylace NaBEt_4 je znemožnění stanovení ethylrtuti a nízká čistota ethylačního činidla. Stanovení ethylrtuti umožňuje derivatizace tetrapropylboritanem sodným⁴⁰. K izolaci a prekoncentraci analytu se používá mikroextrakce na pevné fázi (solid phase microextraction, SPME), která umožňuje dávkovat vzorek do plynového chromatografu přímo vložením vlákna s prekoncentrovaným analytem, nevyžaduje používání organických rozpouštědel a zlepšuje chromatografickou separaci. Pro SPME jsou používána nejčastěji vlákna na bázi poly(dimethylsiloxanu)^{39,79,121,128–131} nebo vlákna obsahující sulfhydrylové skupiny¹³². Nověji byla úspěšně použita také vlákna pokrytá karbamidovým polymerem¹¹².

SPME umožňuje¹²⁸ až 12-ti násobnou prekoncentraci MeHg a 30-ti násobnou prekoncentraci Hg^{2+} .

Pro vlastní chromatografickou separaci se používají kapilární chromatografické kolony s nepolárními typy fází na bázi poly(dimethylsiloxanu)⁵³, případně s 5 % fenylových skupin³⁹. V poslední době byl úspěšně použit i multi-kapilární typ stacionární fáze¹³³.

K detekci separovaných chemických forem rtuti se používá detektor elektronového záchytu (ECD)^{6,11,62,116}, AFS^{29,94,118,124,126}, ICP-MS nebo MS po elektronové ionizaci^{7,39,42,100,118,128,131,133}, atomová emisní spektrometrie a atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem (AES, MIP-AES)^{121,122,125,126,134,135}.

Hlavní nevýhodou detektoru elektronového záchytu (ECD) je nízká selektivita detekce. Selektivita ECD se

zvyšuje začleněním čistícího kroku, který může vnést do analýzy množství chyb. Při použití ECD se neprovádí derivatizace alkylačními činidly, protože by došlo k odstranění halogenu. Vyextrahované halogenidy rtuti se pouze převedou do organického rozpouštědla (benzenu, toluenu, hexanu).

Při spojení plynové chromatografie s AFS jsou všechny chemické formy rtuti po chromatografické separaci nejprve převedeny pyrolýzou (800–900 °C) na elementární rtuť, která je následně detegována.

Hlavní výhodou ICP-MS je možnost multiprvkové a multiizotopické analýzy, výhodou AFS je nízká pořizovací cena a jednoduché ovládání přístroje. Meze detekce obou metod se příliš neliší (GC-ICP-MS: 0,9 pg Hg, GC-AFS: 0,25 pg Hg)¹¹⁸.

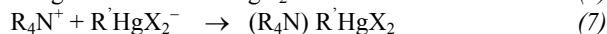
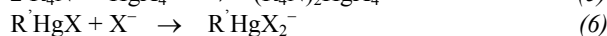
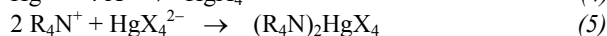
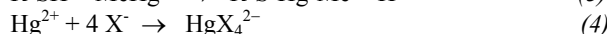
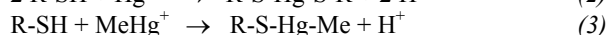
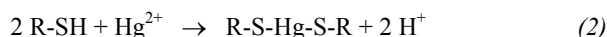
6.3.2.2. Separace chemických forem rtuti vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC)

Separace chemických forem rtuti kapalinovou chromatografií se začíná více uplatňovat v poslední době v souvislosti se značným pokrokem ve vývoji instrumentace pro hmotnostní detekci (LC-MS, LC-MS/MS). Hlavní výhodou kapalinové chromatografie je jednodušší příprava vzorku před vlastním HPLC stanovením (nevyžaduje derivatizaci). Chemické formy rtuti se separují při laboratorní teplotě, což omezuje riziko jejich vzájemné konverze. Výhodou může být také možnost dávkování většího množství vzorku a snadné připojení HPLC k detektoru.

Separace chemických forem rtuti se provádí nejčastěji chromatografií s reverzním systémem fází využívající chelatačních, případně ion-párových interakcí mezi modifikátorem mobilní fáze a analyty na jedné straně a hydrofobních interakcí mezi modifikátorem mobilní fáze a stacionární fází na straně druhé. Modifikátory vytvářejí stabilní komplexy se sloučeninami rtuti a pomáhají tak překonat významné rozdíly v chemických i fyzikálních vlastnostech jednotlivých chemických forem rtuti a tím umožňují stanovit diametrálně odlišné sloučeniny v jednom separačním kroku. Jako modifikátory se používají:

- chelatační činidla
 - 2-sulfanylethanol^{83,87,117,119,136}
 - L-cystein¹³⁶
 - směs 2-sulfanylethanolu s L-cysteinem⁹⁹
 - 1,5-difenyl-3-thiokarbazon (dithizon)¹²⁸
 - sodná sůl diethyldithiokarbamátu (DDTC)¹³⁶
 - amonná sůl pyrrolidin-1-yl-dithiokarbamátu (APDC)^{30,31,120,123,137}
- ion-párová činidla
 - směs tetrabutylamonium-bromidu (TBA) s NaCl^{89,90}

Modifikace chemických forem rtuti pomocí komplexotvorných činidel (např. sirmými sloučeninami) je popsána rovnicemi (2) a (3); pomocí ion-párových činidel (kvartérní amoniové soli v přítomnosti halogenidu) pak rovnicemi (4) až (7).



