

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta životního prostředí

Katedra geoenvironmentálních věd



**Vyluhovatelnost kontaminantů v půdě
a rhizosféře po aplikaci nanoželeza**

Diplomová práce

VEDOUCÍ PRÁCE: Mgr. Martina Vítková, Ph.D.

DIPLOMANTKA: Bc. Eva Dragounová

2015

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra geoenvironmentálních věd

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Eva Dragounová

Aplikovaná ekologie

Název práce

Vyluhovatelnost kontaminantů v půdě a rhizosféře po aplikaci nanoželeza

Název anglicky

Leachability of contaminants in soil and rhizosphere after the application of nano zero-valent iron

Cíle práce

Hlavním cílem diplomové práce je pomocí laboratorních experimentů zjistit vliv použití nanoželeza na uvolňování rizikových prvků a na základní vlastnosti kontaminované půdy, zhodnotit využití daných extrakčních metod a posoudit účinnost chemické stabilizace kontaminované půdy pomocí nanoželeza, a to se zaměřením na podmínky v rhizosféře.

Metodika

1. Na základě doporučené a další vyhledané literatury bude vypracována rešerše zahrnující problematiku půd znečištěných metalurgickou činností (zejména Pb a Zn), možnosti remediace půd (chemická stabilizace, fytostabilizace), dále popis nanoželeza a jeho významu a využití při stabilizaci kontaminantů v půdě, vliv podmínek prostředí na vyluhovatelnost rizikových prvků, popis a význam rhizosféry při studiu chování kontaminantů apod.
2. V metodické části diplomantka popíše testovanou půdu, nanoželezo a jeho aplikaci, experimentální uspořádání, a také metody zpracování a analýzy vzorků.
3. Praktická část bude zahrnovat (i) přípravu půdy s přidavkem nanoželeza a jeho inkubaci v půdě a (ii) zejména sadu extrakčních metod pro posouzení vyluhovatelnosti rizikových prvků z kontaminované půdy v různých podmínkách. Laboratorní experimenty, přípravu vzorků a zpracování analytických dat bude studentka provádět samostatně pod dohledem vedoucí DP. Výsledky budou prezentovány v písemné a grafické podobě.

Doporučený rozsah práce

50 stran (jinak dle potřeby)

Doporučené zdroje informací

- ČERNÍK M., 2010: Chemicky podporované in situ sanační technologie. Vydavatelství VŠCHT, Praha, 348 s.
- GIL-DÍAZ M. M., PÉREZ-SANZ A., VICENTE M. A. et LOBO M. C., 2014: Immobilisation of Pb and Zn in soils using stabilised zero-valent iron nanoparticles: effects on soil properties. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 42 (12): 1776-1784.
- CHEN H. M., ZHENG C. R., TU C. et SHEN Z. G., 2000: Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, 41 (1-2): 229-234 pp.
- JONES D. et WILLET V., 2006: Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 991-999 pp.
- KABATA-PENDIAS A., 2011: Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, 505 p.
- KOMÁREK M., VANĚK A. et ETTLER V., 2013: Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides- A review. *Environmental Pollution*, 172: 9-22 pp.
- KUMPIENE J., LAGERKVIST A. et MAURICE C., 2006: Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review. *Waste Management* 28 (1): 215-225 pp.
- NOVÁKOVÁ T., ŠVÁB M. et ŠVÁBOVÁ M., 2009: Využití nanočástic v dekontaminačních technologiích: současný stav. *Chem. Listy*, 103: 524-532 pp.
- QUEVAUVILLER P., 1998: Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis. I. Standardization. *Trends in Analytical Chemistry*, 17 (5): 289-298.
- TRAKAL L., KOMÁREK M., SZÁKOVÁ J., ZEMANOVÁ V. et TLUSTOŠ P., 2011: Biochar application to metal-contaminated soil: Evaluating of Cd, Cu, Pb and Zn sorption behavior using single- and multi-element sorption experiment. *Plant, soil and environment* 57 (8), 372-380 pp.

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Mgr. Martina Vítková, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 25. 3. 2015

doc. RNDr. Michael Komárek, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 26. 3. 2015

prof. Ing. Petr Sklenička, CSc.

Děkan

V Praze dne 22. 04. 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Vyluhovatelnost kontaminantů v půdě a rhizosféře po aplikaci nanoželeza“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne 22. 4. 2015

.....

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala především vedoucí Mgr. Martině Vítkové, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, vstřícný přístup, užitečné rady a trpělivost. Děkuji také Ing. Marii Králové, Mgr. Sylvě Číhalové, Ing. Zuzaně Michálkové a RNDr. Václavu Tejneckému, Ph.D. za pomoc v laboratoři. Dále bych chtěla vyjádřit velké díky své rodině za ochotnou podporu během mého studia.

V Praze dne 22. 4. 2015

.....

Abstrakt

Antropogenní emise toxických kovů z hutního průmyslu jsou celosvětovým problémem. Jedním z řešení remediace kontaminovaných půd je chemicky podporovaná stabilizace kovů v půdě, při níž dochází ke snížení mobility kovů a v důsledku toho k zabránění jejich migrace do podzemních vod či přenosu do potravního řetězce. Nanoželezo (nZVI) má dobrý potenciál pro stabilizaci kovů, nicméně pro posouzení jeho účinnosti a stálosti je nezbytný podrobný výzkum chování částic nZVI v půdě, a to zejména interakcí v rhizosféře, kde je mobilita kovů ovlivňována kořenovými exudáty.

Práce je zaměřena na zjištění vyluhovatelnosti kovů a zhodnocení účinnosti nZVI při stabilizaci kovů v různých půdních podmínkách. K tomuto účelu bylo použito několik extrakčních postupů: HNO_3 , KCl, H_2O , roztok RHIZO (směs nízkomolekulárních organických kyselin, simulující podmínky v rhizosféře) a sekvenční extrakce, která popisuje vazbu kovů na jednotlivé geochemické frakce. Dále byly sledovány změny v základních půdních charakteristikách jako je pH, DOC, Eh a koncentrace dalších iontů, které jsou důležité při posuzování procesu stabilizace.

Porovnání extrakčních metod vykazovalo následující posloupnost extrahovatelného Zn: $\text{HNO}_3 \gg \text{RHIZO} > \text{KCl} \gg \text{H}_2\text{O}$ pro půdu stabilizovanou nZVI i kontrolní (tj. bez nZVI). Množství vyluhovaného Pb bylo v posloupnosti $\text{HNO}_3 \gg \text{KCl} > \text{RHIZO} \gg \text{H}_2\text{O}$ u nestabilizované půdy a po přidavku nZVI v pořadí $\text{HNO}_3 \gg \text{KCl} > \text{H}_2\text{O} > \text{RHIZO}$, a to v důsledku zvýšené koncentrace DOC a přítomnosti konkurenčních iontů při extrakci H_2O .

Aplikace nZVI významně zvýšila pH půdy. Stabilizace Pb a Zn pomocí nZVI byla obecně účinná s výjimkou extrakce H_2O v případě Pb, kdy naopak došlo k většímu uvolňování u stabilizované půdy. Nejúčinnější byla stabilizace Pb/Zn při extrakci KCl, kde došlo ke snížení koncentrace okolo 90 %. Výsledky sekvenční extrakce prokázaly efektivní imobilizaci Zn po aplikaci nZVI, nicméně u Pb došlo ke zvýšení koncentrace Pb vázaného na výměnnou frakci. Vlivem organických kyselin obsažených v činidle RHIZO, došlo při této extrakci k nárůstu koncentrace DOC u stabilizované půdy. I přes zvýšené množství DOC byla stabilizace účinná pro Pb i Zn, přičemž koncentrace Zn klesla o 40–44 % a u Pb byl pokles o 26–35 %.

Použití nZVI pro stabilizaci kovů v půdním prostředí se ukázalo jako účinná metoda, a to i v přítomnosti rostlinných exudátů (tj. při potenciální fytostabilizaci). Nicméně na procesu imobilizace/mobilizace kontaminantů se podílí celá řada faktorů, jako jsou pH, DOC, Eh či obsah anorganických/organických iontů, proto je nutné sledovat změny těchto parametrů a jejich vzájemné interakce.

Klíčová slova: extrakce, kořenové exudáty, nanoželezo, Pb, podporovaná fytostabilizace, Zn.

Abstract

Anthropogenic emissions of toxic metals from smelters represent a global problem. Potential solution of the remediation of contaminated soil is the chemically assisted stabilisation of metals in soil, which involves decrease in their mobility, thus preventing from their migration into groundwater or their entry into the food chain. Nano zero-valent iron (nZVI) has a good potential for stabilising metals; however, detailed research on the behaviour of nZVI particles in soils is necessary for evaluating their efficiency and stability, especially in the interactions with rhizosphere where the mobility of toxic metals is influenced by root exudates.

The study is focused on the determination of metalleachability and evaluation of the effectiveness of nZVI particles to stabilise metals under different soil conditions. For this purpose, several extraction procedures were used: HNO₃, KCl, H₂O, RHIZO solution (a mixture of low molecular weight organic acids, simulating conditions in the rhizosphere) and sequential extraction, which describes the binding of metals to individual geochemical fractions. Also, changes in basic soil characteristics were monitored (pH, DOC, Eh and the concentration of other ions), which are important parameters in assessing the stabilisation process.

Individual extractions were compared with following order of extractable Zn: HNO₃ >> RHIZO > KCl >> H₂O for the soil stabilised with nZVI and control soil (i.e. without nZVI). The amount of extracted Pb was in the sequence: HNO₃ >> KCl > RHIZO >> H₂O in case of non-stabilised soil. After nZVI addition the concentration of Pb followed the order HNO₃ >> KCl > H₂O > RHIZO, due to elevated concentrations of DOC and the presence of competing ions during H₂O extraction.

The application of nZVI significantly increased the soil pH. The stabilisation of Pb and Zn using nZVI particles was generally effective except for the extraction with H₂O in case of Pb, conversely there was a greater release in the stabilised soil. The most effective stabilisation of Pb/Zn was observed during KCl extraction, where the decrease in concentrations were of about 90%. Sequential extraction showed effective Zn immobilisation after nZVI addition; however, in case of Pb there was an increase in Pb concentration bound to the exchangeable fraction. During RHIZO extraction the concentration of DOC increased due to organic acids added; despite that, the stabilisation was effective for Pb and Zn, wherein Zn concentration decreased by 40–44% and Pb decreased by 26–35%.

Using nZVI to stabilise metals in the soil environment proved to be an effective method, even in the presence of plant exudates (i.e. during potential phytostabilisation). However, the process of immobilization/mobilization of contaminants is influenced by a number of factors such as pH, DOC, Eh or content of inorganic/organic ions; it is therefore necessary to monitor the changes of these parameters and their mutual interactions.

Key words: aided phytostabilisation, extraction, nanoiron, Pb, root exudates, Zn.

Obsah

| | |
|---|----|
| 1. Úvod..... | 12 |
| 2. Cíle práce | 13 |
| 3. Problematika půd znečištěných metalurgickým průmyslem..... | 14 |
| 4. Možnosti remediace půd | 15 |
| 4.1. Fytostabilizace | 17 |
| 4.1.1. Nevýhody fytostabilizace..... | 18 |
| 4.1.2. Výhody fytostabilizace | 19 |
| 4.2. Podporovaná fytostabilizace | 19 |
| 5. Nanoželezo..... | 21 |
| 5.1. Vlastnosti částic nanoželeza..... | 21 |
| 5.2. Reakce rizikových prvků s nanoželezem | 22 |
| 6. Vliv podmínek prostředí na vyluhovatelnost rizikových prvků..... | 24 |
| 6.1. Typ a speciace kovů..... | 24 |
| 6.1.1. Zinek | 24 |
| 6.1.2. Olovo..... | 25 |
| 6.2. Adsorpce a sorpční kapacita půdy | 25 |
| 6.3. pH..... | 26 |
| 6.4. Redoxní potenciál – Eh | 26 |
| 6.5. Organické látky | 27 |
| 6.6. Mikroorganismy..... | 27 |
| 7. Popis a význam rhizosféry při studiu kontaminantů | 28 |
| 7.1. Kořenové exudáty | 29 |
| 8. Metodika | 30 |
| 8.1. Testovaný materiál..... | 30 |
| 8.1.1. Nanoželezo..... | 30 |
| 8.1.2. Půda..... | 30 |
| 8.1.3. Příprava vzorků půdy | 31 |
| 8.2. Stanovení pH půdy..... | 31 |
| 8.2.1. Materiály a přístroje..... | 31 |
| 8.2.2. Stanovení pH výluhu deionizovanou vodou | 31 |
| 8.2.3. Stanovení pH výluhu roztokem KCl..... | 32 |
| 8.3. Extrakční metody | 32 |

| | | |
|--------|--|----|
| 8.3.1. | Materiály a přístroje | 32 |
| 8.3.2. | Oxalátová extrakce..... | 33 |
| 8.3.3. | Extrakce HNO ₃ | 33 |
| 8.3.4. | Extrakce RHIZO | 34 |
| 8.3.5. | Stanovení DOC | 34 |
| 8.4. | Stanovení WHC | 35 |
| 8.5. | Sekvenční extrakce | 35 |
| 8.5.1. | Postup..... | 35 |
| 8.6. | Experiment s rhizoboxy | 36 |
| 8.6.1. | Materiály a přístroje..... | 36 |
| 8.6.2. | Průběh experimentu | 37 |
| 8.7. | Statistické zpracování dat..... | 37 |
| 9. | Výsledky práce..... | 38 |
| 9.1. | Vliv nanoželeza na pH půdy | 38 |
| 9.2. | Extrakční metody | 38 |
| 9.2.1. | Oxalátově výměnné Fe, Mn a Al | 38 |
| 9.2.2. | Charakteristiky půdy při extrakci HNO ₃ | 39 |
| 9.2.3. | Charakteristiky půdy při extrakci RHIZO..... | 40 |
| 9.2.4. | Charakteristiky půdy při extrakci H ₂ O a KCl | 44 |
| 9.2.5. | Porovnání extrakčních metod..... | 47 |
| 9.3. | Stanovení WHC | 49 |
| 9.4. | Sekvenční extrakce | 49 |
| 9.5. | Experiment s rhizoboxy – porovnání pH | 50 |
| 10. | Diskuse..... | 51 |
| 10.1. | Uvolňování Pb a Zn v závislosti na extrakčním činidle..... | 51 |
| 10.2. | Posouzení stabilizace kovů pomocí nZVI..... | 51 |
| 10.3. | Vliv simulovaných rhizosférických podmínek na vyluhovatelnost kovů | 52 |
| 11. | Závěr | 54 |
| 12. | Přehled literatury a použitých zdrojů | 55 |

Seznam použitých zkratk

BNP – bimetalické nanočástice

D15 – 15-min extrakce deionizovanou vodou

D24 – 24- hod extrakce deionizovanou vodou

DL – detekční limit

DOC – rozpuštěný organický uhlík

E0 – redoxní potenciál

Eh – oxidačně redukční potenciál

IC – iontová chromatografie

ICP-OES – emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

K15 – 15-min extrakce KCl

K24 – 24-hod extrakce KCl

KGEV – katedra geoenvironmentálních věd

KVK – kationtově výměnná kapacita

LMWOA – nízkomolekulární organické kyseliny

nZVI – nanoželezo (nano zero-valent iron)

PE – polyethylen

pH_{H2O} – pH stanovení pomocí H₂O

pH_{KCl} – pH stanovení pomocí KCl

R – rhizosféra

R2 – 2-hod extrakce RHIZO

R24 – 24-hod extrakce RHIZO

RHIZO – směs organických kyselin, simulující kořenové exudáty

TOC – celkový organický uhlík

V – volná půda

WHC – retenční vodní kapacita

Seznam příloh

Příloha 1. Výsledné koncentrace prvků z oxalátové extrakce.

Příloha 2. Výsledné koncentrace prvků z extrakce HNO_3 .

Příloha 3. Výsledné koncentrace prvků z RHIZO extrakce.

Příloha 4. Koncentrace anorganických a organických aniontů při extrakci RHIZO.

Příloha 5. Výsledné koncentrace prvků při extrakci H_2O a KCl .

Příloha 6. Koncentrace anorganických a organických aniontů při extrakci H_2O .

Příloha 7. Koncentrace Zn a Pb v jednotlivých frakcích sekvenční extrakce.

Příloha 8. Abstrakt na konferenci Goldschmidt 2015, 16.-21. 8. 2015, Praha

1. Úvod

Kontaminace půdy rizikovými prvky z antropogenní činnosti je velkým problémem pro životní prostředí a lidské zdraví (Waterlot et al., 2013). Hutní průmysl, výroba a použití syntetických produktů (např. pesticidy, barvy, baterie, průmyslové odpady, aplikace kalu), může mít za následek znečištění městských a zemědělských půd toxickými kovy (USDA, 2006). Tyto kovy nejsou biologicky odbouratelné, hromadí se v životním prostředí a následně se dostávají do potravního řetězce. Přítomnost kovů v půdě představuje potenciální riziko, nicméně jejich koncentrace není mírou kontaminace. Celková koncentrace kovů v půdě neposkytuje informace o jejich chování v prostředí a možném dopadu na organismy. Posouzení kontaminace kovy souvisí s jejich mobilitou a biologickou dostupností (tj. schopnost živého organismu přijmout chemikálii potravou či z vnějšího prostředí do té míry, že se chemické látky mohou zapojit do metabolismu organismu) (Bolan et al., 2014; Gil-Díaz et al., 2014a; Li et al., 2015). Mobilita kovů se určuje pomocí různých chemických extrakcí a závisí na fyzikálních a chemických vlastnostech půdy, speciaci kovů a biologických organismech (Li et al., 2015).

Z těchto důvodů je potřeba věnovat značnou pozornost možnostem remediace rizikových kovů v půdním prostředí (Ali et al., 2013). Hlavním cílem mnoha *in-situ* remediačních strategií je omezení mobility a biodostupnosti kovu přímo v místě kontaminace (Vangronsveld et Cunningham, 1998). Fytoremediace (využití rostlin pro odstranění či stabilizaci kontaminantů) je považována za alternativní, přírodě blízkou technologii remediace půd (USPA, 2000). Princip imobilizace kontaminantu je využíván při tzv. fytostabilizaci (Soudek et al., 2008). Kořenový systém díky adsorpci, absorpci, komplexaci a precipitaci snižuje možnost vymývání kontaminantu z půdy, sedimentů a kalů. Použitím vhodných stabilizačních činidel je možné ještě zvýšit efektivitu fytostabilizace (tzv. podporovaná fytostabilizace). V současné době je hojně diskutováno využití nanočástic nulamocného železa (nZVI) k imobilizaci rizikových kovů a metaloidů v prostředí, a to především díky potenciálu pro jeho široké uplatnění, vysoké reaktivitě a nízkým nákladům v porovnání s ostatními *in-situ* metodami (Grieger et al., 2010). Částice nZVI se již úspěšně používají pro remediaci podzemních vod, nicméně pro aplikaci nZVI ke stabilizaci rizikových prvků v půdním prostředí je potřeba detailní výzkum.

Podmínky ovlivňující mobilitu kovů se však mohou lišit mezi rhizosférou a volnou půdou. Rhizosféra je úzká zóna v bezprostřední blízkosti kořenového systému (Bais et al., 2001; Bertin et al., 2003). Děje v této zóně jsou ovlivněny činností kořenů, které vyměšují směsi organických kyselin a dalších látek, tzv. kořenové exudáty. V důsledku změny půdních podmínek (pH, Eh, DOC) pak může dojít k mobilizaci toxických kovů a následnému vyluhování do podzemních vod (Lavelle et Spain, 2001). Z tohoto důvodu je pro posouzení účinnosti podporované fytostabilizace pomocí nZVI nezbytné sledovat zejména interakce v rhizosféře.