R = alkyl, X⁻ = halogenid

Před vlastním HPLC stanovením se často provádí prekoncentrace chemických forem rtuti extrakcí na tuhé fázi (SPE). Prekoncentrace je nutná, pokud selektivita a citlivost zvolené detekční metody není dostatečná pro stanovení nízkých obsahů rtuti ve vzorcích a využívá se především při UV detekci. Pro SPE se nejčastěji používají minikolonky s hydrofobním sorbentem (C18) modifikované chelatačními činidly DDTC¹³⁶, dithizonem¹²⁸, 2-sulfanylethanolem¹³⁶, APDC¹²³. Eluce se provádí organickými rozpouštědly (methanol) nebo elučními činidly obsahujícími silnější chelatační činidla.

K detekci chemických forem rtuti separovaných HPLC se kromě UV detektorů^{80,119,120,123,128,138} používají CV-AFS^{30,31,87,89,94}, CV-AAS^{88,139}, ICP-MS^{30,31,83,99,117,136,137,140}, elektrochemické⁸¹ a piezoelektrické¹⁴¹ detektory. Při piezoelektrické detekci jsou chemické formy rtuti nejprve redukovány na elementární rtuť a následně detekovány jako amalgám po reakci se zlatem, kterým je pokryt křemenný krystal.

Při detekci separovaných chemických forem rtuti CV-AAS a CV-AFS detektory je zapotřebí nejprve převést všechny chemické formy rtuti na Hg²⁺ a ty následně redukovat na elementární rtuť. O metodě generování studených par rtuti pojednává kapitola 6.2.2.

Rešerše zabývající se stanovením chemických forem rtuti HPLC v letech 1986–1999 byla vypracována⁸¹.

6.3.2.3. Separace chemických forem rtuti kapilární elektroforézou (CE)

Elektromigrační metody (ITP, CE) ve spojení s prvkově selektivními detektory mohou být pro stanovení chemických forem rtuti velice výhodné. Kapilární elektroforéza (CE) se vyznačuje vysokou rozlišovací schopností a velice krátkou dobou analýzy. Spotřeba vzorku a elektrolytu je minimální a díky možnosti miniaturizace lze tyto metody používat pro analýzy *in situ* bez nebezpečí změny dynamické rovnováhy ve vzorcích vod. Přestože tato progresivní technika byla použita pro stanovení sloučenin rtuti s nejrůznějšími typy detektorů^{142–155}, její aplikace na reálné vzorky je omezena nízkou citlivostí.

Většina navržených metod využívá UV-VIS detekce. Vzhledem k tomu, že rtuť a její sloučeniny neabsorbují výrazněji v UV-VIS oblasti, jsou obvykle komplexovány pomocí látek s výraznou absorpcí v UV-VIS oblasti spektra. Při stanovení anorganických a organických sloučenin rtuti po komplexaci s cysteinem pomocí CE s UV detekcí při vlnové délce 200 nm bylo dosaženo detekčních limitů v rozmezí 1–2 mg l⁻¹ (cit. ^{142,143}). Při použití UV detekce (200 nm) byla pro zlepšení detekčních limitů aplikována

technika „field amplified sample stacking“¹⁴⁴ nebo SPE prekoncentrace komplexů rtuti a cyteinu na C18 koloně s následnou piezoelektrickou detekcí¹⁴⁵. V obou případech byly detekční limity zlepšeny o 1–3 řády, na 1 až 20 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Další varianta stanovení sloučenin rtuti pomocí CE s VIS detekcí využívá komplexace sloučenin rtuti s deriváty dithizonu (sulfo- nebo karboxyl-deriváty dithizonu) a detekce při vlnových délkách 480–570 nm^{146,147}. Dosažené detekční limity se pohybují v rozmezí 4–12 $\mu\text{g l}^{-1}$. Liu a spol.^{148–150} využili reakce sloučenin rtuti s několika komplexotvornými činidly (EDTA, NTA, TTHA) a koncentrační techniky „field amplified sample stacking“ a dosáhli detekčních limitů 0,5–1 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Pro stanovení sloučenin rtuti byla použita i kombinace CE s ICP-MS^{151,152} nebo atomovou fluorescenční spektrometrií¹⁵³, případně s AAS s plamenem vyhřívanou křemennou trubicí¹⁵³. Dosažené detekční limity byly řádově jednotky až desítky $\mu\text{g l}^{-1}$, avšak provozní náklady jsou vysoké a zařízení nelze miniaturizovat.

Elektrochemické detekční metody se vyznačují vysokou citlivostí a jejich využití při detekci velice nízkých koncentrací analytů (ng l^{-1}) se jeví velice výhodné právě pro účely stanovení sloučenin rtuti^{154,155}. V citované literatuře existuje pouze jediná metoda stanovení chemických forem rtuti s využitím amperometrické detekce¹⁵⁴. Konduktometrická detekce nebyla doposud pro stanovení chemických forem rtuti použita.

Koncentrace rtuti v reálných vzorcích vod se pohybují v rozmezí 0,01–1 $\mu\text{g l}^{-1}$, takže detekční limity doposud publikovaných metod jsou příliš vysoké pro analýzu reálných vzorků a je zapotřebí vyvinout účinné metody prekoncentrace v kombinaci s citlivou detekcí.

7. Závěr

Předkládaný článek je zaměřen především na stručný přehled vlastností chemických forem rtuti, na jejich výskyt a koloběh ve vodních ekosystémech a současně je zde také uveden přehled metod nejčastěji používaných jak pro stanovení celkového obsahu rtuti, tak i pro stanovení chemických forem rtuti v matricově náročných materiálech získaných z vodních ekosystémů. Z toxikologického hlediska patří mezi nejdůležitější transformační proces rtuti ve vodních ekosystémech methylace anorganické rtuti na sloučeniny methylrtuti, které mají vysokou bioakumulační schopnost.

Jak vyplývá z uvedeného přehledu, největší nejistotou v procesu analýzy chemických forem rtuti je zatížen odběr a uchování vzorku.

Vlastní analýza vzorků získaných z vodních ekosystémů zahrnuje uvolnění všech chemických forem rtuti z testovaných materiálů, separaci uvolněných chemických forem rtuti některou z vysoce účinných separačních metod a spektrometrické stanovení, většinou velmi nízkých koncentrací. Izolace chemických forem rtuti z biologických materiálů patří mezi nejkomplicovanější část analýzy.

Nesmí při ní docházet k transformaci a úniku jednotlivých chemických forem rtuti, extrakční výtěžky musí být kvantitativní a reprodukovatelné. Pro stanovení celkové rtuti se používá úplná mineralizace vzorku, pro stanovení chemických forem rtuti se používají mírnější extrakční podmínky, tak aby nedocházelo k transformaci jednotlivých chemických forem.

Vzhledem k většinou nízkým koncentracím chemických forem rtuti ve vodách je zapotřebí volit metodu analýzy tak, aby zahrnovala prekoncentrační krok. K prekoncentraci se využívá selektivních, komplexotvorných interakcí rtuti, přičemž komplexy rtuti se buď vytvářejí přímo s komplexotvornými ligandy modifikované stacionární fáze, nebo s patřičným činidlem v mobilní fázi a pak jsou sorbovány fází stacionární. Výhodou těchto postupů je možnost jejich přímého zařazení (on-line) do metody stanovení chemických forem rtuti. Na druhé straně komplexotvorné reakce na nosiči jsou poměrně pomalé. Prekoncentrace tepelnou fokusací se uplatňuje u těžkých forem rtuti (Hg^0 , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$), amalgamace je velmi selektivní a výhodná pro rtuť atomární.

Seznam zkratk

AAS	atomová absorpční spektrometrie (<u>A</u> tomic <u>A</u> bsorption <u>S</u> pektrometry)
AES	atomová emisní spektrometrie (<u>A</u> tomic <u>E</u> mission <u>S</u> pektrometry)
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie (<u>A</u> tomic <u>F</u> luorescence <u>S</u> pektrometry)
AMA 254	<u>A</u> dvanced <u>M</u> ercury <u>A</u> nalyser
APDC	amonná sůl pyrrolidin-1-yl-dithiokarbamátu
ASE	urychlená extrakce rozpouštědlem (<u>A</u> ccelerated <u>S</u> olvent <u>E</u> xtraction)
ASV	anodická rozpouštěcí voltametrie (<u>A</u> nodic <u>S</u> tripping <u>V</u> oltametry)
CE	kapilární elektroforéza (<u>C</u> apillary <u>E</u> lectrophoresis)
CH_3B_{12}	methylkobalamin
$(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$	dimethylrtuť
CNS	centrální nervový systém
CV-AAS	atomová absorpční spektrometrie s metodou generování studených par rtuti (<u>C</u> old <u>V</u> apour <u>A</u> tomic <u>A</u> bsorption <u>S</u> pektrometry)
CV-AFS	atomová fluorescenční spektrometrie s metodou generování studených par rtuti (<u>C</u> old <u>V</u> apour <u>A</u> tomic <u>F</u> luorescence <u>S</u> pektrometry)
DDTC	diethyldithiokarbamát
DGT	technika difuzních gradientů v tenkých filmech
DOC	rozpuštěný organický uhlík (<u>D</u> issolved <u>O</u> rganic <u>C</u> arbon)
DOM	rozpuštěná organická hmota (<u>D</u> issolved <u>O</u> rganic <u>M</u> atter)
ECD	detektor elektronového záchytu (<u>E</u> lectron <u>C</u> apture <u>D</u> etector)