2. Cíle práce

Hlavním cílem diplomové práce bylo pomocí laboratorních experimentů zjistit uvolňování rizikových prvků z kontaminované půdy, zhodnotit využití daných extrakčních metod a posoudit účinnost chemické stabilizace kontaminované půdy pomocí nanoželeza, a to se zaměřením na podmínky v rhizosféře.

3. Problematika půd znečištěných metalurgickým průmyslem

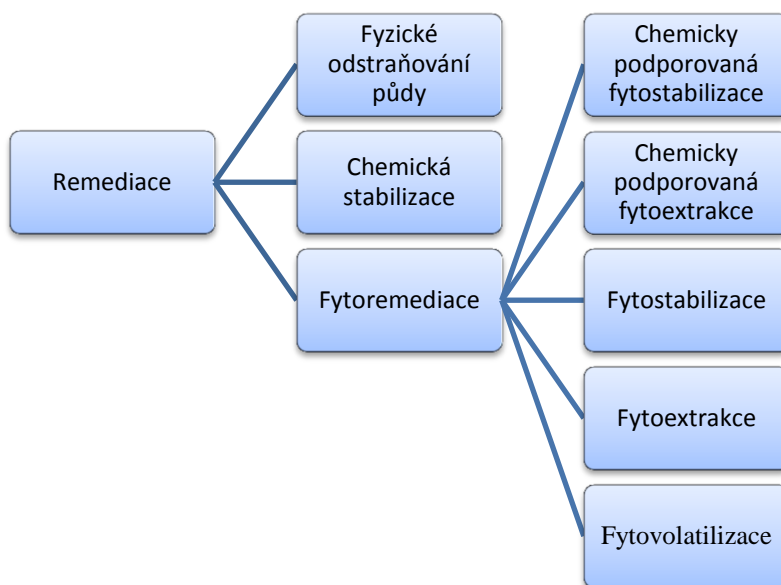
Metalurgický průmysl má často trvalý negativní dopad jak na vodní, tak i na terestrické prostředí (Rybicka, 1996; Fijałkowski et al., 2012). Hutní průmysl přispívá ke znečištění půdy několika způsoby. Jedním z nich jsou například částice aerosolů a prachu, které jsou emitovány do atmosféry a následně ukládány do půdy. Ke kontaminaci půd dochází také z výsypek či struskových hald následkem oxidace kovových fází a postupným vyluhováním do podložní zeminy. Dalším zdrojem znečištění jsou kapalné odpady ze zpracování kovů. Zvýšené riziko kontaminace se může objevit při silných deštích či v době povodní. V metalurgickém průmyslu se pro výrobu slitin a oceli používá celá řada rizikových prvků, mezi které patří např. i Zn a Pb. Ke znečištění životního prostředí může dojít při výrobě těchto materiálů, jejich zpracování na produkty i při jejich likvidaci, či recyklaci (McLean et Bledsoe, 1992; Shu et Zhai, 2014). V důsledku zpracování rud dochází ke kontaminaci prostředí obvykle širší škálou kovů a metaloidů, jako jsou Pb, Zn, Cd, Hg, Sb a As (Shu et Zhai, 2014; Li et al., 2015).

Koncentrace rizikových kovů v půdě v posledních desetiletích vzbudila značnou pozornost (Takáč et al, 2009). Půda je nejen součástí ekosystému, ale také hraje zásadní roli pro lidské přežití (Kabata-Pendias, 2011). Narušení stávající rovnováhy v půdě obvykle vede ke snížení produktivity a kvality zemědělských produktů (Fijałkowski et al., 2012). Půda má velmi důležité a složité funkce jako filtr, úložiště a transformační systém ochrany ekosystému před účinky znečištění. Každé narušení rovnováhy má však negativní vliv na základní vlastnosti a funkce půdy (Kabata-Pendias, 2011).

Kovy a metaloidy jsou jedním z nejvíce rizikových typů kontaminantů, jednak z důvodu jejich rozsáhlé distribuce, dále z důvodu toxicity a v neposlední řadě z důvodů bioakumulace v potravinovém řetězci (McLean et Bledsoe, 1992; Takáč et al., 2009; Douay et al., 2013). Rizikové prvky jsou akumulovány v půdách, kde jsou schopny přetrvávat po dlouhou dobu. Na rozdíl od organických kontaminantů rizikové kovy nepodléhají degradaci a z toho důvodu je jejich odstranění z půdy velmi obtížné (Bolan et al., 2014; Gil-Díaz et al., 2014a). Kovy a metaloidy jsou významnou přirozenou součástí všech půd a ve stopových koncentracích jsou dokonce nezbytné pro rostliny a živočichy, avšak ve vysokých koncentracích mohou být toxické pro člověka i zvířata (Takáč et al, 2009; Violante et al., 2010). Koncentrace kovů v nekontaminované půdě je přímo spojena s geologií matečné horniny, ze které půda vznikla. Chemické složení půdy záleží tedy i na lokální geologii. Úroveň kovů na pozadí lze v kontaminované oblasti určit pouze přímou analýzou nekontaminované půdy (USDA, 2000).

4. Možnosti remediace půd

Pro odstranění rizikových prvků z půdy existuje několik základních remedičních technologií (obr. 1). Jedná se o (i) fyzické odstranění kontaminovaného materiálu z místa kontaminace (metody *ex situ*), (ii) stabilizaci kovů v půdě na místě (metody *in situ*) a (iii) tzv. fytoremediaci, tedy použití rostlin pro zastavení šíření kontaminace nebo extrakci kovů z půd (Lambert et Leven, 2000; Yao et al., 2012; Bolan et al., 2014).



Obr. 1. Metody ošetření půd kontaminovaných rizikovými prvky (Lambert et Leven, 2000; Yao et al., 2012; Bolan et al., 2014).

Fyzické odstraňování půdy je pravděpodobně nejstarším způsobem remediace. Výhodou je kompletní odstranění znečištění z prostředí, nicméně kontaminanty jsou pouze přesunuty na jiné místo, kde musejí být zabezpečeny a monitorovány či dále zpracovány. Nevýhodou tohoto přístupu je riziko rozšíření znečištění při manipulaci s půdou a zejména vysoké finanční náklady spojené s odtěžením a následným zpracováním (Lambert et Leven, 2000; Yao et al., 2012).

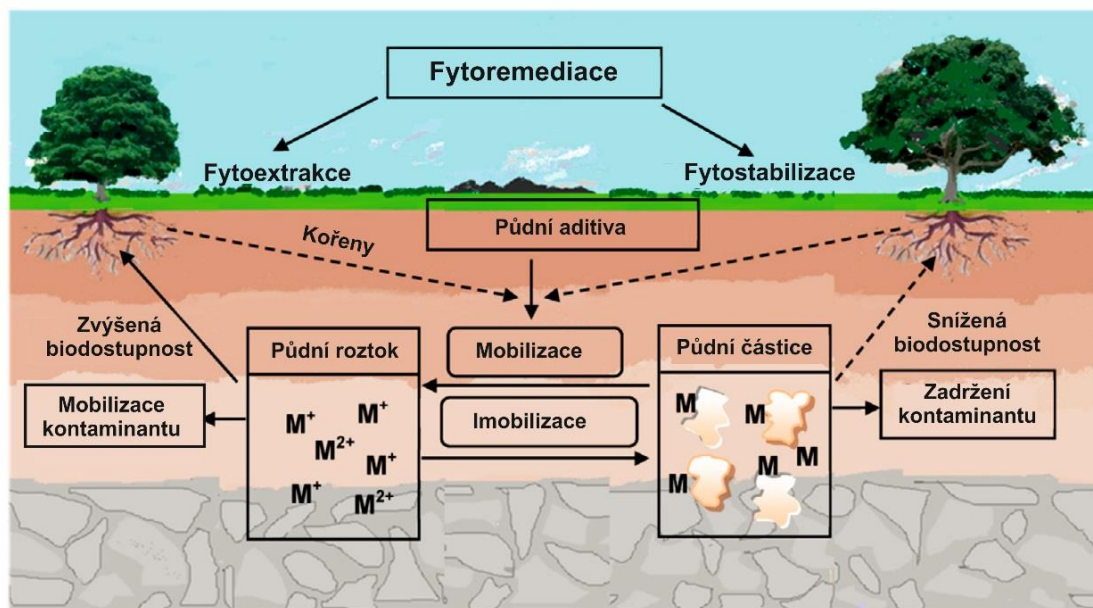
Jedním ze způsobů stabilizace kovů je přidávání chemikálií (tzv. stabilizačních činidel) do půdy. Tato činidla následně tvoří s kovy méně toxické sloučeniny, respektive dochází k sorpčním reakcím kontaminantu na povrch činidla. Rizikové prvky jsou pak ve formě, která není snadno vstřebávána rostlinami, zvířaty nebo lidmi. Potenciální kontaminant tedy sice zůstává v půdě, ale ve stabilizované formě, která nepředstavuje aktuální riziko (Lambert et Leven, 2000; Bolan et al., 2014).

Dalším způsobem je fytoremediace (obr. 2), která je definována jako využití zelených rostlin a s nimi asociovaných mikroorganismů, půdních aditiv a agronomických postupů pro odstranění či transformaci kontaminantů v prostředí (Soudek et al., 2008; Marques et al., 2009). Využití rostlin má výhodu nízkých finančních nákladů a kladného přijetí veřejností (Compernelle et al., 2012).

Nevýhodou fytoředičních technik je však časová náročnost. Použití fytořediace je dále limitováno klimatickými a geologickými podmínkami, jako jsou teplota, nadmořská výška, půdní typ a dostupnost zemědělského vybavení (Marques et al., 2009).

Fytořediace zahrnuje čtyři různé procesy: extrakci kontaminantů z půdy a vody (hlavně kovů a radionuklidů), degradaci organických sloučenin, volatilizaci organických sloučenin a stimulaci mikrobiálního metabolismu v rhizosféře (Soudek et al., 2008; Marques et al., 2009). Mezi hlavní typy fytořediace pro eliminaci rizikových kovů v půdě patří fytovolatilizace, fytoextrakce a fytořtabilizace (obr. 1) (Compernelle et al., 2012). Fytovolatilizace je chemická přeměna toxických prvků na méně toxické, těkavé sloučeniny. Uplatňuje se například u Hg, Se, As (Ali et al., 2013).

Pomocí fytoextrakce jsou kovy přijímány tolerantními rostlinami (obr. 2), a dochází k jejich transportu a ukládání v jednotlivých částech rostliny (Lambert et Leven, 2000). Nevýhodou tohoto typu řediace je nutnost sklizení biomasy a možnost vyluhování kovů do podzemních vod (Bolan et al., 2014). Hyperakumulátory kovů jsou většinou pomalu rostoucí rostliny s nízkou produkcí biomasy a mělkým kořenovým systémem. Podle USPA (2000) jsou pro fytoextrakci přístupné tyto kovy: Ag, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn a metaloidy jako As a Se.



Obr. 2. Znářornění vztahů mezi (i)mobilizací, biodostupností a řediací kovů/metaloidů (Bolan et al., 2014).

4.1. Fytostabilizace

Fytostabilizace (obr. 2) je definována jednak jako imobilizace kontaminantů v půdě, která se odehrává prostřednictvím absorpce a akumulace rizikových kovů na kořeny rostlin, dále pomocí adsorpce na kořeny nebo srážení v rhizosféře. Fytostabilizace je také použití rostlin a rostlinných kořenů pro zabránění šíření znečištění v důsledku vodní a větrné eroze, loužení a rozptýlení půdy (Etim, 2012), kde fytostabilizační pokryv působí jako přírodní bariéra (ITRC, 2009). Rostliny se podílejí na stabilizaci eroze prostřednictvím kořenového systému. Typicky se využívají rostliny s vláknitým kořenovým systémem, jako např. trávy či mokřadní druhy. Snížením mobility kontaminantů se snižuje možnost jejich vstupu do potravinového řetězce (Etim, 2012). Fytostabilizace se uskutečňuje prostřednictvím mikrobiologických a chemických procesů v oblasti rhizosféry či změnami v půdním prostředí. Jak je ukázáno na obr. 3, na snížení pohyblivosti kontaminující látky se podílejí tři mechanismy:

A) *Fytochemická komplexace v kořenové zóně* (obr. 3A):

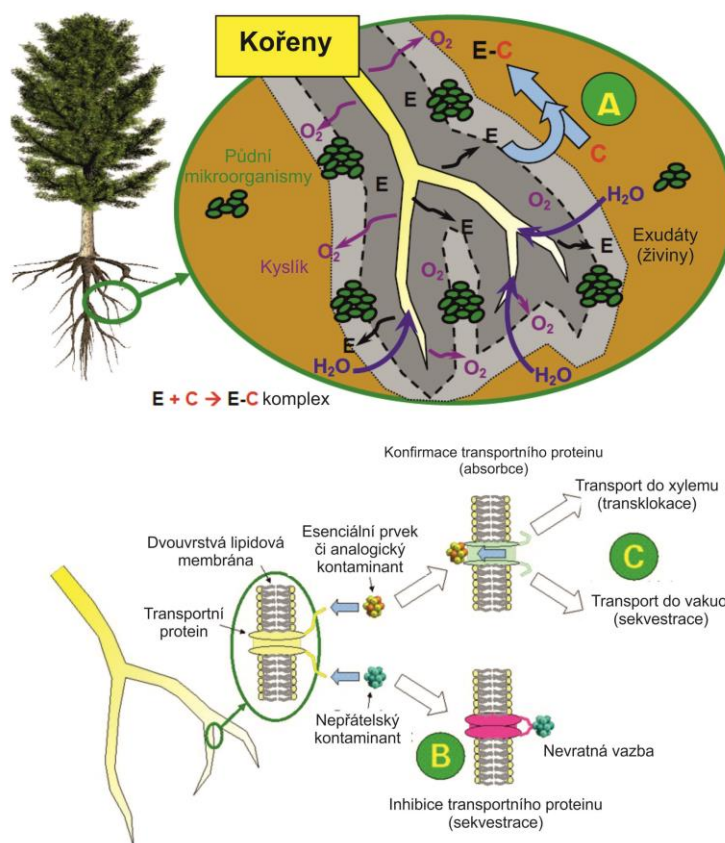
Rostlina může vylučovat do rhizosféry tzv. kořenové exudáty, které ovlivňují chemické vlastnosti rhizosféry. Vylučováním speciálních enzymů následně dochází k vysrážení nebo imobilizaci cílových kontaminujících látek v kořenové zóně. Tento mechanismus však sníží pouze malý zlomek biologicky dostupného kontaminantu.

B) *Inhibice transportního proteinu v kořenové membráně* (obr. 3B):

Transportní proteiny spojené s vnější kořenovou membránou nevratně vážou kontaminant, tím dochází k jeho stabilizaci na povrchu kořene a zabránění vniknutí znečišťujících látek do rostliny.

C) *Vakuolární uchování v kořenových buňkách* (obr. 3C):

Pokud nedojde k vazbě kontaminantu na povrchu kořene, je kontaminant dále transportován proteiny do vakuol, které se z části chovají jako „odpadkový koš“. Kontaminanty zde mohou být tedy izolovány, a tím je zabráněno další translokaci do xylému (ITRC, 2009).



Obr. 3. A – Fytochemická komplexace, B – inhibice transportního proteinu, C – vakuolární uchování (ITRC, 2009).

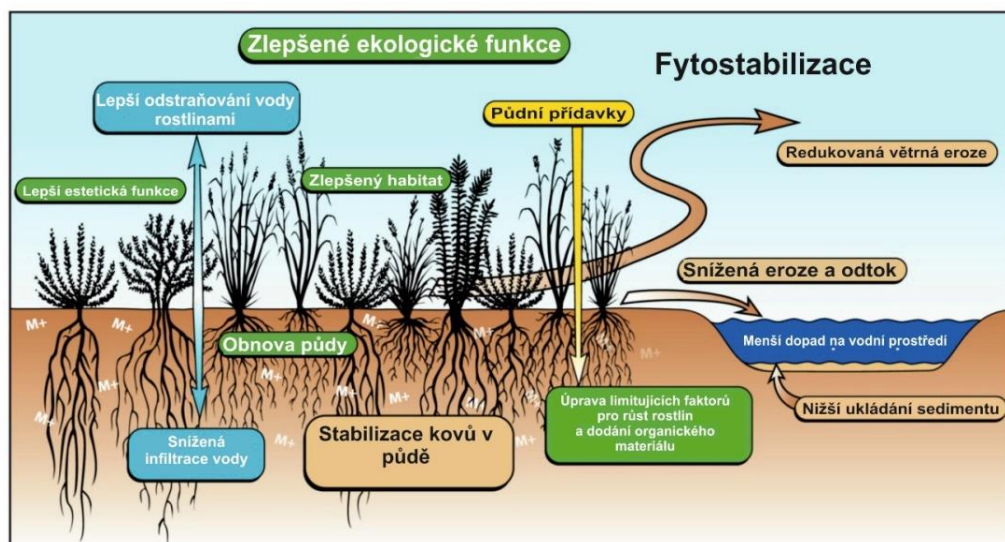
4.1.1. Nevýhody fytostabilizace

Kontaminanty jsou ponechány na místě, takže je nezbytné lokalitu neustále monitorovat. Je nutné sledovat kořenovou zónu, kořenové exudáty, kontaminanty a změny v půdě, aby se zabránilo zvýšení rozpustnosti kovů a jejich loužení. Zvýšená koncentrace kovů může mít na rostliny toxické účinky a tím dojde k zastavení růstu. Pokud jsou použita půdní aditiva, musí se jejich aplikace periodicky opakovat, aby byla zachována účinnost imobilizace (USPA, 2000).

V procesu fytostabilizace hrají roli dvě hlavní komponenty: samotné rostliny a půdní aditiva (např. hnojivo a další, viz kapitola 4.2. *Podporovaná fytostabilizace*). Výběr vhodných rostlin je pro fytostabilizaci zásadní. Rostliny by měly být tolerantní k daným půdním podmínkám, rychle rostoucí, s hustým kořenovým systémem, s dlouhou životností (Marques et al., 2009), měly by být pro danou oblast původní a adaptované na lokální klimatické podmínky (Yoon, 2006). Yoon (2006) ve své práci uvádí, že pro fytostabilizaci jsou vhodné druhy *Phyla nodiflora*, *Paspalum notatum*, *Bidens alba*, *Rubus fruticosus* a *Gentiana pennelliana*. Tyto rostliny prokázaly schopnost akumulovat v kořenech největší koncentrace olova a zinku. Podle Yoon (2006) se hodnoty pohybovaly v rozmezí 575–968 mg/kg Pb a 17–598 mg/kg Zn.

4.1.2. Výhody fytostabilizace

Tato technologie snižuje mobilitu anorganických kontaminantů bez nutnosti odstranění půdy a nevytváří sekundární odpad, který by potřeboval další ošetření. Ve srovnání s ostatními technologiemi jsou u fytostabilizace nižší náklady. Rostlinný pokryv také nepochybně přispívá k obnově ekosystému (obr. 4) (Pierzynski et al., 2002; Ali et al., 2013).



Obr. 4. Výhody fytostabilizace (Pierzynski et al., 2002).

4.2. Podporovaná fytostabilizace

Podporovaná fytostabilizace je kombinací chemické stabilizace a fytostabilizace (Komárek et al., 2013). Přidáním vhodných stabilizačních činidel do půdy lze urychlit proces fytostabilizace. Tento přístup může posunout dynamiku rizikových kovů v prostředí (Adriano et al., 2004). Činidla snižují mobilitu, tedy i dostupnost kontaminantů a jejich uvolňování do prostředí, pomocí různých sorpčních procesů, jako jsou adsorpce na minerální povrchy, tvorba stabilních komplexů s organickými ligandy, povrchové srážení a iontová výměna. Jednotlivé sorpční procesy jsou ovlivněny mnoha faktory jako například pH, redoxním potenciálem, typem půdních složek, výměnnou kapacitou kationtů atd. (Kumpiene et al., 2006). Materiály používané jako stabilizační aditiva jsou obecně hojné a cenově dostupné. Mnohdy to bývají i vedlejší produkty z průmyslové výroby, např. alkalické uhlí, popílek apod. (Adriano et al., 2004).

Mezi činidla, která mění půdní podmínky a jsou schopna imobilizovat rizikové kovy, patří například:

- Organický materiál – kal, kompost, hnůj (Adriano et al., 2004).
- Anorganický materiál na bázi vápnicku – nejčastěji se využívá hydroxid vápenatý ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), uhličitan vápenatý, vápenec (CaCO_3), vápno (CaO) (Chen et al., 2000).
- Pro stabilizaci olova se často používají přídatky obsahující fosfor. Jedná se především o syntetické a přírodní apatity, fosfáty, fosfáty na bázi soli

(Ownby et al., 2005), hydroxyapatity (Shi et Erickson, 2001), kyselina fosforečná (Chen et al., 2003) a jejich kombinace. Mimo jiné se uplatňují i zeolity (Chen et al., 2000) a oxidy železa a manganu (Chen et al., 2000, Komárek et al., 2013).

- Oxidy kovů (zejména Fe) mají díky svým sorpčním vlastnostem významný potenciál pro stabilizaci půd kontaminovaných kovy a metaloidy. Oxidy Fe snižují mobilitu a biologickou dostupnost řady rizikových prvků (Komárek et al., 2013).

5. Nanoželezo

Nanotechnologie se v současné době uplatňují v široké škále oborů a v posledních letech je jim věnována pozornost i v ochraně životního prostředí (Nováková et al., 2009). Jak uvádějí O'Carroll et al. (2013), použití nanočástic železa (nano zero-valent iron, nZVI) bylo zkoumáno od roku 1990. V minulosti se jednalo především o výzkumy zaměřené na čištění podzemních vod, kde nanoželezo ukázalo svůj potenciál k redukci znečišťujících látek jako PCB, chlorovaných rozpouštědel a rizikových kovů. Využití nanočástic elementárního železa se ukazuje být po technické stránce slibnou a ze zdravotního hlediska bezpečnou *in-situ* sanační metodou. Obdobně jako v České republice, tak i v ostatních evropských zemích v poslední době přibývá lokalit, kde byly nanočástice elementárního železa použity pro *in-situ* dekontaminaci podzemních vod v horninovém prostředí (Kvapil et Černík, 2009).

Výhodou této technologie je, že nedochází k vnášení cizorodých látek do prostředí. Železo je čtvrtým nejrozšířenějším prvkem v zemské kůře a je tedy přirozenou součástí půd. Existuje v prostředí převážně ve dvou valencích, a to jako ve vodě relativně rozpustné Fe^{2+} (dvojmocné železo) a ve vodě nerozpustné Fe^{3+} (trojmocného železo). Elementární železo Fe^0 (nulamocné) se vyskytuje například v některých bazických a ultrabazických horninách a v meteoritech (Cundy et al., 2008). Syntetické nanoželezo je na trhu dostupné v několika variantách, jako suspenze v minerálním oleji, prášek, či jako vodná suspenze (Nováková et al., 2009).

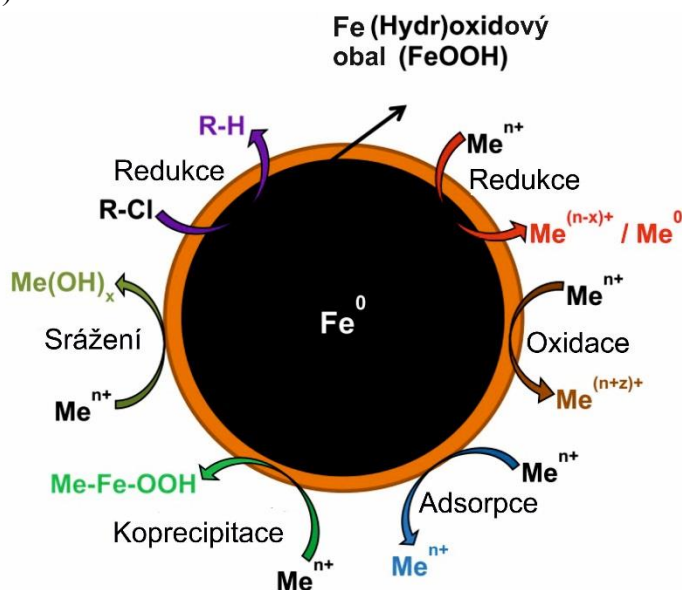
5.1. Vlastnosti částic nanoželeza

Nanoželezo jako nanočástice se vyznačuje tím, že má všechny tři rozměry menší než 100 nm (Nováková et al., 2009). Jak je vidět na obr. 5, nanoželezo se obecně skládá z jádra, které je tvořeno elementárním železem a z obalu tvořeného oxidy železa (Černík, 2010) a hydroxidy železa; tudíž nanočástice železa vykazují vlastnosti jak oxidů (např., jako sorbent), tak kovového železa (např., jako redukční činidlo) (O'Carroll et al., 2013). Díky velkému specifickému povrchu nanočástic se značná část reaktivních atomů vyskytuje na povrchu, na kterém dochází k chemické reakci. Reaktivita nanočástic je tedy vyšší ve srovnání s materiálem vyrobeným z větších částic (Li et al., 2006; Nováková et al., 2009).

Nevýhodou nanočástic je ovšem jejich poměrně rychlá oxidace na vzduchu nebo ve vodném prostředí. Tato oxidace způsobuje nejen ztrátu části redukční síly nanoželeza, ale změnou povrchového náboje mají zoxidované částice větší sklon k agregaci a k ulpívání na materiálu, jehož póry mají procházet, a tím dochází ke ztrátě jejich mobility (Černík, 2010). Jedním ze způsobů, jak zamezit nežádoucímu shlukování a zmírnění oxidace nanoželeza na vzduchu, je stabilizace povrchu nanočástic pomocí chemických látek (Černík, 2010). Existují různé modifikace železa, např. ve formě bimetalických nanočástic (BNP) Fe/Pd, Fe/Ni atd. nebo jako emulze s rostlinným olejem. Dalšími použitelnými materiály jsou např. oxidy MgO, CaO, Al_2O_3 , TiO_2 a směsné oxidy MgO- Al_2O_3 , CaO- Al_2O_3 .

Potažením nanočástic tenkou vrstvou ušlechtilého kovu lze zvýšit reaktivitu nanoželeza (Nováková et al, 2009).

Na velikost, tvar a složení nanočástic má významný vliv především způsob jejich přípravy. V principu jsou možné dvě metody přípravy, a to fyzikální a chemické. Nejpoužívanější jsou chemické metody, konkrétně redukce oxidů železa až na elementární nanoželezo. Fyzikální metody jsou charakteristické tím, že vyprodukované nanočástice bývají proměnlivě velké, jejich průměry se pohybují od 10 nm výše. Příprava probíhá mechanickým mletím hrudkových materiálů (Černík, 2010).



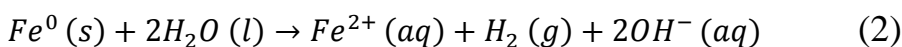
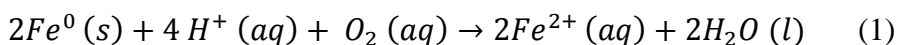
Obr. 5. Stavba nanočástic železa: jádro tvořeno z elementárního železa, obal složen z oxidů a hydroxidů železa (O'Carroll et al., 2013).

5.2. Reakce rizikových prvků s nanoželezem

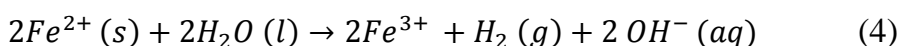
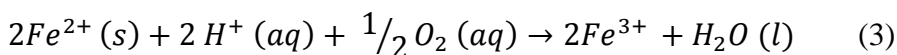
Kinetika interakce nanočástic železa s kovy/metaloidy je poměrně rychlá. Doba reakce se pohybuje dle typu kontaminantu a koncentrace nanoželeza v řádu minut až hodin. Při praktických aplikacích lze měřitelné změny pozorovat řádově ještě po několika týdnech. V laboratorních podmínkách byla pozorována adsorpce arsenu na povrchu železa z 99 % během několika jednotek až desítek minut (Černík, 2010).

Konkrétní mechanismy podílející se na odstranění rizikových prvků pomocí železa závisí na standardním redoxním potenciálu (E_0) kontaminantu. Kovy, které mají E_0 více negativní či podobné nZVI (např. Cd, Zn) podléhají adsorpci na (hydr)oxidový obal. Prvky s E_0 pozitivnějším než nZVI (např. Cr, As, Cu, U, Se) jsou odstraňovány pomocí redukce a srážení. Kontaminanty s E_0 mírně větším než nZVI (např. Pb, Ni) mohou být odstraněny jak redukcí, tak adsorpcí. Dalšími možnými reakcemi jsou oxidace a srážení pomocí Fe oxidů. Probíhající procesy závisí na geochemických parametrech jako například pH, Eh, počáteční koncentraci kovu a speciaci kovu (O'Carroll et al., 2013). Černík (2010) uvádí, že při vyšším pH než 10 a nižším než 4, dochází ke strmému snížení adsorpce arsenu. Gil-Díaz et al. (2014a) uvádí, že samotná aplikace částic nZVI ovlivňuje pH půdy. Nanoželezo

je redukční činidlo, tj. za přítomnosti vody a kyslíku dochází k oxidaci dle následujících rovnic (1) a (2):



Následuje další oxidační reakce, kde dochází ke zvýšení pH v závislosti na pufrační kapacitě půdy, což vede k transformaci kovů do méně rozpustných forem (3) a (4) (Gil-Díaz et al., 2014a):



Například reakcí nanoželeza s Pb^{2+} dochází k výraznému poklesu koncentrace Pb^{2+} v roztoku. Tento pokles je způsoben sorpcí kontaminantu na povrch nanoželeza, přičemž ke snížení koncentrace dochází v první fázi reakce (přibližně v prvních deseti minutách) (Ponder et al., 2000). Účinností nanoželeza při fytostabilizaci Pb a Zn se zabývali Gil-Díaz et al. (2014a). Ve své práci uvádějí, že po aplikaci nanoželeza byla zvýšena imobilizace Pb i Zn, přičemž nanočástice železa byly účinnější při imobilizaci Pb než v případě Zn. –

Interakce nZVI pro různé kovy mohou být kategorizovány jako (O'Carroll et al., 2013):

- Redukce – Cr, As, Cu, In, Pb, Ni, Se, Co, Pd, Pt, Hg, Ag.
- Adsorpce – Cr, As, In, Pb, Ni, Se, Co, Cd, Zn, Ba.
- Oxidace / reoxidace – As, U, Se Pb.
- Koprecipitace – Cr, As, Ni, Se.
- Srážení – Cu, Pb, Cd, Co, Zn.

6. Vliv podmínek prostředí na vyluhovatelnost rizikových prvků

Změny v chemismu půdy mohou zvýšit vyplavování stopových kovů vázaných v půdě. Tyto změny, které ovlivňují rozpustnost kovů, mají přímý vliv také na kvalitu podzemní vody (Linde et al., 2007). Rizikové kovy jsou mobilizovány pomocí různých fyzikálních, chemických a biologických vektorů. Tyto mechanismy zahrnují sorpční procesy, redoxní reakce, jakož i zvětrávací procesy (Bradl et al., 2005). Vazba kovů a forma jejich výskytu závisí na řadě půdních charakteristik, mezi něž patří: granulometrické složení, obsah organické hmoty, oxidačně-redukční potenciál, hodnota pH, sorpční kapacita, výskyt a forma kationtů, obsah hlavních a stopových prvků a aktivita mikroorganismů (Fijalkowski et al., 2012).

6.1. Typ a speciace kovů

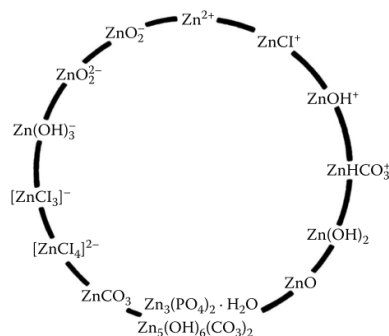
Typ a speciace daného kovu je důležitým faktorem při hodnocení jeho chování v životním prostředí. Formy výskytu rizikových kovů v půdě významně ovlivňují jejich mobilitu. K nejvíce mobilním prvkům patří Cd, Zn a Mo, zatímco nejméně mobilní jsou Cr, Ni a Pb (Fijalkowski et al., 2012).

6.1.1. Zinek

Zinek je po Fe druhým nejhojnějším přechodovým kovem v živých organismech. Zinek je poměrně rovnoměrně rozložen v magmatických horninách, zatímco v sedimentárních horninách se vyskytuje pravděpodobně do 120 mg/kg. Průměrné hodnoty celkového obsahu Zn v půdách po celém světě se pohybují mezi hodnotami 60 a 89 mg/kg. Koncentrace Zn v půdě jsou úzce spjaty s její strukturou a obvykle jsou nejnižší v písčitéch půdách. Zvýšená koncentrace zinku je naopak pozorována ve vápenitých a organických půdách (Bradl et al., 2005; Kabata-Pendias, 2011). Klíčovým procesem, který ovlivňuje koncentraci Zn v půdě, je sorpce.

Zinek se v půdě vyskytuje v následujících formách (obr. 6):

- volné ionty (Zn^{2+} a $ZnOH^+$) a organické komplexy,
- adsorbovaný a vyměnitelný na povrchu koloidní frakce v půdě, která se skládá z jílových částic, huminových sloučenin, hydratovaných oxidů železa a hliníku,
- tvoří sekundární minerály a nerozpustné komplexy (Alloway, 2002).



Obr. 6. Speciace zinku v půdě (Kabata-Pendias, 2011).

6.1.2. Olovo

Olovo je neesenciální a toxický kov, jehož biogeochemický cyklus byl a je do značné míry ovlivněn člověkem. Průměrný obsah Pb v zemské kůře se odhaduje na 15 mg/kg. Celková průměrná hodnota Pb pro různé typy půd je odhadována na 27 mg/kg (Kabata-Pendias, 2011). V prostředí se vyskytuje především jako Pb^{2+} , ale může být přítomen i v oxidačním stavu +4 (Bradl et al., 2005; Kabata-Pendias, 2011). V přírodě se vyskytuje primárně v podobě galenitu (PbS) (Kabata-Pendias, 2011).

Olovo je v porovnání s dalšími stopovými prvky v půdě nejméně mobilní. Geochemie Pb v půdě je ovlivněna třemi hlavními faktory: specifickou adsorpcí na různé pevné fáze, srážením a tvorbou poměrně stabilních komplexů nebo chelátů (Bradl et al., 2005). Rozpustnost Pb může být značně snížena vápněním. Při vysokém pH půdy tvoří Pb sraženiny s hydroxidy, fosfáty nebo uhličitany, či tvoří organické komplexy, které jsou poměrně stabilní. Naopak se zvýšením kyselosti půdy dochází k nárůstu rozpustnosti a mobilizaci Pb (Kabata-Pendias, 2011).

6.2. Adsorpce a sorpční kapacita půdy

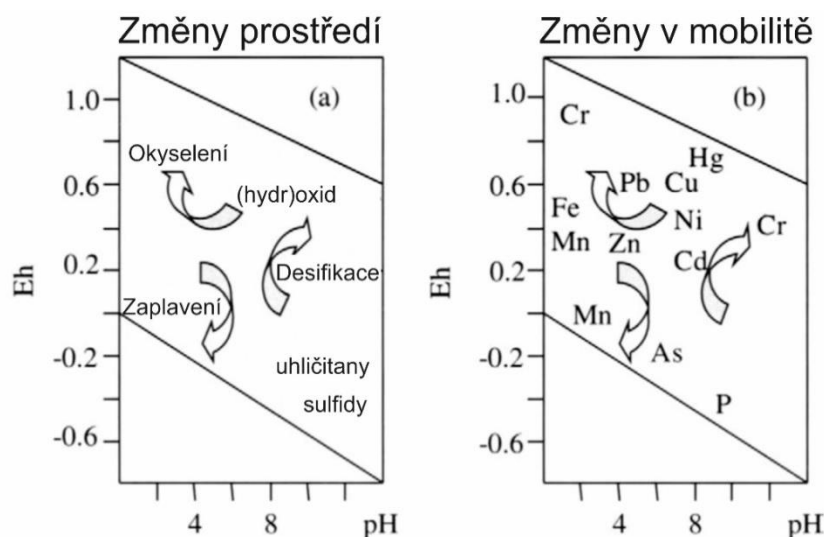
Struktura půdy hraje u mobility kovů důležitou roli. Textura odráží rozdělení velikosti půdních částic a podílu jemnozrnné frakce, jako jsou oxidy a jíly. Tyto sloučeniny jsou důležité pro adsorpci rizikových kovů v půdním prostředí (Bradl et al., 2005). Těžké půdy mají větší schopnost zadržet kovové prvky ve srovnání s lehkými (Fijalkowski et al., 2012). Obecně hrubozrnné půdy vykazují nižší tendenci k adsorpci kovů než jemnozrnné zeminy. Jemnozrnné frakce půdy obsahují částice s velkou povrchovou reaktivitou, jako jsou jílové minerály, (oxy)hydroxidy železa a manganu a huminové kyseliny. Jílové minerály jsou známé pro svou schopnost účinně zachytávat rizikové kovy specifickou adsorpcí a výměnou kationtů. Afinita kationtů kovů vzhledem k jílovým minerálům je uspořádána v pořadí $Cu^{2+} > Cd^{2+} > Fe^{2+} > Pb^{2+} > Ni^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+}$ (Fijalkowski et al., 2012).

6.3. pH

Hodnoty pH půdního roztoku a oxidačně-redukční potenciál (Eh) přímo či nepřímo ovlivňují všechny chemické procesy, a tedy i chování stopových prvků v půdě (Hooda, 2010). Půdní pH je považováno za jeden z nejdůležitějších faktorů určujících koncentrace kovů v půdním roztoku, jejich mobilitu a dostupnost pro rostliny. Vliv pH na rozpustnost kovů je dobře znám. Zvýšení koncentrace vodíkových iontů má vliv na intenzitu mobilizace rizikových prvků. Mobilita kovů ve velmi kyselých půdách je mnohem vyšší než v půdách neutrálních či zásaditých (Linde et al., 2007; Sherene, 2010; Fijalkowski et al., 2012). Mobilita kovů v půdách s nízkým pH klesá v pořadí: $Cd > Ni > Zn > Mn > Cu > Pb$ (Hooda, 2010). Je však potřeba si uvědomit, že vliv pH na mobilitu kovových prvků v půdě je velmi variabilní, zejména v závislosti na obsahu a typu organických látek (Fijalkowski et al., 2012).