EDTA	ethylendiaminotetraoctová kyselina
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (<u>E</u> lektrothermal <u>A</u> tomic <u>A</u> bsorption <u>S</u> pectrometry)
GC	plynová chromatografie (<u>G</u> as <u>C</u> hromatography)
Hg ⁰	elementární (atomární) rtuť
Hg ²⁺	rtuťnaté ionty – Anorganická rtuť
HPLC	vysoce účinná kapalinová chromatografie (<u>H</u> igh <u>P</u> erformance <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography)
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (<u>I</u> nductively <u>C</u> oupled <u>P</u> lasma <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry)
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (<u>I</u> nductively <u>C</u> oupled <u>P</u> lasma <u>O</u> ptical <u>E</u> mission <u>S</u> pectrometry)
ITP	izotachofóréza (Isotachopheresis)
K	konstanta stability
LC-MS	kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrickou detekcí (<u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry)
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrickou detekcí (<u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry/ <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry)
MIP-AES	atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem (<u>M</u> icrowave <u>I</u> nduced <u>P</u> lasma <u>A</u> tomic <u>E</u> mission <u>S</u> pectrometry)
MeHg	sloučeniny methylrtuť
Me ₂ Hg	dimethylrtuť
MS	hmotnostní spektrometrie (<u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry)
MWE	mikrovlnná extrakce
NAA	neutronová aktivační analýza (<u>N</u> eutron <u>A</u> ctivation <u>A</u> nalysis)
NaBEt ₄	tetraethylboritan sodný
NaBPh ₄	tetrafenylboritan sodný
NaBPr ₄	tetrapropylboritan sodný
NTA	nitrilotrioctová kyselina
PIXE	částicově indukované rentgenovo záření (<u>P</u> article <u>I</u> nduced <u>X</u> -Ray <u>E</u> mission)
PSE	pressurized solvent extraction
PTFE	polytetrafluorethylen (Teflon)
SIDMS	<u>S</u> peciatiated <u>I</u> sotope <u>D</u> ilution <u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry
SPME	mikroextrakce na pevné fázi (<u>S</u> olid <u>P</u> hase <u>M</u> icroextraction)
SPE	extrakce na pevné fázi (<u>S</u> olid <u>P</u> hase <u>E</u> xtraction)
TBA	tetrabutylamonium
TMAH	tetramethylamonium-hydroxid
TMA 254	<u>T</u> race <u>M</u> ercury <u>A</u> nalyser
UV	ultrafialový (Ultraviolet)
UV-VIS	ultrafialová-viditelná oblast spektra (<u>U</u> ltraviolet- <u>V</u> isible)
XRF	rengenfluorescenční spektrometrie (<u>X</u> -Ray <u>F</u> luorescence)