6.4. Redoxní potenciál – Eh.

Vliv redoxního potenciálu je významný především u tzv. redox-senzitivních prvků, které se v půdě mohou vyskytovat ve více než jednom oxidačním stupni (zejm. Fe, Mn, As, Cr, Cu, Hg a Pb) (Kabata-Pendias, 2004). Redoxní potenciál v půdě je měřítkem elektrochemického potenciálu nebo dostupnosti elektronů v rámci systému. Míra redoxního potenciálu udává, zda jsou kovy v oxidovaném nebo redukovaném stavu (McLean et Bledsoe, 1992). Prvky jsou zpravidla méně rozpustné za vyššího oxidačního stupně. Naopak nedostatek kyslíku v půdě způsobuje spuštění a zvýšení mobility velké části rizikových kovů (Fijalkowski et al., 2012). Například rozpustnost Pb v půdě klesá s rostoucím redoxním potenciálem a pH (Alcalá et al., 2009). Jak je znázorněno na obr. 7, Eh a pH společně ovlivňují mobilitu prvků (Bradl et al., 2005; Hooda, 2010).



Obr. 7. Trendy rozpustnosti rizikových prvků znázorněné v Eh–pH diagramu (v nepřítomnosti rozpuštěné organické hmoty), a) hlavní minerály a procesy řídicí rozpustnost, b) trendy ve zvýšení rozpustnosti (Bradl et al., 2005).

Redukční podmínky v půdách souvisí s chemickou či biologickou spotřebou kyslíku, ta může být ovlivněna podměčením půdy nebo kontaminací sloučeninami náročnými na spotřebu kyslíku. Biologická spotřeba kyslíku je výsledkem činnosti mikrobů, kteří využívají organické látky (McLean et Bledsoe, 1992). Redoxní podmínky v půdě dle hodnoty Eh jsou dány následovně: (i) anaerobie (< 300 mV), (ii) částečná oxidace (> 330 mV) a (iii) úplná oxidace (750 mV) (Kabata-Pendias, 2011).

6.5. Organické látky

Organická hmota může rizikové prvky imobilizovat nebo naopak působit jako faktor, který tyto prvky mobilizuje. Zvýšené množství organických látek v půdě může napomáhat k minimalizaci absorpce rizikových kovů rostlinami (Fijalkowski et al., 2012). Organická hmota v půdě je tvořena látkami povahy nehumusové a humusové. Humusové látky patří mezi stabilní a tvoří je huminy, huminové kyseliny a fulvokyseliny. Nízkomolekulární organické látky, včetně kyseliny šťavelové, citrónové, mravenčí, octové, jablečné, jantarové, malonové, maleinové, mléčné, akonitové a/nebo fumarové mohou způsobit vyšší mobilitu kovů. Naopak vysokomolekulární huminové kyseliny tvoří s kovy nerozpustné komplexy. Komplexace kovů s organickými ligandy hraje důležitou roli při kontrole rozpustnosti kovu. Stabilita komplexu kovu a ligandu obecně klesá se snížením hodnoty pH (Bradl et al., 2005).

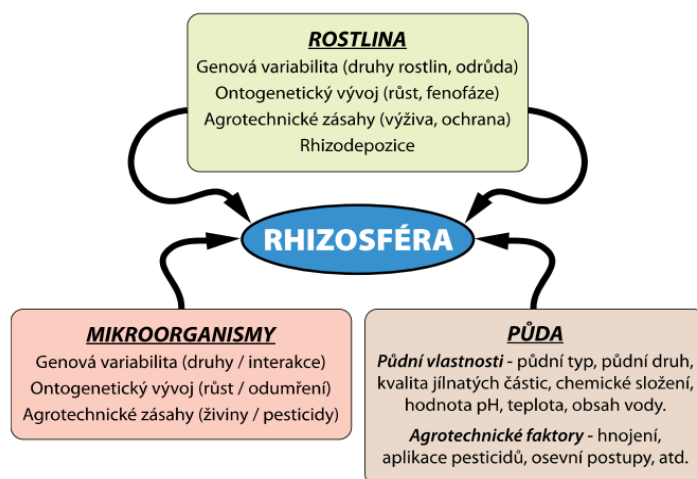
6.6. Mikroorganismy

Organismy, zejména houby, bakterie a vyšší rostliny mohou výrazně měnit fyzikální a chemické podmínky a procesy, které mají vliv na biologickou dostupnost kovů. Důležitým faktorem zodpovědným za mobilitu kovů nebo jejich imobilizaci v kontaminovaných půdách je mikrobiální aktivita (Fijalkowski et al., 2012).

7. Popis a význam rhizosféry při studiu kontaminantů

Rhizosféra je definována jako část půdy, která je přímo ovlivněna kořeny rostlin (Lavelle et Spain, 2001; Leung et al., 2013). Obvykle se nachází v rozmezí několika milimetrů od povrchu kořene. Rozsah rhizosféry v prostoru a čase je vysoce variabilní. Mění se jak v radiálním směru k volné půdě, tak podél kořenů, které jsou rovněž ovlivněny časovými změnami kořenové aktivity (Neumann et Römheld, 2012).

Rhizosféra je dynamické prostředí pro mikroorganismy, kde se vyskytují komplexní biologické a ekologické procesy (Leung et al., 2013). Děje v rhizosféře jsou vymezeny vzájemným působením rostliny, půdy a půdních mikroorganismů (obr. 8) (Balík, 2009).



Obr. 8. Interakce v rhizosféře (Balík, 2009).

Půdní organická hmota je využívána prostřednictvím aktivních mutualistických (oboustranně prospěšných) vztahů s půdní mikroflórou, která je spojena s živými kořeny. Kořeny regulují mikrobiální aktivitu tím, že poskytují snadno využitelné zdroje uhlíku (tzv. rhizodepozice), které stimulují činnost volně žijící půdní mikroflóry a mikrobiálních symbiontů (Lavelle et Spain, 2001).

Kořeny působí nejen jako rezervoár minerálních živin transportovaných do nadzemních částí rostlin hmotnostním tokem a difúzí, ale také přijímají ionty nebo vodu, což vede ke snižování obsahu nebo naopak akumulaci iontů (Balík, 2009). Kořeny rostlin mohou změnit chemii rhizosféry několika způsoby (Neumann et Römheld, 2012):

- uvolňováním a absorpcí organických sloučenin
- výměnou plynů (CO_2/O_2), související s dýcháním kořenů
- kořenovým příjmem, jakož i uvolňováním vody a živin, které mohou být spojeny s příjmem nebo vytlačováním protonů a změnou redoxního potenciálu.

Kořeny také modifikují fyzikální vlastnosti v rhizosféře, jako je stabilita agregátů, hydrofóbnost a počet a velikost mikropórů. Rhizosféra jako komplexní a dynamické mikroprostředí má značný potenciál pro detoxikaci nebezpečných organických a anorganických polutantů (Leung et al., 2013).

7.1. Kořenové exudáty

Kořeny rostlin jsou neustále vystavovány řadě biotických a abiotických stresů na rozhraní kořenové půdy. Na toto napětí reagují vylučováním směsi chemikálií, která slouží k ochraně před negativními vlivy a podporuje pozitivní interakce s mikroorganismy (Vysloužilová et al., 2006). Kořenové exudáty jsou často rozděleny na:

- Nízkomolekulární sloučeniny, jako jsou aminokyseliny, organické kyseliny, cukry, fenolické látky a další sekundární metabolity.
- Sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností, jako jsou výměšky slizu (polysacharidy) a proteinů. Tento typ exudátů je méně rozmanitý, ale často tvoří větší část hmoty kořenových výměšků.

Kořenové exudáty hrají významnou roli ve fytoimediačních technologiích při rozpouštění kovů. Nadměrné uvolňování organických kyselin způsobuje pokles pH, a tím se zvyšuje rozpustnost a dostupnost kovů (Lavelle et Spain, 2001; Leung et al., 2013) včetně Fe, Mn, Cu a Zn, které následně mohou být přijímány hyperakumulujícími rostlinami (Leung et al. 2013; Gil-Díaz et al., 2014a) nebo transportovány do dalších složek prostředí. Naopak polysacharidy vylučované z kořenů rostlin mohou vázat a imobilizovat kovové ionty v půdě, a tím omezit jejich asimilaci rostlinami (Joshi et Juwarkar., 2009). Zároveň přítomnost (nebo absence) jednotlivých minerálů a toxických kovů v půdě může také změnit složení kořenových exudátů. García et al. (2001) ukázali, že aktivně rostoucí kořenové systémy vylučují více látek, a pozorovali změny v množství exudátů mezi různými genotypy stejného druhu rostlin. Složení exudátů se liší v závislosti na druhu, stáří rostliny a všeobecných podmínkách životního prostředí. Tvorba kořenových exudátů je citlivá na různé vnější faktory, jako je intenzita světla, teplota, dostupnost živin a vlastnosti půdy.

Výměšky kořenů také mohou stimulovat mikrobiální růst v bezprostřední blízkosti kořenů. Aktivita mikroorganismů v kořenové zóně mění půdní charakteristiky, jako je pH, obsah organické hmoty, redoxní stav atd., které jsou důležité pro stabilizaci kovů v půdě (Vysloužilová et al., 2006).

8. Metodika

8.1. Testovaný materiál

8.1.1. Nanoželezo

Elementární železo je při kontaktu s vodou extrémně reaktivní a je transformováno na oxidy a oxyhydroxidy železa a současně dochází k uvolňování vodíku. Pro experimenty byly použity nanočástice železa NANOFER STAR od firmy NANO IRON, s.r.o. (ČR). Produkt NANOFER STAR je na vzduchu stabilní prášek elementárního nanoželeza. Povrch nanočástic je stabilizován tenkou vrstvou oxidů železa, která zabraňuje okamžité oxidaci částic při kontaktu s atmosférickým kyslíkem a díky této stabilizaci je vhodný pro přípravu vodné disperze nanočástic železa pro různé použití.

Před aplikací výrobce doporučuje aktivaci rozmícháním ve vodě pro zlepšení dekontaminačních schopností nZVI. Produkt NANOFER STAR se aplikuje ve formě vodné suspenze po aktivaci v poměru 1 díl prášku NANOFER STAR + 4 díly vody.

8.1.2. Půda

Testovaná půda byla odebrána severně od obce Trhové Dušínky (přibližně 2,5 km od Příbrami) a pochází z nivy řeky Litavky. Hlavními kontaminanty z metalurgického průmyslu jsou zde Pb a Zn. Půda byla odebrána z orničního horizontu (0–25 cm). Vzorky půdy byly homogenizovány, vysušeny na vzduchu při pokojové teplotě a následně prosety přes laboratorní síto (2 mm). Základní parametry a chemismus půdy jsou uvedeny v tab. 1 a 2.

Tab. 1. Základní parametry půdy (Trakal et al., 2011).

| Základní parametry půdy | | | |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|
| pH | KVK ^a | TOC ^b | DOC ^c |
| | (mmol/kg) | (%) | (mg/kg) |
| 5,7 | 134 | 3,72 | 146 |

^a Kationtová výměnná kapacita

^b Celkový organický uhlík

^c Rozpuštěný organický uhlík

Tab. 2. Základní chemické složení půdy (průměr ± směrodatná odchylka).

| Základní chemické složení (mg/kg) | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|-------|
| Fe | Al | K | Na | Ti | Mn | Zn | Pb | Si | Ca | Mg |
| 37408 | 8191 | 6583 | 5571 | 4459 | 4276 | 4002 | 3539 | 1173 | 1099 | 675 |
| ± 159 | ± 1542 | ± 239 | ± 306 | ± 67,4 | ± 27,7 | ± 55,5 | ± 306 | ± 641 | ± 99,0 | ± 142 |

8.1.3. Příprava vzorků půdy

Pro následné extrakční metody byly použity 2 varianty testované půdy:

- kontrolní varianta bez přídavku stabilizačního činidla,
- varianta s přídavkem stabilizačního činidla (1 hm.% nZVI)

Bylo naváženo 10 g nZVI (NANOFER STAR) a přidáno 40 g deionizované vody pro vytvoření suspenze. Suspenze byla míchána po dobu 10 minut za vysokých otáček (Vortex, USA) pro aktivaci nZVI a lepší homogenizaci. Suspenze se následně přidala k 990 g suché půdy (< 2 mm, viz kap. 8.1.2), se kterou byla důkladně ručně promíchána. Půda byla následně udržována při vlhkosti cca 70 % retenční vodní kapacity půdy po dobu jednoho měsíce za účelem ekvibrace podmínek po přídavku nZVI. Po uplynutí této doby byla půda vysušena při pokojové teplotě do konstantní vlhkosti a použita pro následné experimenty.

8.2. Stanovení pH půdy

Hodnota pH půdy byla stanovena potenciometricky v suspenzi o poměru 1 : 2,5 půdy a deionizované vody nebo 0,2 M KCl (ISO 10390:1994).

8.2.1. Materiály a přístroje

- Automatické pipety (Eppendorf, Německo)
- Digitální analytická váha (Mettler Toledo, USA)
- pH metr inoLab® (pH 7310, WTW, Německo) s kombinovanou pH elektrodou (SenTix® 41, WTW, Německo)
- Pufry pro kalibraci pH elektrody (pH 4 a pH 7) (WTW, Německo)
- Digitální multimetr (Multi 3420, WTW, Německo) s vodivostní celou (TetraCon® 925, WTW, Německo)
- Třepačka (GFL 3006, Německo)
- Deionizovaná voda (IWA 120 iol, WATEK, ČR)
- KCl p.a.

8.2.2. Stanovení pH výluhu deionizovanou vodou

Do 100 ml PE lahvíček bylo naváženo 10 g půdy (usušené na vzduchu do konstantní vlhkosti). Poté bylo do lahvíček pipetou odměřeno 25 ml deionizované vody. Experiment byl proveden ve třech opakováních pro obě varianty vzorků půdy (tj. pro půdu nestabilizovanou a stabilizovanou nZVI). Obsah lahvíček byl třepán

(200 otáček/min) po dobu 30 minut na třepačce a následně se vzorky nechaly 2 hodiny odstát.

Ihned po odstátí byla změřena hodnota pH v suspenzi pomocí pH metru s kalibrovanou elektrodou a konduktivita pomocí vodivostní cely. Výsledná hodnota pH byla spočítána jako logaritmický průměr ze tří provedených opakování a výsledná hodnota konduktivity byla spočítána jako aritmetický průměr ze tří opakování.

8.2.3. Stanovení pH výluhu roztokem KCl

Nejprve byl připraven roztok 0,2 M KCl. K přípravě roztoku bylo naváženo 14,9 g KCl, toto navážené množství KCl se rozpustilo v 1 000 ml deionizované vody. Hodnota pH výsledného roztoku byla 5,5, což spadá do požadovaného rozmezí a nebylo tedy nutné pH dále upravovat.

Dalším krokem bylo navážení 10 g půdy do PE lahvičky a zalití 25 ml 0,2 M KCl. Experiment byl proveden ve třech opakováních pro obě varianty vzorků půdy (tj. bez nanoželeza a s nanoželezem). Následovalo důkladné protřepání na třepačce (200 otáček/min) po dobu 30 min a poté se vzorky nechaly 2 hodiny odstát.

Ihned po odstátí byla v suspenzi změřena hodnota pH a konduktivita. Výsledná hodnota pH byla spočítána jako logaritmický průměr a výsledná hodnota konduktivity pomocí aritmetického průměru.

8.3. Extrakční metody

8.3.1. Materiály a přístroje

- Automatické pipety (Eppendorf, Německo)
- Digitální analytická váha (Mettler Toledo, USA)
- pH metr inoLab® (pH 7310, WTW, Německo) s kombinovanou pH elektrodou (SenTix® 41, WTW, Německo)
- Pufry pro kalibraci pH elektrody (pH 4 a pH 7) (WTW, Německo)
- Digitální multimetr (Multi 3420, WTW, Německo) s kombinovanou elektrodou IDS (SenTix® ORP 900, WTW, Německo) a vodivostní celou (TetraCon® 925, WTW, Německo)
- Sušárna (Mettler GmbH & Co. KG, Německo)
- Třepačka (GFL 3006, Německo)
- Centrifuga universal 320 (Hettich Zentrifugen, Německo)
- Stříkačkové filtry 0,45 µm (Acetate Cellulose, VWR INTERNATIONAL, USA)
- ICP-OES (Agilent 730, Agilent Technologies, USA)
- TOC-L CPH (Shimadzu, Japonsko)
- Iontová chromatografie s potlačenou vodivostí (ICS 1600, Dionex, USA) vybavená kolonou IonPac AS11-HC (Dionex, USA)
- Deionizovaná voda (IWA 120 iol, WATEK, ČR)
- Oxalát amonný, monohydrát C₂H₈N₂O₄·H₂O p.a.
- Kyselina octová C₂H₄O₂ p.a.

- Kyselina mléčná C₃H₆O₃
- Kyselina citronová C₆H₈O₇ p.a.
- Kyselina jablečná C₄H₆O₅
- Kyselina mravenčí CH₂O₂
- Chlorid draselný KCl p.a.
- Kyselina dusičná HNO₃ (65 %) p.a.
- Hydroxylaminhydrochlorid ClH₄NO p.a.
- Peroxid vodíku H₂O₂ p.a.
- Acetát amonný C₂H₇O₂N p.a.

8.3.2. Oxalátová extrakce

Oxalátová extrakce se používá pro stanovení primárních a sekundárních oxidů železa (Fe), manganu (Mn) a hliníku (Al), které jsou všudypřítomné v půdě a zadržují vysoké koncentrace rizikových kovů (Wenzel et al., 2001b; Suda et Makino, 2015).

Prvním krokem experimentu byla příprava roztoku 0,2 M oxalátu amonného. Výpočtem bylo zjištěno, že pro přípravu 100 ml roztoku je třeba 2,84 g oxalátu amonného. Toto množství bylo naváženo přesně a rozpuštěno v deionizované vodě doplněné na objem 100 ml. Výsledný roztok byl okyselen na pH = 3,01 pomocí kyseliny oxalové, která se postupně přidávala přímo do roztoku.

Dále bylo naváženo 0,1 g vzorku půdy do PE lahvičky a k navážené půdě bylo přidáno 20 ml 0,2 M okyseleného roztoku oxalátu amonného. Lahvičky se suspenzí bylo nutné zabalit do alobalu, jelikož organické kyseliny na světle degradují. Vzorky byly třepány po dobu 2 hodin na třepačce. Extrakce byla provedena pro každou variantu půdy (stabilizovaná, nestabilizovaná) ve 3 opakováních. Po skončení experimentu byly vzorky vloženy do centrifugy (9 000 otáček/min, 10 minut), aby došlo k odstředění pevných částic a jejich oddělení od roztoku pro lepší filtraci. Po odstředění byly vzorky zfiltrovány (0,45 μm), bylo změřeno pH a konduktivita. Filtráty byly naředěny dle potřeby pro analýzu ICP-OES.

8.3.3. Extrakce HNO₃

Postup extrakce byl převzat a upraven dle Tipping et al. (2003). Kyselina dusičná (0,43 M) je silné extrakční činidlo, které se běžně používá pro stanovení potenciální vyluhovatelnosti kovů.

Roztok 0,43 M HNO₃ byl připraven z 2,977 ml 65% HNO₃ (p.a.) a deionizované vody doplněné na objem 100 ml. Do PE lahviček byly odměřeny 2 g půdy a doplněno 20 ml deionizované vody. Extrakce byla provedena vždy ve 3 opakováních pro obě varianty půdy (stabilizovanou a nestabilizovanou). Vzorky byly 2 hodiny třepány na třepačce a poté centrifugovány (9 000 otáček/min, 10 minut) a zfiltrovány (0,45 μm) a bylo změřeno pH a konduktivita. Filtráty byly naředěny dle potřeby pro analýzu ICP-OES.

8.3.4. Extrakce RHIZO

Postup extrakce byl převzat a upraven dle Feng et al. (2005). Cílem této extrakce bylo simulovat podmínky v rhizosféře pomocí směsi nízkomolekulárních organických kyselin, které v rhizosféře produkují kořeny rostlin (tzv. kořenové exudáty).

Extrakční roztok byl připraven smícháním kyseliny octové, mléčné, citronové, jablečné a mravenčí v molárním poměru 4:2:1:1:1 s výslednou celkovou koncentrací 10 mM. Pro tyto účely byl nejprve připraven 1 M roztok každé z výše uvedených koncentrovaných kyselin a následně byla vytvořena směs požadovaného objemu tak, aby byl zachován molární poměr kyselin 4:2:1:1:1. Tento zásobní roztok byl dále 100x naředěn pro získání výsledného 10 mM roztoku.

Do PE lahvíček byly naváženy 2 g půdy a doplněno 20 ml RHIZO činidla. Experiment byl proveden ve dvou reakčních časech, a to 2 hodiny a 24 hodin za kontinuálního třepání, vždy ve 3 opakováních pro půdu stabilizovanou i nestabilizovanou. Extrakční doba byla zvolena pro posouzení doby působení simulovaných rostlinných exudátů na vyluhovatelnost sledovaných látek z půdy (Vítková et al., 2015). Vzorky byly následně umístěny do centrifugy (9 000 otáček/min, 10 minut) a zfiltrovány (0,45 µm), dále bylo změřeno pH, Eh a konduktivita.

Filtráty byly připraveny na analýzu IC naředěním deionizovanou vodou tak, aby bylo dosaženo konduktivity <120 µS/cm. Pro analýzu ICP-OES se vzorky naředily dle potřeby a okyselily (2 % HNO₃). Pro analýzu DOC byly vzorky naředěny deionizovanou vodou (bez okyselení).

8.3.5. Stanovení DOC

Postup extrakce byl převzat z článku Jones et Willett (2006). Tato metoda se používá pro stanovení obsahu rozpuštěného organického uhlíku (DOC – Dissolved Organic Carbon), který ovlivňuje koncentraci kovů v půdách. Pro extrakci byla použita deionizovaná voda a/nebo roztok KCl.

Na přípravu 2M KCl bylo naváženo 37,275 g KCl, které se smíchalo s deionizovanou vodou doplněnou na objem 250 ml.

Do PE lahvičky bylo naváženo 2,5 g půdy. Byly použity 2 varianty roztoku, v prvním případě se k navážené půdě přidalo 25 ml 2M KCl a v druhém případě 25 ml deionizované vody. Pokus byl proveden ve 2 extrakčních časech pro každou variantu, a to 15 minut a 24 hodin. Každá varianta (extrakční doba, činidlo, stabilizovaná/nestabilizovaná půda) byla provedena ve 3 opakováních. Po ukončení extrakce byly vzorky centrifugovány (9 000 otáček/min, 10 minut) a filtrovány (0,45 µm). Následně bylo změřeno pH a konduktivita.

Kromě analýzy DOC byla sledována také vyluhovatelnost dalších prvků a zejména rizikových kovů. Vzorky byly dle potřeby naředěny (a v případě ICP-OES okyseleny) pro analýzy ICP-OES, DOC a IC.

8.4. Stanovení WHC

Retenční vodní kapacita půdy (WHC – Water Holding Capacity) či schopnost půdy zadržovat vodu byla zjišťována u původní nestabilizované půdy. Bylo naváženo 100 g usušené půdy (< 2 mm) bez stabilizačního činidla. Dále byla připravena nálevka a samostatně zvážena mokrá filtrační papír. Navážená půda byla vložena na mokrá filtrační papír umístěný v nálevce a postupně sycena deionizovanou vodou až do stavu nasycení (tj. moment, kdy voda začala prokapávat přes filtrační papír). Nasycená půda byla zvážena i s filtračním papírem a z rozdílů hmotností byla vypočtena hmotnost vody, kterou je potřeba dodat ke stoprocentnímu nasycení půdy.

8.5. Sekvenční extrakce

Sekvenční extrakce byla navržena pro selektivní uvolnění kovů různých geochemických forem a v současné době se běžně využívá pro zjištění přítomnosti kovů v jednotlivých frakcích půdy a pro posouzení jejich mobility.

Vzorek se v postupných krocích extrahuje několika činidly, kyselinou octovou, hydroxylaminhydrochloridem, peroxidem vodíku a acetátem amonným. Sekvenční extrakce je rozdělena do čtyř frakcí. První je výměnná frakce, kde se kovy vážou na karbonáty. Druhá frakce je redukovatelná frakce, v níž jsou extrahovány kovy vázané na oxidy Fe a Mn. Třetí frakce se nazývá oxidovatelná a zahrnuje kovy vázané na organickou hmotu. Čtvrtá je reziduální frakce, neboli zbytková, nejméně vyluhovatelná (McLean et Bledsoe, 1992; Quevauviller, 1998; Wenzel et al., 2001b; Sungur et al., 2014).

8.5.1. Postup

a) Frakce A – 0,11 M kyselina octová

V první frakci bylo smícháno 40 ml připraveného 0,11 M roztoku kyseliny octové s $1 \pm 0,01$ g půdy stabilizované nZVI (extrakce pro půdu nestabilizovanou byla provedena v rámci řešení předchozích prací na katedře KGEV). Vzorky byly připraveny ve 3 opakováních. Poté byly třepány 16 hodin (přes noc), následně centrifugovány (9 000 otáček/min, 10 minut), přefiltrovány (0,45 μ m) a připraveny na analýzu ICP-OES.

b) Frakce B – 0,5 M hydroxylaminhydrochlorid

Do zbytku pevné složky z frakce A bylo přidáno 40 ml 0,5 M roztoku hydroxylaminhydrochloridu (ve 3 opakováních). Následně byly vzorky třepány 16 hodin (přes noc), centrifugovány (9 000 otáček/min, 10 minut), filtrovány (0,45 μ m) a připraveny na analýzu ICP-OES.

c) Frakce C – 8,8 M peroxid vodíku; 1 M acetát amonný

Do rezidua pevné složky z frakce B bylo přidáno 10 ml 8,8 M H_2O_2 (ve 3 opakováních). Směs přikrytá hodinovým sklíčkem se nechala po dobu 1 hodiny odstát v digestoři za občasného ručního třepání. Následně se vzorky, nyní už odkryté, nechaly odpařovat po dobu 1 hodiny v sušárně při teplotě 85°C.

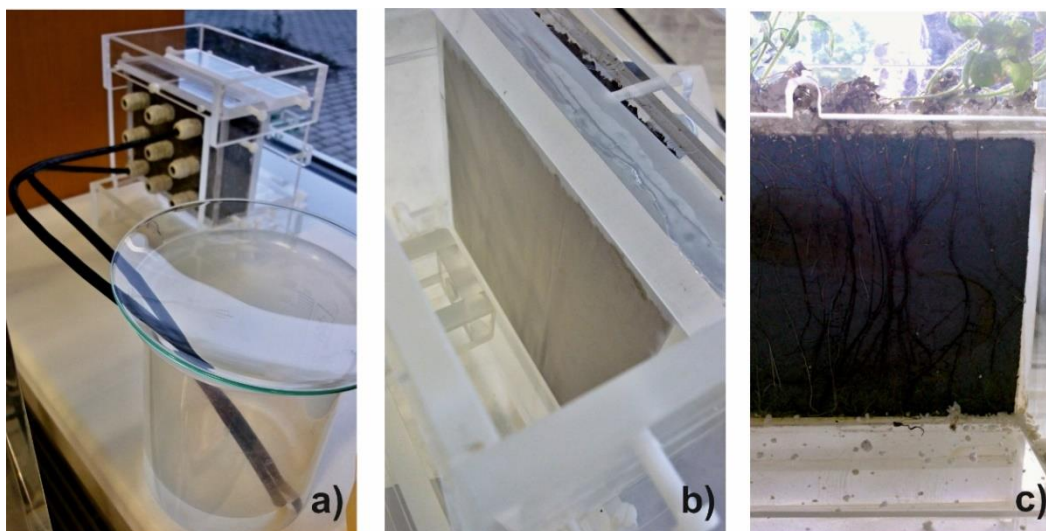
Po odpaření bylo k pevným reziduím vzorků přidáno 50 ml 1 M acetátu amonného. Poté byly vzorky třepány po dobu 16 hodin (přes noc), centrifugovány (9 000 otáček/min, 10 minut), filtrovány (0,45 μm) a připraveny na analýzu ICP-OES.

d) Frakce D – reziduální

Reziduální frakce byla dopočítána součtem hodnot koncentrací Zn/Pb z frakcí A, B a C, tato hodnota pak byla odečtena od celkového množství Zn a Pb v půdě (tab. 1).

8.6. Experiment s rhizoboxy

Rhizoboxy jsou vhodným prostředkem pro detailní studium rhizosféry (obr. 9a). Konstrukce rhizoboxů umožňuje oddělení kořenů od půdy díky speciální membráně (obr. 9b), a proto je možné lépe studovat kořeny, rhizosféru a jejich vzájemné interakce (obr. 9c) (Wenzel et al., 2001a). Tento experiment byl využit jako doplněk při studiu vlivu rostlinných exudátů na vlastnosti půdy.



Obr. 9. Konstrukce rhizoboxu (a), membrána (b), rhizosféra(c) (ilustrační foto, autor: Martina Vítková, 2014).

8.6.1. Materiály a přístroje

- Rhizoboxy (DI Gottfried Wieshammer, Rakousko)
- Automatické pipety (Eppendorf, Německo)
- Digitální analytická váha (Mettler Toledo, USA)
- pH meter inoLab® (pH 7310, WTW, Německo) s kombinovanou pH elektrodou (SenTix® 41, WTW, Německo)
- Pufry pro kalibraci pH elektrody (pH 4 a pH 7) (WTW, Německo)
- Digitální multimetr (Multi 3420, WTW, Německo) s kombinovanou elektrodou IDS (SenTix® ORP 900, WTW, Německo)
- Sušárna (Memmert GmbH & Co. KG, Německo)
- Třepačka (GFL 3006, Německo)
- Deionizovaná voda (IWA 120 iol, WATEK, ČR)

- Chlorid draselný KCl p. a.
- Kyselina octová C₂H₄O₂ p. a.
- Kyselina mléčná C₃H₆O₃
- Kyselina citronová C₆H₈O₇ p. a.
- Kyselina jablečná C₄H₆O₅
- Kyselina mravenčí CH₂O₂ p. a.

8.6.2. Průběh experimentu

Rhizoboxy byly sestaveny dle návodu a doporučení výrobce a vyplněny půdou zavlhčenou přibližně na 40 % (pro zajištění dokonalé kompakce materiálu). Pro experiment s rhizoboxy byly opět použity dvě varianty půdy, a to stabilizovaná pomocí nZVI a půda nestabilizovaná. Pro každou variantu půdy byly provedeny 3 opakování. Následně se půda ve všech rhizoboxech nechala inkubovat po dobu 30 dní za kontinuálního automatického zavlhčování díky speciálním optickým vláknům prostřednictvím kapilárních sil. Před odebráním vzorků půdy z rhizoboxů byl na membránu rhizoboxu (obr. 9b) aplikován RHIZO roztok (viz kap. 8.3.4.), který je svým složením podobný kořenovým exudátům. Zhruba hodinu po aplikaci roztoku byly po rozebrání rhizoboxů odebrány vzorky půdy z kořenové zóny (přibližně 1 mm silná vrstva půdy přiléhající k membráně) a vzorky tzv. volné půdy (ze zadní části rhizoboxu). Odebraná půda byla vysušena do konstantní vlhkosti.

Následně bylo porovnáno pH vzorků půdy z rhizosféry a pH vzorků z volné půdy; pH bylo stanoveno potenciometricky v suspenzi deionizovaná voda/KCl v poměru 1 : 2,5 k půdě (ISO 10390:1994; viz kap. 8.2.).

8.7. Statistické zpracování dat

K provedení statistických analýz byl použit software SigmaPlot 13 (Systat Software Inc., USA). K vyhodnocení dat byly provedeny variační analýzy rozptylu jednoduchého třídění (ANOVA) s $P < 0,05$. Pro další práci s daty byl použit program MS Excel 2007 (Microsoft, USA).

9. Výsledky práce

9.1. Vliv nanoželeza na pH půdy

V tab. 3 je uvedeno srovnání hodnot pH_{H_2O} a pH_{KCl} pro půdu stabilizovanou nZVI a půdu kontrolní (tj. nestabilizovanou nZVI). Hodnoty se pohybovaly v rozmezí pH 5–7. V případě stabilizované půdy byly hodnoty pH více než o 1 jednotku vyšší (pH 6,3–6,9) oproti půdě nestabilizované (pH 5–5,6). Statistika prokázala signifikantní rozdíl.

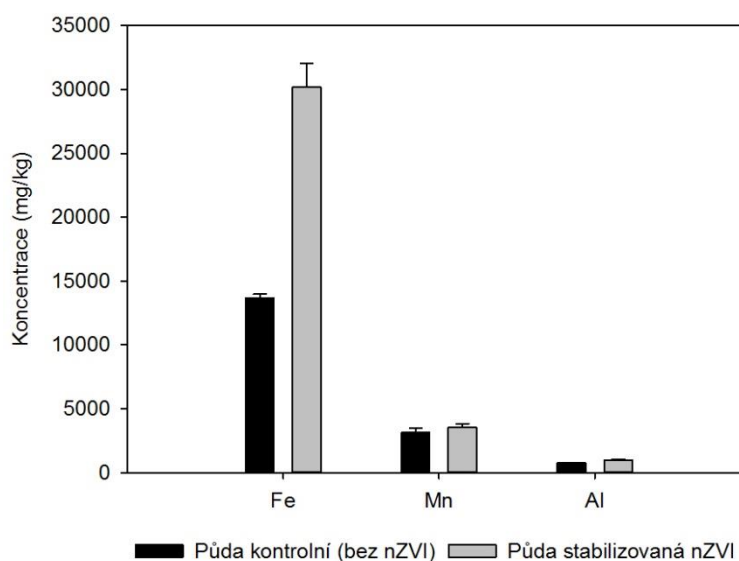
Tab. 3. Porovnání pH pro půdu nestabilizovanou a stabilizovanou nZVI (průměr ± směrodatná odchylka).

| půda | Kontrolní (bez nZVI) | Stabilizovaná nZVI |
|-------------|-------------------------|-----------------------|
| pH_{H_2O} | 5,62 | 6,94 |
| | ± 0,01 | ± 0,07 |
| pH_{KCl} | 5,00 | 6,26 |
| | ± 0,05 | ± 0,03 |

9.2. Extrakční metody

9.2.1. Oxalátově výměnné Fe, Mn a Al

Koncentrace všech měřených prvků z oxalátové extrakce jsou uvedeny v příloze 1, srovnání vyluhovatelnosti oxalátově výměnného Fe, Al a Mn uvádí obr. 10. Koncentrace výměnného Fe v nestabilizované půdě byla 13,7 g/kg, zatímco ve stabilizované půdě dosahovala hodnota Fe 29,1 g/kg. Dvojnásobně vyšší množství Fe ve stabilizované půdě bylo způsobeno přidaným stabilizačním činidlem nZVI. Koncentrace Mn a Al byly oproti Fe výrazně nižší pro obě varianty půdy. Vyluhovatelnost Mn dosahovala 3,2 g/kg pro nestabilizovanou půdu a 3,5 g/kg pro půdu stabilizovanou, nicméně tento rozdíl byl statisticky nevýznamný. Koncentrace Al dosahovaly v případě nestabilizované půdy 0,7 g/kg a v případě stabilizované půdy 1 g/kg, ovšem obdobně jako u Mn byl tento rozdíl statisticky nevýznamný.

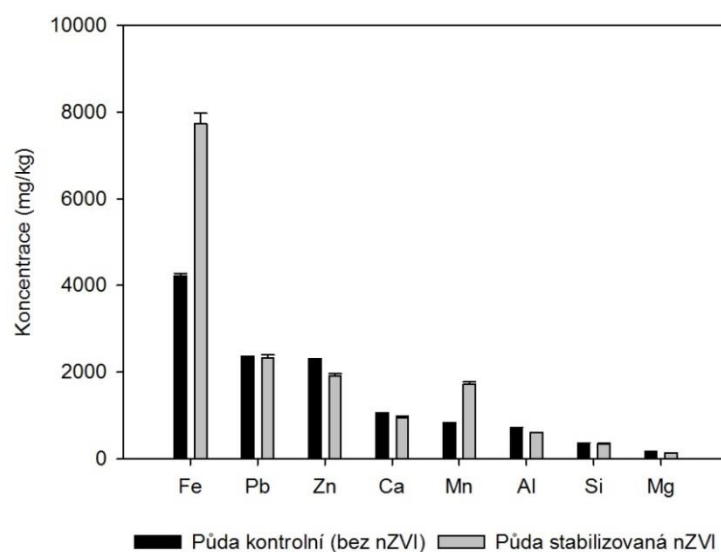


Obr. 10. Koncentrace oxalátově výměnného Fe, Mn a Al (průměr ± směrodatná odchylka).

9.2.2. Charakteristiky půdy při extrakci HNO_3

Srovnání extrahovatelných koncentrací vybraných kovů a hlavních prvků uvádí obr. 11, výsledné hodnoty koncentrací měřených prvků jsou uvedeny v příloze 2.

Z nestabilizované půdy se během extrakce HNO_3 uvolnilo 2,4 g/kg Pb (pH = 0,52; obr. 11, tab. 4), podobné hodnoty dosáhla i koncentrace Pb ve stabilizované půdě (2,3 g/kg, pH = 0,57; obr. 11, tab. 4). Rozdíl vyluhovatelnosti Pb byl však statisticky nevýznamný. Koncentrace Zn v případě nestabilizované půdy dosahovala hodnoty 2,3 g/kg, zatímco z půdy stabilizované se uvolnilo statisticky významně nižší množství Zn (1,9 g/kg). Koncentrace prvků Ca, Al, Si, Mg byly oproti Pb a Zn nižší a rozdíly pro půdu nestabilizovanou a stabilizovanou byly zanedbatelné, kdežto u Mn byl zaznamenán statisticky významný nárůst koncentrace pro půdu stabilizovanou nZVI.



Obr. 11. Koncentrace vybraných prvků při extrakci HNO_3 pro stabilizovanou a nestabilizovanou půdu (průměr \pm směrodatná odchylka).

Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) pro stabilizovanou i nestabilizovanou půdu jsou uvedeny v tab. 4, mezi hodnotami však není významný statistický rozdíl. V tab. 4 jsou dále uvedeny hodnoty pH, které jsou velmi nízké vlivem použitého silného extrakčního činidla; pH bylo relativně vyšší u půdy stabilizované nZVI.