LITERATURA

1. Wheatley B., Wyzga R.: *Water, Air, Soil Pollut.* 97, 5 (1997).
2. *Ecosystem Health, Canadian Tissue Residue of Wildlife Consumers of Aquatic Biota*, Ministry of Environment (2001).
3. *Toxicological Profile for Mercury* – U. S. Department of Health and Human Services, str. 98-409. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999).
4. Downs S. G., Macleod C. L., Lester J. N.: *Water, Air and Soil Pollut.*, 108, 149 (1998).
5. Lambretsson L., Lundberg E., Nilsson, M., Frech, W.: *J. Anal. Atom. Spectr.* 16, 1296 (2001).
6. Ikingura J. R., Akagi H.: *Sci. Total. Environ.* 234, 109 (1999).
7. Ipolyi I., Massanisso P., Sposato S., Fodor P., Morabito R.: *Anal. Chim. Acta* 505, 145 (2004).
8. Cabañero A. I., Madrid Y., Cámara C.: *Anal. Chim. Acta* 526, 51 (2004).
9. Endo T., Haraguchi K., Cipriano F., Simmonds M. P., Hotta Y., Sakata M.: *Chemosphere* 54, 1653 (2004).
10. Fournier F., Karasov W. H., Kenow K. P., Meyer M. W., Hines R. K.: *CPB* 133, 703 (2002).
11. Storelli M. M., Storelli A., Giacomini-Stuffler R., Marcotrigiano G. O.: *Food Chem.* 89, 295 (2005).
12. Agusa T., Kunito T., Iwata H., Monirith I., Tana T. S., Subramanian A., Tanabe S.: *Environ. Pollut.* 134, 79 (2005).
13. Teh S. J., Adams S. M., Hinton D. E.: *Aquatic Toxicol.* 37, 51 (1997).
14. Keck G.: *Alloc. Fish. Res.*, FAO: 164, 170 (1980).
15. Thomas P.: *Am. Fish. Soc. Symp.*, Maryland 8, 9 (1990).
16. Saeki K., Okabe Y., Kim E.-Y., Tanabe S., Fukuda M., Tatsukawa R.: *Environ. Pollut.* 108, 249 (2000).
17. Ebinghauser R., Kock R. R., Schmolke S. R.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 371, 806 (2000).
18. Peňáz M., Svobodová Z., Hejtmánek M., Trnková J.: *Folia Zool.* 28, 171 (1979).
19. Svobodová Z., Dušek L., Hejtmánek M., Vykusová B., Šmíd R.: *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 43, 231 (1999).
20. Řehulka J.: *Czech J. Anim. Sci.* 46, 217 (2001).
21. Svobodová Z., Hejtmánek M., Příkryl I., Kocová A.: *II. Fish. Bull. Inst. Fishery Hydrobiol., Vodňany* 4, 3 (1988).
22. Špurný P., Mareš J., Hedbávný J., Sukop I.: *Czech J. Anim. Sci.* 47, 160 (2002).
23. Scerbo R., Ristori T., Stefanini B., Ranieri S. D., Barghigiani C.: *Environ. Pollut.* 135, 179 (2005).
24. Svobodová Z., Čelechovská O., Kolářová J., Randák T., Žlábek V.: *Czech J. Anim. Sci.* 49, 458 (2004).
25. Hamilton S. J., Mehrle P. M.: *Trans. Am. Fish. Soc.* 115, 596 (1986).
26. Houserová P., Hedbávný J., Matějčík D., Kráčmar S., Sítka J., Kubáň V.: *Vet. Med. - Czech* 50, 61 (2005).
27. Yu L.-P., Yan X.-P.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 22(4),