Tab. 4. Základní půdní parametry při extrakci HNO_3 (průměr \pm směrodatná odchylka).

| Půda | DOC ^a (mg/l) | pH |
|-----------------------------|-------------------------|------------|
| Kontrolní (bez nZVI) | 179 | 0,52 |
| | $\pm 3,34$ | $\pm 0,01$ |
| Stabilizovaná nZVI | 171 | 0,57 |
| | $\pm 5,84$ | $\pm 0,01$ |

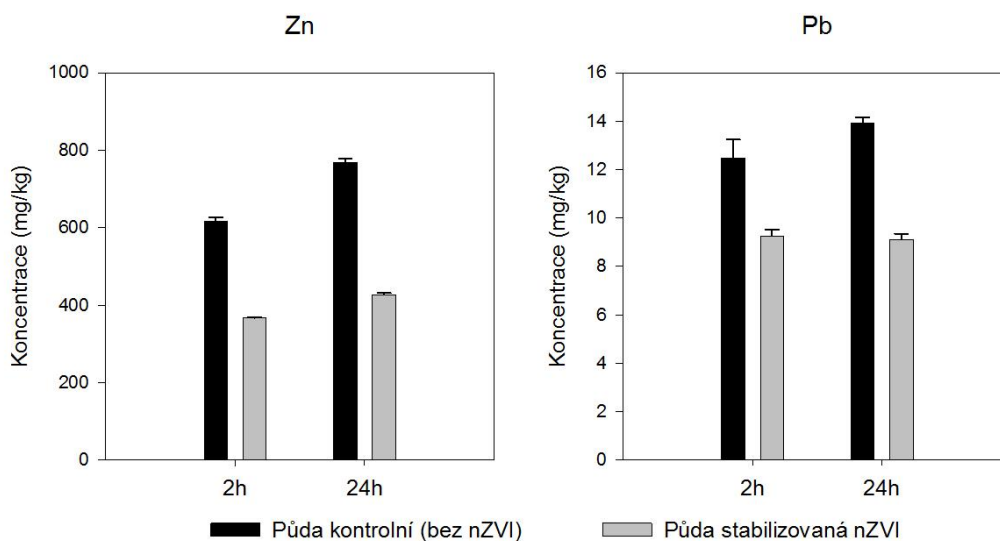
^aRozpuštěný organický uhlík

9.2.3. Charakteristiky půdy při extrakci RHIZO

Na obr. 12 je znázorněno porovnání koncentrací sledovaných rizikových kovů uvolněných při extrakci RHIZO pro dva experimentální časy 2 hodiny a 24 hodin. Koncentrace Pb byly u obou extrakčních časů vyšší u půdy nestabilizované a dosahovaly hodnot 12,5 mg/kg (2 hod) a 14 mg/kg (24 hod), zatímco u půdy stabilizované byly tyto koncentrace 9,3 mg/kg (2 hod) a 9,1 mg/kg (24 hod). Rozdíl

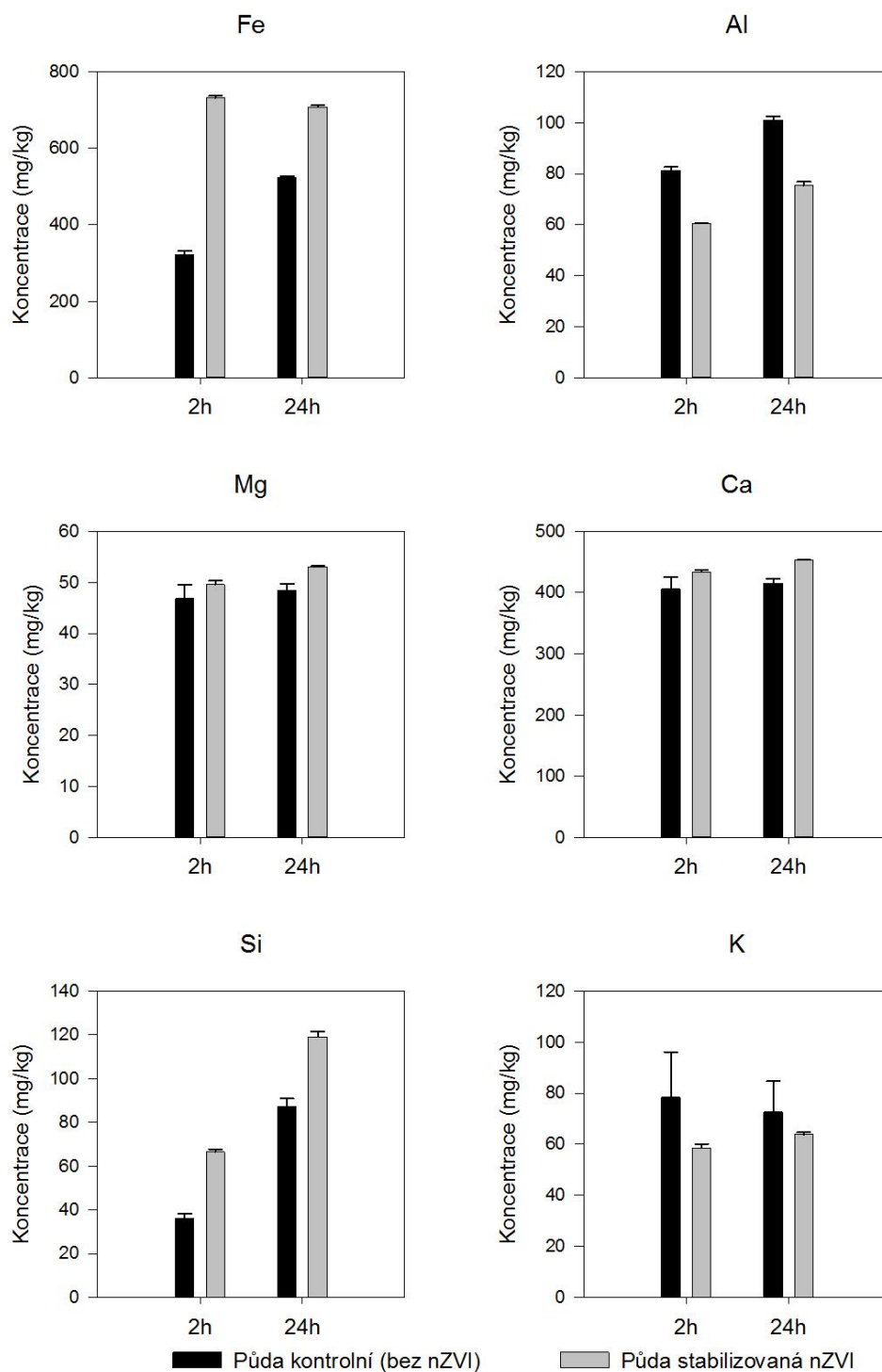
hodnot Pb pro jednotlivé časy byl v případě nestabilizované půdy statisticky významný, naopak u půdy stabilizované byl rozdíl mezi časy zanedbatelný.

Vyloužené koncentrace Zn byly oproti Pb přibližně 50 krát větší. Navíc hodnoty Zn se statisticky významně lišily mezi jednotlivými extrakčními časy i mezi variantami půdy. Množství Zn uvolněné z nestabilizované půdy po 2 hodinách dosáhlo hodnoty 616 mg/kg, přičemž za stejný čas se u stabilizované půdy uvolnilo 367 mg/kg. V čase 24 hod dosáhl Zn koncentrace 768 mg/kg u nestabilizované půdy a 427 mg/kg u stabilizované půdy. Extrahovatelné koncentrace Zn byly tedy vždy nižší u půdy stabilizované nanoželezem (obr. 12).



Obr. 12. Koncentrace Zn a Pb při extrakci RHIZO v závislosti na čase a v porovnání pro nestabilizovanou a stabilizovanou půdu (průměr ± směrodatná odchylka).

Průběh koncentrací dalších prvků (hlavních iontů) je znázorněn na obr. 13. Koncentrace Fe a Si byly statisticky významně vyšší u půdy stabilizované nanoželezem pro oba extrakční časy, naproti tomu koncentrace Al byly signifikantně vyšší u půdy nestabilizované. Rozdíly v hodnotách ostatních prvků Mg, Ca a K pro variantu půdy nZVI stabilizovanou a nZVI nestabilizovanou byly statisticky nevýznamné. Výsledné koncentrace měřených prvků jsou uvedeny v příloze 3.



Obr. 13. Porovnání koncentrací hlavních prvků při extrakci RHIZO v závislosti na čase pro nestabilizovanou a stabilizovanou půdu (průměr ± směrodatná odchylka).

Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) jsou uvedeny v tab. 5. Množství DOC mezi stabilizovanou a nestabilizovanou půdou se u 2 hodinové extrakce příliš nelišilo, naopak u 24 hodinové extrakce byly koncentrace DOC statisticky významně vyšší pro půdu stabilizovanou nanoželezem.

Přídavek nanoželeza významně ovlivnil fyzikálně-chemické parametry. V případě pH došlo po aplikaci nZVI ke statisticky významnému zvýšení pH z 3,87 na 4,23 v případě 2-hod extrakce a u 24-hod extrakce z pH 4,54 na 4,86 (tab. 5). V rozdílu oxidačně redukčního potenciálu Eh (tab. 3) byl prokázán statisticky významný pokles u půdy stabilizované pro oba extrakční časy, a to z hodnot cca 450 mV (nestabilizovaná půda) na hodnoty cca 400 mV po stabilizaci nZVI.

Tab. 5. Základní půdní parametry při extrakci RHIZO (průměr ± směrodatná odchylka).

| Půda | Extrakční čas | DOC ^a (mg/l) | pH | Eh ^b (mV) |
|-----------------------------|---------------|-------------------------|--------|----------------------|
| Kontrolní (bez nZVI) | 2h | 384 | 3,87 | 457 |
| | | ± 19,2 | ± 0,04 | ± 0,87 |
| Stabilizovaná nZVI | 2h | 393 | 4,23 | 399 |
| | | ± 3,28 | ± 0 | ± 1,36 |
| Kontrolní (bez nZVI) | 24h | 403 | 4,54 | 453 |
| | | ± 7,20 | ± 0,01 | ± 4,45 |
| Stabilizovaná nZVI | 24h | 437 | 4,86 | 410 |
| | | ± 4,95 | ± 0,02 | ± 1,20 |

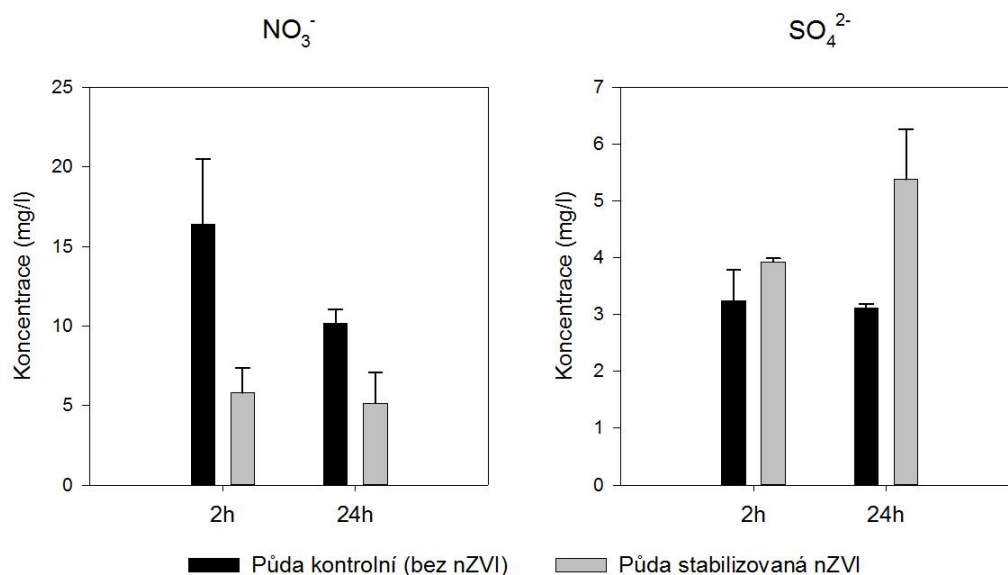
^a Rozpuštěný organický uhlík

^b Oxidačně redukční potenciál.

Dle výsledků analýzy IC (příloha 4) byly nejvyšší koncentrace zaznamenány u aniontů organických kyselin, které byly součástí extrakčního roztoku. V největším množství se vyskytoval acetát, jehož koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 271 mg/l do 257 mg/l, statisticky významný pokles u půdy stabilizované nZVI byl zaznamenán pouze v případě 24-hod extrakční doby. Laktát se vyskytoval v koncentracích 156–172 mg/l. Koncentrace laktátu statisticky významně klesaly u stabilizované půdy, a to v obou extrakčních časech. Rozdíl v koncentracích byl také průkazný mezi 2 hodinovou a 24 hodinovou extrakční dobou. Citrát se nacházel v koncentracích od 132 mg/l do 146 mg/l; oproti ostatním aniontům byl u citrátu zaznamenán signifikantní nárůst koncentrace u 24 hodinové extrakční doby pro půdu stabilizovanou. Rozdíl v koncentracích citrátu pro 2 hodinový experiment byl statisticky nevýznamný. Malát byl zastoupen v koncentracích od 79 mg/l do 112 mg/l, statisticky průkazný byl pokles hodnot u stabilizované půdy v případě 2-hod extrakční doby. Formiát se vyskytoval v koncentracích 30–52 mg/l, signifikantní byl pokles množství pro stabilizovanou půdu po 24 hodinové extrakci.

Koncentrace dusičnanů (obr. 14, příloha 4) se pohybovaly v rozmezí od 16 mg/l do 5 mg/l, nejvíce NO₃⁻ se uvolnilo při 2 hodinové extrakci

u nestabilizované půdy a nejméně u 24 hodinové extrakce u půdy stabilizované. Koncentrace síranů (obr. 14, příloha 4) dosahovaly nejvyšší hodnoty 5 mg/l u půdy stabilizované nZVI při 24 hodinové extrakci a naopak nejnižší koncentrace (3 mg/l) byly zaznamenány u nestabilizované půdy pro oba extrakční časy.

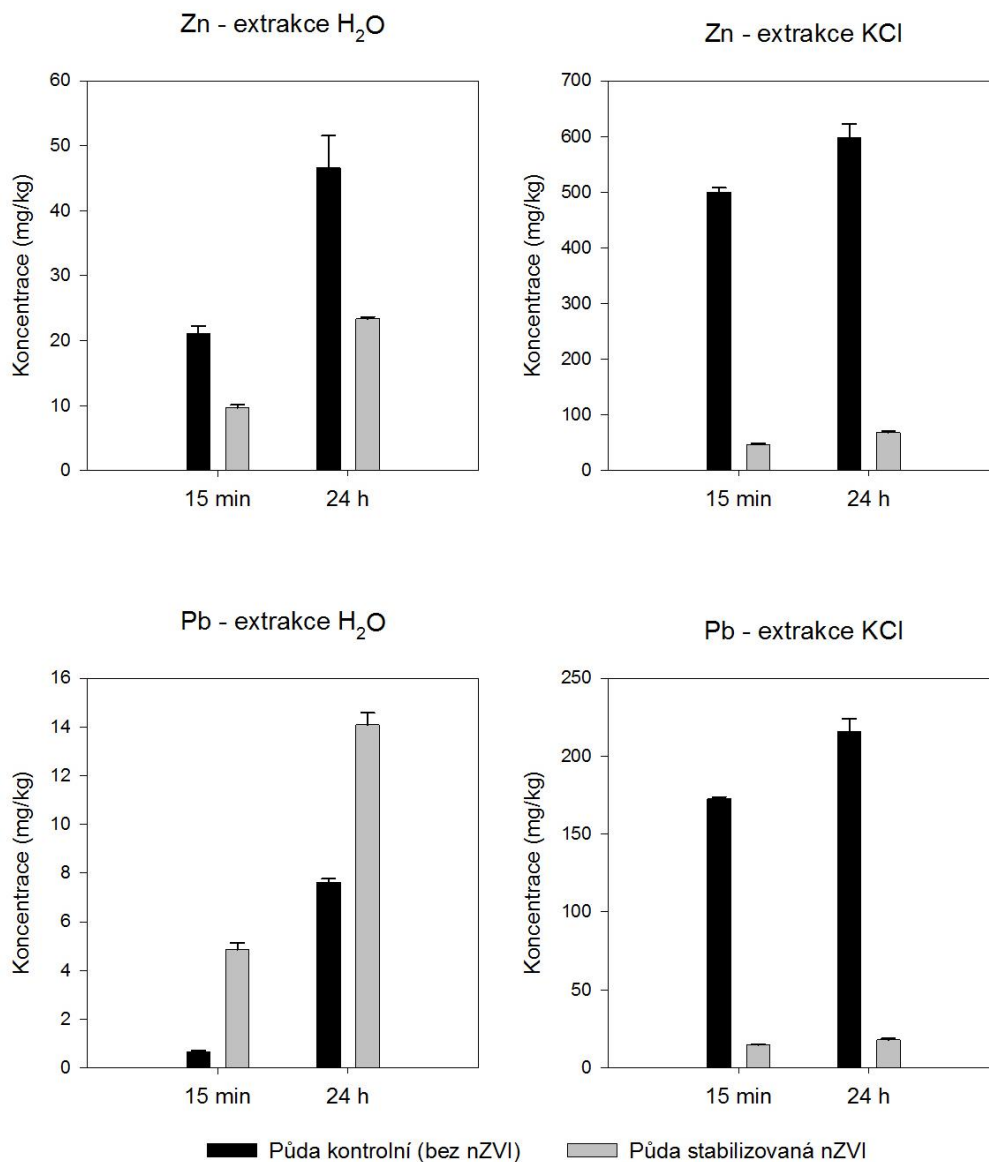


Obr. 14. Koncentrace iontů NO_3^- a SO_4^{2-} při extrakci RHIZO v závislosti na čase pro nestabilizovanou a stabilizovanou půdu (průměr \pm směrodatná odchylka).

9.2.4. Charakteristiky půdy při extrakci H₂O a KCl

Obr. 15 znázorňuje závislost koncentrací sledovaných kontaminantů na extrakčním činidle, čase a přidávku nZVI, hodnoty koncentrací prvků jsou uvedeny v příloze 5. Koncentrace Zn se pohybovaly v rozmezí 9,7–598 mg/kg, nejnižší hodnoty byly dosaženy při 15-min extrakci s deionizovanou vodou u stabilizované půdy a nejvyšší hodnoty naopak při 24-hod extrakci s KCl u půdy nestabilizované (obr. 15). Snížení koncentrace Zn ve stabilizované půdě oproti půdě kontrolní bylo ve všech případech statisticky významné. Při 24-hod extrakci s vodou došlo ke snížení Zn ve stabilizované půdě téměř o 50 %. K největšímu poklesu koncentrace Zn došlo při 15-min extrakci s KCl, kdy se hodnota snížila o 91 % a po 24-hod extrakci s KCl došlo ke snížení o 89 %. Obecně při extrakci KCl bylo vyluhováno větší množství Zn, rozdíl mezi H₂O a KCl je statisticky významný. Větší koncentrace byla vyluhována při extrakčním čase 24 hodin, statistika prokázala významnost tohoto rozdílu.

Vyloužené koncentrace Pb (obr. 15, příloha 5) se pohybovaly v rozmezí 1 až 216 mg/kg. Při extrakci deionizovanou vodou se koncentrace Pb statisticky významně zvýšily u půdy stabilizované nZVI v obou extrakčních časech. Naopak při extrakci KCl se koncentrace u stabilizované půdy signifikantně snížily, a to při 15-min extrakci o 91 % a při 24-hod extrakci o 92 %. Při použití extrakčního činidla KCl bylo oproti použití H₂O vyluhováno větší množství Pb. Delší čas (tj. 24 hodin) obecně vedl k většímu vyluhování Pb.