- 245 (2003).
28. Gaona X., Valiente M.: *Anal. Chim. Acta* 480, 219 (2003).
 29. Devai I., Delaune R. D., Patrick W. H. Jr., Gambrell R. P.: *Org. Geochem.* 32, 755 (2001).
 30. Falter R., Hintelmann H., Quevauviller D.: *Chemosphere* 39(7), 1039 (1999).
 31. Falter R.: *Chemosphere* 39(7), 1051 (1999).
 32. Greenwood N. N., Earshaw A.: *Chemie prvků*, str. 1490-1519. Praha 1993.
 33. Pal B., Ariya P. A.: *Environ. Sci. Technol.* 38, 5555 (2004).
 34. Hsu H., Sedlak D. L.: *Environ. Sci. Technol.* 37, 2743 (2003).
 35. Ravichandran M.: *Chemosphere* 55, 319 (2004).
 36. Gray J. E., Hines M. E., Higuera P. L., Addato I., Lasorsa B. K.: *Environ. Sci. Technol.* 38, 4285 (2004).
 37. Kainz M., Lucotte M.: *Sci. Total Environ.* 293, 151 (2002).
 38. Kotnik J., Horvat M., Jereb V.: *Environ. Model. Software* 17, 593 (2002).
 39. Centineo G., González E. B., Sanz-Medel A.: *J. Chromatogr., A* 1034, 191 (2004).
 40. Muñoz J., Gallego M., Valcárcel M.: *J. Chromatogr., A* 1055, 185 (2004).
 41. Shabani A. M. H., Dadfarnia S., Nasirizadeh N.: *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1388 (2004).
 42. Lambertsson L., Björn E.: *Anal. Bioanal. Chem.* 380, 871 (2004).
 43. Sunderland E. M., Gobas F. A. P. C., Heyes A., Branfireun B. A., Bayer A. K., Cranston R. E., Parsons M. B.: *Mar. Chem.* 90, 91 (2004).
 44. Gray J. S.: *Mar. Pollut. Bull.* 45, 46 (2002).
 45. Cossa D., Sanjuan J., Cloud J., Stockwell P. B., Corns W.: *J. Anal. At. Spectrom.* 10, 287 (1998).
 46. Glass G. E., Sorensen J. A., Schmidt K. W.: *Environ. Sci. Technol.* 24 (7) 1059 (1990).
 47. *Nářízení vlády č. 61/2003 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.* Praha 2003.
 48. Greger M., Wang Y., Neuschütz C.: *Environ. Pollut.* 134, 201 (2005).
 49. Boening D. W.: *Chemosphere* 40, 1335 (2000).
 50. Bennicelli R., Stępniewska Z., Banach A., Szajnocha K., Ostrowski J.: *Chemosphere* 55, 141 (2004).
 51. Parkman H., Meili M.: *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50, 521 (1993).
 52. Tseng C.-M., Hammerschmidt Ch. R., Fitzgerald W. F.: *Anal. Chem.* 76, 7131 (2004).
 53. Krystek P., Ritsema R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 354 (2005).
 54. Harris R. C., Snodgrass W. J.: *Water Pollut. Res. J. Can.* 28, 217 (1993).
 55. Sarica J., Amyot M., Hare L., Blanchfield P., Bodaly R. A., Hintelmann H., Lucotte M.: *Environ. Pollut.* 134, 13 (2005).
 56. Landaluze J. S., Diego A., Raposo J. C., Madariaga J. M.: *Anal. Chim. Acta* 508, 107 (2004).
 57. Spry D. J., Wiener M. P.: *Environ. Pollut.* 71, 243 (1991).
 58. *Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č.305/2004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství v potravinách.* Praha 2004.
 59. Sydeman W. J., Jarman W. M.: *Mar. Pollut. Bull.* 36, 828 (1998).
 60. Furness R. W., Camphuysen K. C. J.: *ICES J. Mar. Sci.* 54, 726 (1997).
 61. Savinov V. M., Gabrielsen G. W., Savinova T. N.: *Sci. Total Environ.* 306, 133 (2003).
 62. Wagemann R., Trebacz E., Boila G., Lockhart W.L.: *Sci. Total Environ.* 218, 19 (1998).
 63. Henny C. J., Hill E. F., Hoffman D. J., Spalding M. G., Grove R. A.: *Ecotoxicology* 11, 213 (2002).
 64. Ochoa-Acuña H., Sepúlveda M. S., Gross T. S.: *Mar. Pollut. Bull.* 44, 340 (2002).
 65. Kim E. Y., Saeki K., Tanabe S., Tanaka H., Tatsukawa R.: *Environ. Pollut.* 94, 261 (1996).
 66. Monteiro L. R., Granadeiro J. P., Furness R. W., Oliveira P.: *Mar. Environ. Res.* 47, 137 (1999).
 67. Elliott J. E., Scheuhammer A. M.: *Mar. Pollut. Bull.* 34, 794 (1997).
 68. *Commission on Life Sciences, Toxicological Effects of Methylmercury*, The National Academies Press, Health Effects of Methylmercury, s. 147 – 249. <http://books.nap.edu/books/0309071402/html/147.html>, staženo 20.1.2005.
 69. Diner B., Brenner B.: *Toxicity - Mercury.*, in: Ervin M., Van de Voort J.T., Harchelroad F., Halamka J., Roberge R. J. (Ed.): *Medicine, Instant Access to the Minds of Medicine.* <http://www.emedicine.com/EMERG/topic813.htm#>, staženo 15.12.2004.
 70. *Toxicological Profile for Mercury* – U.S. Department of Health and Human Services, str. 29-161. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999).
 71. Kostyniak N. Y.: *State Dent. J.* 64, 40 (1998).
 72. Horvat M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 981 (2002).
 73. Von Burg R., Greenwood M. R.: *Metals and their Compounds in the Environment (Occurrence, Analysis and Biological Relevance).* VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1991.
 74. Mizanur Rahman G. M., ‘Skip’ Kingston H. M.: *Anal. Chem.* 76, 3548 (2004).
 75. Štefanidesová V., Seidlerová J., Dvorská R.: *Chem. Listy* 96, 117 (2002).
 76. Monperrus M., Rodriguez Martin-Doimeadios R. C.: *Anal. Chem.* 75, 4095 (2004).
 77. Foy G. P., Pacey G. E.: *Talanta* 61, 849 (2003).
 78. Lorenzo R. A., Vázquez M. J., Carro A. M., Cela R.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 18, 410 (1999).
 79. Díez S., Bayona M.: *J. Chromatogr., A* 963, 345 (2002).