Obr. 15. Koncentrace Zn a Pb při extrakci deionizovanou vodou a KCl – porovnání v čase a mezi nestabilizovanou a stabilizovanou půdou (průměr ± směrodatná odchylka).

Hodnota pH se pohybovala od 5,1 do 6,3 (tab. 6) a byla vždy vyšší u půdy stabilizované.

Tab. 6. Změny pH pro jednotlivé extrakce (průměr ± směrodatná odchylka).

| pH | | | | |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Půda | D 15 ^a | K 15 ^b | D 24 ^c | K 24 ^d |
| Kontrolní (bez nZVI) | 5,52 | 5,26 | 5,05 | 5,18 |
| | ± 0,10 | ± 0,11 | ± 0,02 | ± 0,05 |
| Stabilizovaná nZVI | 5,98 | 6,33 | 6,00 | 5,95 |
| | ± 0,06 | ± 0,10 | ± 0,03 | ± 0,04 |

^a 15-min extrakce H₂O, ^b 15-min extrakce KCl, ^c 24-hod extrakce H₂O, ^d 24-hod extrakce KCl

Hodnoty pro rozpuštěný organický uhlík jsou uvedeny v tab. 7, nejvyšší koncentrace byly zaznamenány u 24 hodinové extrakce s H₂O u půdy stabilizované nZVI, naopak nejnižší koncentrace byly u 15 minutové extrakce s vodou u půdy kontrolní (bez nZVI). Vyluhovatelnost DOC ze stabilizované půdy oproti nestabilizované byla v případě extrakce H₂O statisticky významně vyšší u obou časů. U 15 minutové a 24 hodinové extrakce KCl byla naopak vyšší koncentrace DOC u půdy nestabilizované, tento rozdíl nebyl však statisticky významný.

Tab. 7. Koncentrace DOC pro jednotlivé extrakce (průměr ± směrodatná odchylka).

| DOC (mg/l) | | | | |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Půda | D 15 ^a | K 15 ^b | D 24 ^c | K 24 ^d |
| Kontrolní (bez nZVI) | 119 | 357 | 424 | 253 |
| | ± 24,6 | ± 16,9 | ± 40,6 | ± 30,2 |
| Stabilizovaná nZVI | 334 | 293 | 606 | 240 |
| | ± 17,9 | ± 52,5 | ± 244 | ± 26,3 |

^a 15-min extrakce H₂O, ^b 15-min extrakce KCl, ^c 24-hod extrakce H₂O, ^d 24-hod extrakce KCl

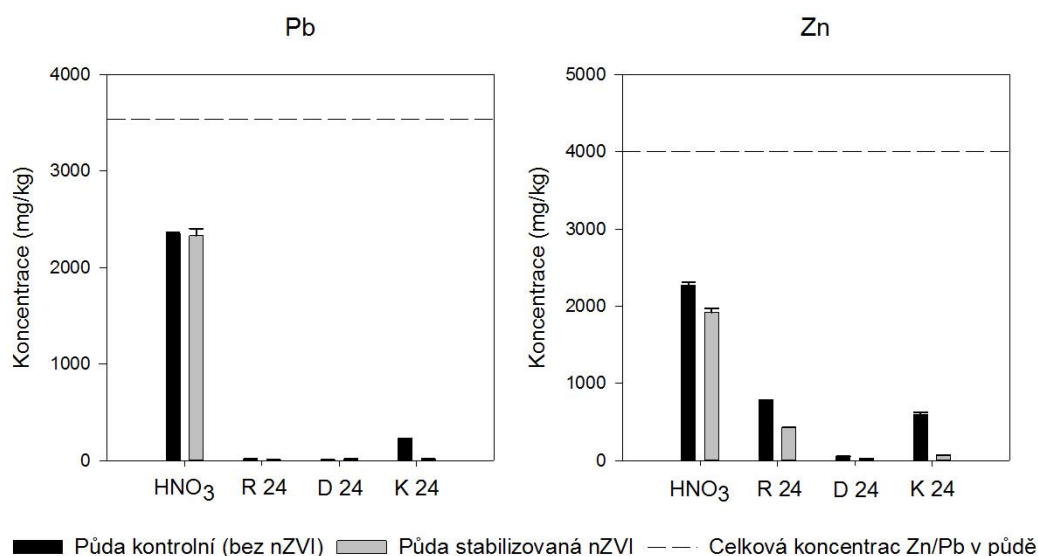
Výsledky analýzy IC pro extrakci H₂O jsou uvedeny v příloze 6. V případě laktátu, propionátu a formiátu nedošlo k významné změně koncentrací po stabilizaci. Naopak u acetátu a citrátu došlo po stabilizaci nZVI ke zvýšení koncentrace u obou časů. Při 15-min extrakci došlo k poklesu koncentrace oxalátu, nicméně při 24-hod extrakci byl zaznamenán nárůst v koncentraci oxalátových aniontů. Koncentrace dusičnanů se pohybovaly v rozmezí od 99–113 mg/l pro nestabilizovanou půdu a 7–99 mg/l u půdy stabilizované. Koncentrace síranů byla 19–48 mg/l pro půdu kontrolní a 54–78 mg/l u stabilizované půdy.

9.2.5. Porovnání extrakčních metod

Za účelem posouzení vyluhovatelnosti Pb a Zn byly sestaveny grafy porovnání koncentrací z jednotlivých extrakčních metod (popsaných v předchozích kapitolách) spolu s porovnáním vzhledem k celkové koncentraci daného prvku v půdě. Pro srovnání byl vybrán extrakční čas 24 hodin.

Při extrakci HNO_3 jako nejsilnějšího použitého činidla byly koncentrace vyluhovaného Pb nejvyšší a dosahovaly hodnot přibližně 2 g/kg pro kontrolní půdu i pro stabilizovanou půdu tzn., že se uvolnilo 66 % Pb z jeho celkové koncentrace v půdě (obr. 16). Při 24 hodinové RHIZO extrakci a 24 hodinové extrakci deionizovanou vodou bylo vyluhováno podstatně méně Pb z celkové koncentrace v půdě, a to pro nestabilizovanou i stabilizovanou půdu. Při 24 hodinové extrakci KCl bylo vyluhováno 6 % Pb u půdy nestabilizované a 1 % u půdy stabilizované. Rozdíl v koncentracích Pb extrahovaných pomocí HNO_3 oproti ostatním extrakčním činidlům byl statisticky významný.

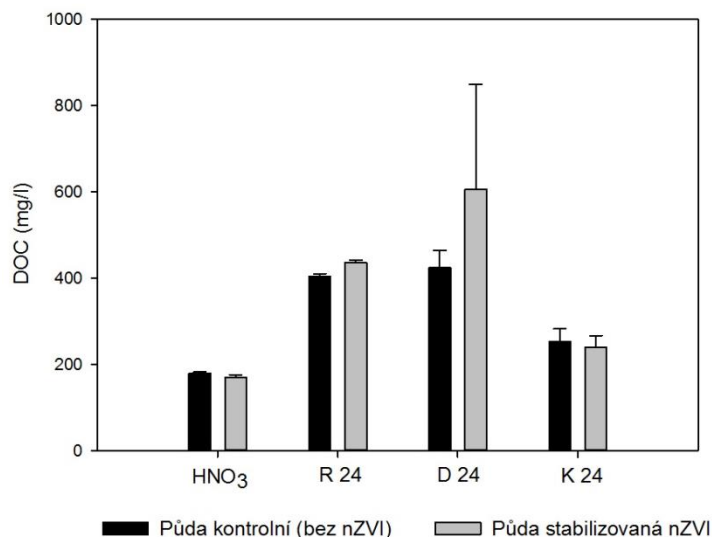
Podobná situace byla pozorována u Zn, kde nejvyšší koncentrace byly uvolněny extrakcí HNO_3 , nicméně bylo vyluhováno „pouze“ 57 % z celkové koncentrace Zn v půdě u půdy nestabilizované a 48 % u půdy stabilizované (obr. 16). U ostatních extrakcí bylo oproti HNO_3 vyluhováno statisticky významně méně Zn. Při 24 hodinové RHIZO extrakci se uvolnilo 19 % Zn z půdy nestabilizované, resp. 11 % z půdy stabilizované. Při 24 hodinové extrakci deionizovanou vodou bylo v obou případech (kontrolní a stabilizovaná půda) vylouženo pouze 1 % Zn z celkové koncentrace v půdě. Při 24 hodinové extrakci KCl se vyloužilo 15 % celkového Zn u půdy nestabilizované a 2 % Zn u půdy stabilizované.



Obr. 16. Porovnání koncentrací Pb a Zn při extrakčních metodách HNO_3 , 24-hod RHIZO (R24), 24-hod H_2O (D24) a 24-hod KCl (K24) (průměr ± směrodatná odchylka).

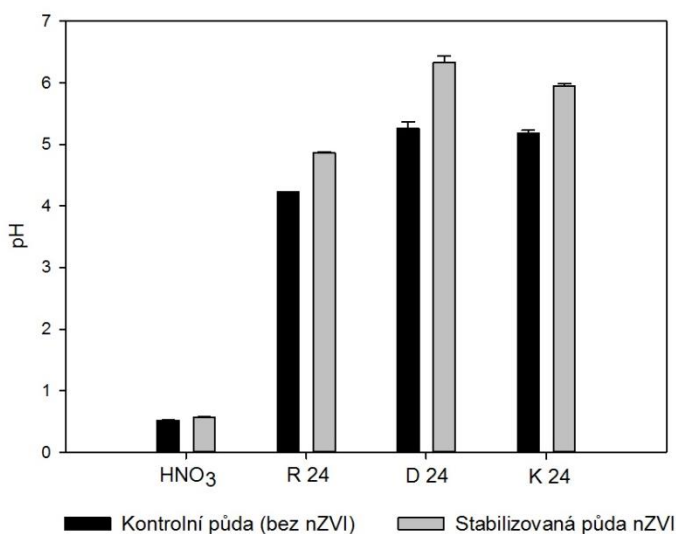
Nejnižší koncentrace rozpuštěného organického uhlíku bylo dosaženo při extrakci HNO_3 , kde se hodnoty pohybovaly od 179 mg/l pro nestabilizovanou půdu do 171 mg/l pro stabilizovanou půdu (obr. 17). Naopak nejvyšší množství DOC bylo zaznamenáno u 24 hodinové extrakce deionizovanou vodou u půdy stabilizované, kde

hodnota DOC dosahovala 606 mg/l. Přestože do roztoku RHIZO byly přidány organické kyseliny, nebyly koncentrace DOC nejvyšší, vyšší koncentrace DOC byly zaznamenány při extrakci H₂O.



Obr. 17. Porovnání koncentrací rozpuštěného organického uhlíku (DOC) při extrakčních metodách HNO₃ a RHIZO (R24), H₂O (D24) a KCl (K24) v čase 24-hod (průměr ± směrodatná odchylka).

Nejnižší hodnota pH byla naměřena u extrakce HNO₃ pro obě varianty půdy (0,52–0,57). Hodnoty pH u RHIZO extrakce byly také poměrně nízké (4,23 pro kontrolní půdu a 4,86 pro stabilizovanou půdu). Naopak nejvyšší bylo pH u 24 hodinové extrakce deionizovanou vodou. U všech extrakcí byly hodnoty pH signifikantně vyšší pro půdu stabilizovanou (obr. 18).



Obr. 18. Porovnání pH při extrakčních metodách HNO₃ a RHIZO (R24), H₂O (D24) a KCl (K24) v čase 24-hod (průměr ± směrodatná odchylka).

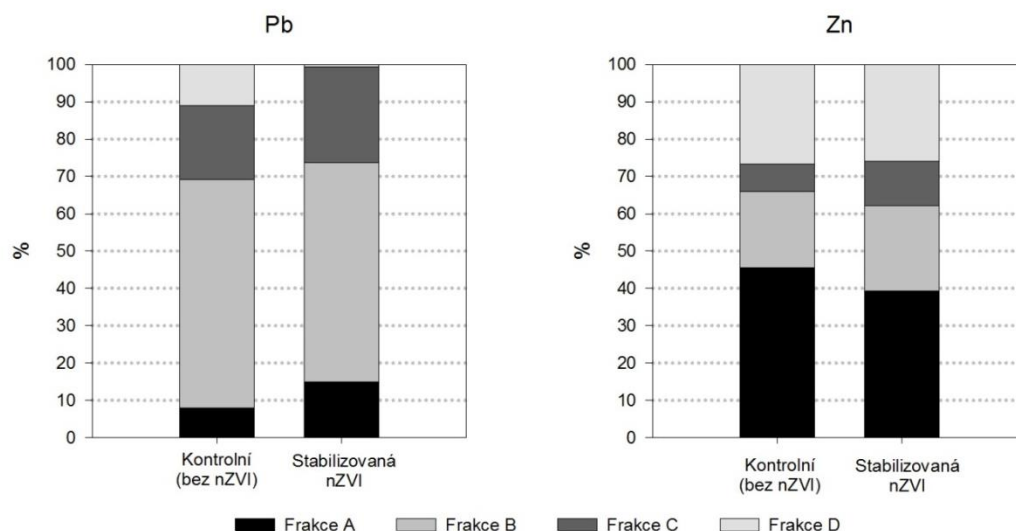
9.3. Stanovení WHC

K nasycení nestabilizované půdy došlo po přidání 47,8 g vody na 100 g půdy, což odpovídá množství vody, které je potřeba pro dosažení 100% retenční vody kapacity (WHC) studované půdy.

9.4. Sekvenční extrakce

Výsledky sekvenční extrakce zobrazují distribuci Pb a Zn v různých půdních frakcích (obr. 19, příloha 7). Porovnání rozložení kovů v jednotlivých frakcích umožňuje zjistit účinky aplikace nanoželeza (nZVI) na mobilitu Pb a Zn. Výměnná frakce (A) představuje nejvíce mobilní specie Pb/Zn. V této frakci bylo Pb zastoupeno ve výši 7,9 % u nestabilizované půdy, kdežto u půdy stabilizované bylo zastoupení Pb 15 %, tj. statisticky významně vyšší. Olovo bylo v největší míře akumulováno v redukovatelné frakci (B), konkrétně v nestabilizované půdě bylo na tuto frakci vázáno 61,2 % Pb a v půdě stabilizované 58,7 % (statisticky nevýznamný rozdíl). Na oxidovatelnou frakci (C) bylo vázáno 19,9 % Pb u půdy nestabilizované a 25,6 % u půdy stabilizované, nicméně tento nárůst rovněž není statisticky významný. V reziduální frakci (D) bylo Pb u půdy nestabilizované zastoupeno 10,9 %, u půdy stabilizované byl zaznamenán statisticky významný pokles na 0,7 %. V půdě s nanoželezem ve frakci D, kde je Pb nejméně mobilní, bylo tedy Pb vázáno v nejmenším množství.

Zinek (obr. 19) byl na rozdíl od Pb nejvíc vázán na frakci výměnnou (A), konkrétně u půdy nestabilizované bylo zjištěno 45,5 % Zn a u půdy stabilizované statisticky významný pokles na 39,3 %. Ve frakci redukovatelné (B) byl Zn zastoupen ve výši 20,4 % u nestabilizované půdy a 22,9 % u půdy stabilizované (statisticky významný rozdíl). Nejméně byl Zn zastoupen v oxidovatelné frakci (C), a to 7,4 % v nestabilizované půdě a 11,8 % ve stabilizované půdě, tento rozdíl byl prokázán jako statisticky významný. V reziduální frakci (D) se Zn v obou případech vyskytoval v podobném množství, tj. 26,6 % pro půdu nestabilizovanou a 26 % pro půdu stabilizovanou.



Obr. 19. Procentuální zastoupení Pb a Zn v jednotlivých frakcích.

9.5. Experiment s rhizoboxy – porovnání pH

Porovnání změn pH volné půdy a rhizosféry je uvedeno v tab. 8. U stanovení pH deionizovanou vodou byla hodnota pH pro oblast rhizosféry (pH_R) vždy nižší oproti volné půdě (pH_V), a to pro půdu stabilizovanou (pH_R 5,54 vs. pH_V 5,78) i nestabilizovanou (pH_R 5,39 vs. pH_V 5,53) se statisticky prokazatelnými rozdíly. Porovnání hodnot pH rhizosféry i volné půdy mezi půdou stabilizovanou a nestabilizovanou ukázalo vyšší pH_R i pH_V pro půdu stabilizovanou, tyto rozdíly byly rovněž statisticky významné. Hodnoty pH u stanovení KCl byly obecně nižší než u stanovení vodou. U půdy z kontrolních rhizoboxů (tj. nestabilizovaná půda) byla hodnota pH vyšší pro půdu z oblasti rhizosféry, naopak u stabilizované půdy bylo pH vyšší pro oblast volné půdy, tyto rozdíly byly statisticky významné. Srovnání pH pro stabilizovanou a nestabilizovanou půdu ukazuje, že i v případě stanovení pH pomocí KCl je pH statisticky významně vyšší pro půdu stabilizovanou.

Tab. 8. Porovnání pH půdy z rhizoboxů pro půdu nestabilizovanou (kontrolní) a stabilizovanou (průměr \pm směrodatná odchylka; R – rhizosférická půda, V – volná půda).

| | Kontrolní R | Kontrolní V | Stabilizovaná R | Stabilizovaná V |
|-------------------------------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|
| pH_{H_2O} | 5,39 | 5,53 | 5,54 | 5,78 |
| | ± 0 | $\pm 0,01$ | $\pm 0,03$ | $\pm 0,01$ |
| pH_{KCl} | 5,18 | 5,13 | 5,25 | 5,42 |
| | $\pm 0,01$ | $\pm 0,02$ | $\pm 0,01$ | $\pm 0,01$ |

10. Diskuse

10.1. Uvolňování Pb a Zn v závislosti na extrakčním činidle

Největší množství Pb/Zn bylo vylouženo pomocí HNO₃, silné kyseliny běžně používané pro extrakci kovů (Dermont et al., 2008). Právě kyselé pH má za následek vysoké uvolňování kovů. Yoo et al. (2013) například uvádějí, že pomocí 0,1 M HNO₃ bylo extrahováno 99 % Pb, zatímco v našem případě bylo za použití 0,43 M HNO₃ extrahováno pouze 66 %, což může mít souvislost s pufrací kapacitou půdy či délkou extrakce.

Při extrakci KCl bylo oproti extrakci H₂O a RHIZO vyluhováno poměrně vysoké množství Pb. Khan et al. (2000) zaznamenali zvýšenou mobilitu Pb v důsledku přítomnosti kationtů NH₄⁺, Na⁺, K⁺, Ca²⁺ a aniontů NO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻ a PO₄²⁻, které blokují adsorpci kovů. Naopak komplexace Zn s Cl⁻, NO₃⁻, and SO₄²⁻ příliš neovlivňuje sorpci Zn (Bradl et al., 2005). Při extrakci RHIZO bylo v porovnání s ostatními extrakcemi uvolněno nejméně Pb, a to díky jeho silné afinitě vůči organickým kyselinám (Jones, 1998). Při posuzování kontaminace je tedy důležité sledovat nejen změny koncentrací klíčových kontaminantů, ale i koncentrace hlavních prvků a složek půdy, které se na procesech stabilizace/imobilizace mohou podílet, jelikož kompetice mezi ionty může mít značný efekt na výslednou sorpci kovů.