80. Huang C.-W., Jiang S.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 681 (1993).
81. Harrington C. F.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 19, 167 (2000).
82. Dočekalová H., Clarisse O., Salomon S., Wartel M.: *Talanta* 57, 145 (2002).
83. Han Y., Kingston H. M., Boylan H. M., Rahman G. M. M., Shah S., Richter R. C., Link D. D., Bhandari S.: *Anal. Bioanal. Chem.* 375, 428 (2003).
84. Ciba J., Zolotajkin M., Kluczka J., Loska K., Cebula J.: *Waste Manage. Res.* 23, 897 (2003).
85. Bloom N. S., Preus E., Katon J., Hiltner M.: *Anal. Chim. Acta* 479, 233 (2003).
86. Rio S., Delebarre A.: *Fuel* 82, 153 (2003).
87. Ramalhosa E., Ríó Segade S., Pereira E., Vale C., Duarte A.: *Anal. Chim. Acta* 448, 135 (2001).
88. Segade S. R., Bendicho C.: *Talanta* 48, 477 (1999).
89. Liang L.-N., Jiang G.-B., Liu J.-F., Hu J.-T.: *Anal. Chim. Acta* 477, 131 (2003).
90. Segade S. R., Tyson J. F.: *Spectrochim. Acta, Part B* 58, 797 (2003).
91. Ubillús F., Alegria A., Barberá R., Farré R., Lagarda M. J.: *Food Chem.* 71, 529 (2000).
92. Welz B.: *Atomic Absorption Spectrometry*. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim 1985.
93. Shabani A. M. H., Dadfarnia S., Nasirizadeh N.: *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1388 (2004).
94. Ariza J. L., Lorenzo F., García-Barrera T.: *J. Chromatogr., A* 1056, 139 (2004).
95. Sychra V., Svoboda V., Rubeška I.: *Atomic Fluorescence Spectroscopy*. Van Nostrand Reinhold Comp. Ltd., Amsterdam 1975.
96. Labatzke T., Schlemmer G.: *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1075 (2004).
97. Bagheri H., Gholami A.: *Talanta* 55, 1141 (2001).
98. Cava-Montesinos P., Ródenas-Torrallba E., Morales-Rubio Á., Cervera M. L., Guardia M.: *Anal. Chim. Acta* 506, 145 (2004).
99. Chiou C. S., Jiang S. J., Danadurai S. K.: *Spectrochim. Acta, Part B* 56, 1133 (2001).
100. Chen S. S., Chou S. S., Hwang D. F.: *J. Chromatogr., A* 1024, 209 (2004).
101. Ribeiro A. S., Vieira M. A., Curtius A. J.: *Spectrochim. Acta, Part B* 59, 243 (2004).
102. Gelaude I., Dams R., Resano M., Vanhaecke F., Moens L.: *Anal. Chem.* 74, 3833 (2002).
103. Mosulishvili L. M., Kirkesali E. I., Belokobylsky A. I., Khizanishvili A. I., Frontasyeva M. V., Pavlov S. S., Gundovina S. F.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30, 87 (2002).
104. Markesbery W., Ehmann W. D., Candy J. M., Ince P. G., Shaw P. J., Tandon L., Deibel M. A.: *Neurodegeneration* 4, 383 (1995).
105. Buffle J., Tercier-Waeber M. L.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 24, 172 (2005).
106. Börjesson J., Mattsson S.: *Appl. Radiat. Isot.* 46, 571 (1995).
107. Liao G., Hollerman W. A., Glass G. A.: *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* 179, 585 (2001).
108. Gerab F., Artaxo P., Swietlicki E., Pallon J.: *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B* 136, 318 (1998).
109. Gómez-Ariza J. L., Barrera T. G., Lorenzo F., Bernal V., Villegas M. J., Oliveira V.: *Anal. Chim. Acta* 524, 15 (2004).
110. Allibone J., Fatemian E., Walker P. J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 235 (1999).
111. Komárek J.: *Atomová absorpční spektrometrie*. MU, Brno 2000.
112. Jitaru P., Infante H. G., Adams F. C.: *Anal. Chim. Acta* 489, 45 (2003).
113. Pracovní návod AFS, P S Analytical. GB 2001.
114. Pracovní návod AMA. Altec, Praha 2002.
115. Westöö G.: *Acta Chem. Scand.* 20, 2131 (1966).
116. Vázquez M. J., Abuín M., Carro A. M., Lorenzo R. A., Cela R.: *Chemosphere* 39 (7), 1211 (1999).
117. Quevauviller P., Filippelli M., Horvat M.: *TrAC Tr. Anal. Chem.* 19, 157 (2000).
118. Armstrong H. E. L., Corns W. T., Stockwell P. B., Connor G. O., Ebdon L., Evans E. H.: *Anal. Chim. Acta* 390, 245 (1999).
119. Pandit G. G., Jha S. K., Tripathi R. M., Krishnamoorthy T. M.: *Sci. Total Environ.* 205, 267 (1997).
120. Dong L.-M., Yan X.-P., Li Y., Jiang Y., Wang S.-W., Jiang D.-Q.: *J. Chromatogr., A* 1036, 119 (2004).
121. Rodil R., Carro A. M., Lorenzo R. A., Abuín M., Cela R.: *J. Chromatogr., A* 963, 313 (2002).
122. Abuín M., Carro A. M., Lorenzo R. A.: *J. Chromatogr., A* 889, 185 (2000).
123. Špička J., Svoboda L., Janoušková D.: *Chem. Listy* 97, 1024 (2003).
124. Leemakers M., Nguyen H. L., Kurunczi S., Vanneste B., Galletti S., Baeyens W.: *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 327 (2003).
125. Frech W., Snell J. P., Sturgeon R. E.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 1347 (1998).
126. Snell J. P., Qian J., Johansson M., Smit K., Frech W.: *Analyst* 121, 1055 (1998).
127. Stoickev T., Martin-Dolmeadios R. C. R., Tessier E., Amouroux D., Donard O. F. X.: *Talanta* 62, 433 (2004).
128. Sánchez D. M., Martín R., Morante R., Marín J., Munuera M. L.: *Talanta* 52, 671 (2000).
129. Montuori P., Jover E., Alzaga R., Diez S., Bayona J. M.: *J. Chromatogr., A* 1025, 71 (2004).
130. He B., Jiang G., Ni Z.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 1141 (1998).
131. Parkinson D.-R., Bruheim I., Christ I., Pawliszyn J.: *J. Chromatogr., A* 1025, 77 (2004).
132. Cai Y., Jaffé R., Alli A., Jones R. D.: *Anal. Chim. Acta* 334, 251 (1996).
133. Jitaru P., Adams F. C.: *J. Chromatogr., A* 1055, 197 (2004).
134. Grinberg P., Campos R. C., Mester Z., Sturgeon R. E.: *Spectrochim. Acta, Part B* 58, 427 (2003).
135. Gerbersmann C., Heisterkamp M., Adams F. C., Broekaert J. A. C.: *Anal. Chim. Acta* 350, 273 (1997).

136. Blanco R. M., Villanueva M. T., Sánchez –Uría J. E., Sanz-Medel A. S.: *Anal. Chim. Acta* 419, 137 (2000).
137. Wilken R.-D., Nitschke F., Falter R.: *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 149 (2003).
138. Hu Q.-F., Yang G.-G., Zhao Y.-Y., Yin J.-Y.: *Anal. Bioanal. Chem.* 375, 831 (2003).
139. Quarnstrom J., Tu Q., Frech W., Ludke C.: *Analyst* 125, 1193 (2000).
140. Montes-Bayón M., DeNicola K., Caruso J. A.: *J. Chromatogr., A* 1000, 457 (2003).
141. Palenzuela B., Manganiello L., Rios A., Valcárcel M.: *Anal. Chim. Acta* 511, 289 (2004).
142. Medina I., Rubi E., Mejuto M. C.: *Talanta* 40, 1631 (1993).
143. Gaspar A., Pager Cs.: *Chromatographia* 56, S115 (2002).
144. Carro-Díaz A. M., Lorenzo-Ferreira R. A., Cela-Torrijos R.: *J. Chromatogr., A* 730, 345 (1996).
145. Manganiello L., Arce L., Rios A., Valcarcel M.: *J. Sep. Sci.* 25, 310 (2002).
146. Jones P., Hardy S.: *J. Chromatogr., A* 765, 345 (1997).
147. Hardy S., Jones P.: *J. Chromatogr., A* 791, 333 (1997).
148. Liu W. P., Lee H. K.: *J. Chromatogr., A* 796, 385 (1998).
149. Liu W. P., Lee H. K.: *Anal. Chem.* 70, 2666 (1998).
150. Liu W. P., Lee H. K.: *Electrophoresis* 20, 2475 (1999).
151. Lee T.-H., Jiang, S.-J.: *Anal. Chim. Acta* 413, 197 (2000).
152. Tu Q., Quarnstrom J., Frech W.: *Analyst* 125, 705 (2000).
153. Yan X. P., Yin X. B., Jiang D. Q., He X. W.: *Anal. Chem.* 75, 1726 (2003).
154. Lai E. P. C., Zhang W. G., Trier X., Georgi A., Kowalski S., Kennedy S., Muslim M. T., Dabek-Zlotorzynska E.: *Anal. Chim. Acta* 364, 63 (1998).
155. Kappes T., Hauser P.: *Analyst* 124, 1035 (1999).

P. Houserová, K. Janák, P. Kubáň, J. Pavlíčková, and V. Kubáň (*Department of Chemistry and Biochemistry, Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno*):
Chemical Forms of Mercury in Aquatic Ecosystems – Properties, Levels, Cycle and Determination

Sources, properties and mechanisms of formation of mercury species mainly in aquatic ecosystems are reviewed. Methods of isolation and purification using classical sequential leaching, solvent extraction, microwave extraction and modern techniques, such as supercritical fluid extraction and solid phase extraction, are discussed. Hyphenated techniques combining gas chromatography with spectrometric detectors, and liquid chromatography and capillary electrophoresis with UV-VIS spectrophotometric detectors, atomic absorption, atomic emission and atomic fluorescence detectors or electrochemical detectors are described. Some recommendations for sample collection and treatment and for quantification of individual mercury species are given.