V porovnání s předchozími metodami při extrakci H₂O došlo k nejnižšímu vyluhování Pb a Zn, avšak v chování těchto dvou prvků bylo zaznamenáno rozdílné chování. Pro Pb jsou hlavní mechanismy odstraňování chemická redukce, která optimálně probíhá při pH < 6 a adsorpce při pH > 4 (Gil-Díaz, 2014a; Tehrani et al., 2015). Nicméně kovům v adsorpci na půdní částice konkuruje rozpuštěný organický uhlík (DOC) nebo tvoří s kovy rozpustné komplexy a tím zvyšuje jejich mobilitu (Antoniadis et Alloway, 2001). Hindersmann et Mansfeldt (2014) prokázali, že Pb tvoří komplexy s funkčními skupinami půdní organické hmoty, v důsledku toho byla nalezena korelace mezi rozpuštěným Pb a DOC. Při H₂O extrakci byl zaznamenán nárůst koncentrace DOC pro stabilizovanou půdu, kde jsou tyto hodnoty dokonce vyšší než u extrakce KCl. Dle Grybose (2007) může být nárůst DOC způsoben zvýšením pH a reduktivním rozpouštěním oxidů. Naopak Zn, který netvoří stabilní komplexy s organickou hmotou, není příliš ovlivněn přítomností rozpuštěného organického uhlíku v půdním roztoku (McLean et Bledsoe, 1992). Obecně bylo pomocí H₂O vyluhováno větší množství Zn než Pb, jelikož Zn je více mobilní (Fijalkowski et al., 2012), což naznačují i výsledky sekvenční extrakce, kde je Zn vázán v největší míře na frakci výměnnou.

10.2. Posouzení stabilizace kovů pomocí nZVI

Výsledky z jednotlivých extrakcí prokázaly, že nanoželezo má potenciál pro stabilizaci kovů, jak ostatně uvádějí i další autoři (Gil-Díaz et al., 2014a; Gil-Díaz et al., 2014b; Tehrani et al., 2015). Nicméně u extrakce HNO₃ nedošlo po aplikaci nZVI k významnému snížení koncentrace Pb, důvodem je extrémně

nízké pH roztoku. Hodnota pH je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících mobilitu kovů. Je všeobecně známo, že při nízkém pH se zvyšuje mobilita kovů a snižuje se adsorpce kovů na nZVI (Zhang et al., 2013). Gil-Díaz et al. (2014a) zaznamenali, že aplikace nZVI zvyšuje pH, což se shoduje s výsledky této práce. Pro stabilizaci Pb je však optimální hodnota pH 5 ± 1 , při nižších/vyšších hodnotách účinnost nZVI klesá (Tehrani et al., 2015). U ostatních extrakcí bylo pH oproti HNO_3 signifikantně vyšší. Klimkova et al. (2011) uvádí, že Zn a další kationty, které nelze chemicky redukovat použitím nZVI, byly imobilizovány právě díky zvýšení pH a následnému srážení, sorpci a začlenění do vzniklých oxyhydroxidů Fe.

Stabilizace Pb nebyla účinná u extrakce H_2O , kde naopak došlo k vyluhování většího množství Pb než u půdy kontrolní, a to u obou časů (15 min, 24 hod). Nárůst koncentrace je spojený se zvýšením množství rozpuštěného organického uhlíku po aplikaci nZVI. Vliv DOC na mobilitu Pb byl diskutován v předchozí kapitole.

Výsledky sekvenční extrakce poskytují informaci o biodostupnosti kovů a účinnosti aplikace nZVI (Gil-Díaz et al., 2014a). Mobilita kovů klesá v pořadí frakcí výměnná > redukovatelná > oxidovatelná > reziduální (Umoren et al., 2007). Vyhodnocení ukázalo, že množství Zn vázaného na dostupnější frakci se vlivem nZVI snížilo, stejný výsledek uvádí Gil-Díaz et al. (2014a, 2014b). Dle Vítkové et al. (2015) aplikace nanočástic oxidů Fe či Mn předpokládá tvorbu nových Fe/Mn/Al oxyhydroxidů a následnou adsorpci kovů na tyto oxyhydroxidy, tzn. redukovatelnou frakci. Zvýšená vazba na redukovatelnou frakci byla však zaznamenána pouze v případě Zn. Naopak Pb bylo po přidavku nZVI spíše mobilizováno. Rozdílné chování Pb a Zn může být způsobeno různými chemickými vlastnostmi obou kovů (Gil-Díaz, 2014a), zejména v souvislosti s organickou hmotou. Na procesu imobilizace se podílejí charakteristiky půdního prostředí, jako jsou pH, DOC, Eh či obsah dalších prvků. Gil-Díaz et al. (2014a) udává, že kyselé půdy mají menší podíl Fe/Al/Mn oxidů než půdy vápenaté, tedy alkalické. Dalším důležitým parametrem, který udává schopnost půdy stabilizovat kovy, je obsah jílu.

10.3. Vliv simulovaných rhizosférických podmínek na vyluhovatelnost kovů

K simulaci rhizosférických podmínek byl použit roztok (RHIZO) s nízkomolekulárními organickými kyselinami (LMWOA), tyto kyseliny jsou přirozenou součástí půdního prostředí a pocházejí z rozkladu půdní organické hmoty, kořenových exudátů či z mikrobiálních metabolitů (Jones, 1998). Organické kyseliny jsou důležité pro mobilitu kovů vzhledem k jejich chelatačním a komplexotvorným vlastnostem. Za přítomnosti LMWOA mohou být kovy snadno uvolněny (Feng et al., 2005). Koncentrace organických kyselin také mění charakteristiky půdního prostředí v rhizosféře (Qin et al., 2004), což prokázaly výsledky experimentu s rhizoboxy (kap. 9.3), kde byly zaznamenány signifikantní rozdíly mezi pH rhizosféry a volné půdy.

Při RHIZO extrakci bylo uvolněno větší množství Zn než Pb, což souvisí s tím, že Zn je obecně více mobilní než Pb. Při RHIZO extrakci byly detekovány anionty těch organických kyselin, které byly součástí činidla RHIZO (acetát > laktát > citrát > malát > formiát). U všech zmíněných aniontů s výjimkou citrátu došlo po aplikaci nZVI ke snížení koncentrace. Kyselina citronová má největší schopnost extrahovat toxické kovy, extrakce kovů se však snižuje se zvyšujícím se pH (Ding et al., 2014); právě ke zvýšení pH a zároveň poklesu koncentrací sledovaných kovů došlo ve všech případech aplikací nZVI. Dle Schwaba et al. (2008) kyselina citronová zvyšuje mobilitu Zn v půdě, zatímco na Pb má malý dopad. Ding et al. (2014) uvádějí, že míra desorpce kovů za přítomnosti kyseliny citronové v koncentraci 10 mmol/L byla v pořadí $Pb < Zn < Cu < Cd$. Signifikantní zvýšení koncentrace citrátu pro stabilizovanou půdu bylo v této práci zaznamenáno pouze při 24-hod extrakci, přesto však byla stabilizace Zn účinná. Ding et al. (2014) zmiňují, že organické kyseliny mohou stimulovat jak rozpustnost, tak imobilizaci rizikových kovů v půdě v závislosti na typu a koncentraci organických ligandů, typu kovu, půdních podmínkách a dalších faktorech prostředí. Vliv organických kyselin na rozpustnost rizikových kovů v půdě není konstantní, organické kyseliny v malých koncentracích mohou například extrahovat více kovů než kyseliny ve velkých koncentracích, či slabé kyseliny mohou vyluhovat více kovů než silné organické kyseliny (Ding et al., 2014). Z tohoto důvodu by další experimenty měly být zaměřeny na interakce mezi půdou, organickými kyselinami, toxickými kovy a pH půdního roztoku.

Obecně byla stabilizace pomocí nZVI účinná pro Pb i Zn, a to i přes zvýšenou koncentraci DOC vlivem kořenových exudátů. Jak již bylo zmíněno, Pb je více ovlivněn přítomností DOC, což vysvětluje vyšší účinnost stabilizace v případě Zn. Podle Kima et al. (2010) v kyselém prostředí ($pH < 6,5$) má na mobilitu kovů větší vliv pH než DOC. Naproti tomu v alkalickém prostředí má významnější vliv DOC.

11. Závěr

Při stabilizaci kovů je důležité sledování jejich mobility, neboť při změně půdních podmínek může dojít k jejich uvolňování do prostředí. Mobilita sledovaných kovů Zn/Pb je ovlivňována mnoha faktory jako je pH, DOC, Eh, speciace kovu či přítomnost dalších iontů. Při extrakcích bylo zaznamenáno odlišné chování Pb a Zn. Účinnost extrakčních činidel na koncentrace Zn ve výluhu byla v pořadí $\text{HNO}_3 \gg \text{RHIZO} > \text{KCl} \gg \text{H}_2\text{O}$ a pro Pb v pořadí $\text{HNO}_3 \gg \text{KCl} > \text{RHIZO} \gg \text{H}_2\text{O}$ u kontrolní půdy, přičemž u stabilizované půdy bylo uvolněno více Pb při extrakci H_2O než při RHIZO extrakci. Sekvenční extrakce potvrdila, že Zn je mobilnější než Pb, neboť největší množství Zn bylo vázáno na frakci výměnnou (46 % u půdy kontrolní, resp. 39 % u půdy stabilizované).

Chemická stabilizace pomocí nZVI byla ve všech případech u Zn účinná. Největší pokles koncentrace Zn pro stabilizovanou půdu byl zaznamenán u 15-min extrakce KCl (91 %) a nejmenší naopak u extrakce HNO_3 (16 %), a to v souvislosti s nízkým pH roztoku. Účinnost nZVI prokázaly taktéž výsledky sekvenční analýzy, jelikož došlo ke zvýšení množství Zn vázaného na méně dostupné frakce (redukovatelná, oxidovatelná, reziduální).

Olovo bylo nejvíce imobilizováno při extrakci KCl (91 %, resp. 92 %). Při extrakci HNO_3 došlo po stabilizaci k nevýznamnému snížení koncentrace přibližně o 1 %. U extrakce H_2O nebyla stabilizace efektivní a došlo ke zvýšení koncentrace Pb v souvislosti se zvýšenou koncentrací DOC. Výsledky sekvenční extrakce ukázaly, že po aplikaci nZVI bylo Pb lehce mobilizováno.

U RHIZO extrakce, která simulovala kořenové exudáty, došlo k signifikantnímu snížení koncentrace Zn i Pb u stabilizované půdy, a to i přes přítomnost organických aniontů a zvýšené hodnotě DOC. Předpokládá se tedy pozitivní efekt nZVI na stabilizaci Pb/Zn za přítomnosti kořenových exudátů, tedy např. během podporované fytostabilizace. Nicméně pro pochopení procesů imobilizace v půdních a rhizosférických podmínkách by další experimenty měly být zaměřeny na interakce mezi půdou, organickými kyselinami, toxickými kovy a pH půdního roztoku.

12. Přehled literatury a použitých zdrojů

ADRIANO D. C., WENZEL W. W., VANGRONSVELD J. et BOLAN N. S., 2004: *Role of assisted natural remediation in environmental cleanup*. Geoderma, 122: 121–142 pp.

ALCALÁ M. I., CLEMENTE R. et BERNAL M. P., 2009: *Metal availability and chemical properties in the rhizosphere of *Lupinus albus* L. growing in a high-metal calcareous soil*. Water, Air & Soil Pollution, 201: 283–293 pp.

ALI H., KHAN E. et SAJAD M. A., 2013: *Phytoremediation of heavy metals—Concepts and applications*. Chemosphere, 91 (7): 869–881 pp.

ALLOWAY B. J., 2002: *Zinc in Soils and crop nutrition*. International Zinc Association, Brusel.

ANTONIADIS V. et ALLOWAY B. J., 2002: *The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils*. Environmental Pollution, 117 (3): 515–521 pp.

BAIS H. P., LOYOLA-VARGAS V. M., FLORES H. E. et VIVANCO J. M., 2001: *Root specific metabolism: the biology and biochemistry of underground organs*. In vitro Cellular and Developmental Biology—Plant, 37 (6): 730–741 pp.

BALÍK, 2009: *Význam rhizosféry v životním prostředí*. Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí, Praha, online:

<http://www.phytosanitary.org/projekty/2009/projekt4.pdf>, cit. 2. 3. 2015.

BOLAN N., KUNHIKRISHNAN A., THANGARAJAN R., KUMPIENE J., PARK J., MAKINO KIRKHAM T. M. B. et SCHECKEL K., 2014: *Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils – To mobilize or to immobilize?* Journal of Hazardous Materials, 266: 141–166 pp.

BERTIN C., XIAOHAN Y. et WESTON L. A., 2003: *The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere*. Plant and Soil, 256: 67–83 pp.

BRADL H., KIM C., KRAMAR U. et STUEBEN D., 2005: *Interactions of heavy metals*. Interface Science and Technology, 6: 28–164 pp.

COMPERNOLLE T., VAN PASSEL S., WEYENS N., VANGRONSVELD J., LEBBE L. et THEWYS T., 2012: *Groundwater Remediation and the Cost Effectiveness of Phytoremediation*. International Journal of Phytoremediation, 14: 861–877 pp.

CUNDY A. B., HOPKINSON L. et WHITBY R. L. D., 2008. *Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: A review*. Science of the Total Environment, 400: 42–51 pp.

ČERNÍK M., 2010: *Chemicky podporované in situ sanační technologie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha.

DERMONT G., BERGEON M., MERCIER G. et RICHERE-LAFLECHE M., 2008: *Soil washing for metal removal: a review of physical/chemical technologies and field applications*. Journal of Hazardous Materials, 152 (1): 1–31 pp.

- DING Y. Z., SONG Z. G., FENG R. W. et GUO J. K., 2014: *Interaction of organic acids and pH on multi-heavy metal extraction from alkaline and acid mine soils*. International Journal of Environmental Science and Technology, 11 (1): 33–42 pp.
- DOUAY F., PELFRENE A., PLANQUE J., FOURRIER H., RICHARD A., ROUSSEL H. et GIRONDELOT B., 2013: *Contamination, Fractionation and Availability of Metals in Urban Soils in the Vicinity of Former Lead and Zinc Smelters, France*. Environmental Monitoring and Assessment, 185: 3665–3680 pp.
- ETIM. E., 2012: *Phytoremediation and Its Mechanisms : A Review*. International Journal of Environment and Bioenergy, 2 (3): 120–136 pp.
- FENG M. H., SHAN X. Q., ZHANG S. Z. et WEN B., 2005: *Comparison of a rhizosphere-based method with other one-step extraction methods for assessing the bioavailability of soil metals to wheat*. Chemosphere, 59: 939–949 pp.
- FIJALKOWSKI K., KACPRZAK M., GROBELAK A. et PLACEK A., 2012: *The influence of selected soil parameters on the mobility of heavy metals in soils*. Inżynieria I Ochrona Środowiska, 15 (1): 81–92 pp.
- GARCÍA L. J., BARBAS C., PROBANZA A., BARRIENTOS M. L. et GUTIERREZ MAÑERO F. J., 2001: *Low molecular weight organic acids and fatty acids in root exudates of two Lupinus cultivars at flowering and fruiting stages*. Phytochemical Analysis , 12: 305–311 pp.
- GIL-DÍAZ M. M., PÉREZ-SANZ A., VINCENTE M. A. et LOBO M. C., 2014a: *Immobilisation of Pb and Zn in Soils Using Stabilised Zero-valent Iron Nanoparticles: Effects on Soil Properties*. Clean – Soil, Air, Water, 42 (12): 1776–1784 pp.
- GIL-DÍAZ M., ORTIZ L. T., COSTA G., ALONSO J., RODRÍGUEZ-MEMBIBRE M. L., SÁNCHEZ-FORTÚN S., PÉREZ-SANZ A., MARTÍN M. et LOBO M. C., 2014b: *Immobilization and Leaching of Pb and Zn in an Acidic Soil Treated with Zerovalent Iron Nanoparticles (nZVI): Physicochemical and Toxicological Analysis of Leachates*. Water, Air & Soil Pollution, 225 (6): 1–13 pp.
- GRIEGER K. D., FJODBØGE, HARTMANN N. B., ERIKSSON E., BJERG P. L. et BAUN A., 2010: *Environmental benefits and risks of zero-valent iron nanoparticles (nZVI) for in situ remediation: risk mitigation or trade-off*. Journal of Contaminant Hydrology, 118 (3): 165–1983 pp.
- GRYBOS M., DAVRANCHE M., GRUAU D. et PETITJEAN P., 2007: *Is trace metal release in wetland soils controlled by organic matter mobility or Fe-oxyhydroxides reduction?* Journal of colloid and interface science, 314 (2): 490–501 pp.
- HINDERSMANN I. et MANSFELDT T., 2014: *Trace Element Solubility in a Multimetal-Contaminated Soil as Affected by Redox Conditions*. Water, Air & Soil pollution, 225 (10): 1–20 pp.
- HOODA (ed), 2010: *Trace elements in soils*. John Wiley & Sons, Chichester.

- CHEN H. M., ZHENG C. R., TU C. et SHEN Z. G., 2000: *Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals*. Chemosphere, 41 (1–2): 229–234 pp.
- CHEN M., MA L. Q., SINGH S.P., CAO R.X. et MELAMED R., 2003: *Field demonstration of in situ immobilization of soil Pb using P amendments*. Advances in Environmental Research, 8 (1): 93–102 pp.
- ITRC, 2009: *Technical Regulatory Guidance Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance and Decision Trees*. Washington D. C., Interstate Technology & Regulatory Council, Phytotechnologies Team.
- JONES D. L., 1998: *Organic acids in the rhizosphere – a critical review*. Plant and soil, 205 (1): 25–44 pp.
- JONES D. et WILLET V., 2006: *Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil*. Soil Biology and Biochemistry, 38: 991–999 pp.
- JOSHI P. M. et JUWARKAR A. A., 2009: *In vivo studies to elucidate the role of extracellular polymeric substances from Azotobacter in immobilization of heavy metals*. Environmental science & technology, 43(15): 5884–5889 pp.
- KABATA-PENDIAS A., 2004: *Soil–plant transfer of trace elements – An environmental issue*. Geoderma, 122: 143–149 pp.
- KABATA-PENDIAS A., 2011: *Trace elements in soils and plants*. CRC Press, Boca Raton.
- KLIMKOVA S., CERNIK M., LACINOVA L., FILIP J., JANCIK D. et ZBORIL R., 2011: *Zero-valent Iron Nanoparticles in Treatment of Acid Mine Water from in Situ Uranium Leaching*. Chemosphere, 82: 1178–1184 pp.
- KOMÁREK M., VANĚK A. et ETTLER V., 2013: *Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – A review*. Environmental Pollution, 172: 9–22 pp.
- KUMPIENE J., LAGERKVIST A. et MAURICE C., 2006: *Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments – A review*. Waste Management, 28 (1): 215–225 pp.
- KVAPIL P. et ČERNÍK M., 2009: *Poslední zkušenosti a perspektivy dalšího použití elementárního nanoželeza – aplikace při sananci podzemních vod*. NANOCOM, Praha.
- LAMBERT M. et LEVEN B., 2000: *New Methods of Cleaning Up Heavy Metal in Soils and Water Innovative Solutions to an Environmental Problem*. Environmental Science and Technology Briefs for Citizens, 1–3 pp, online: <http://www.engg.ksu.edu/HSRC/Tosc/metals.pdf>, cit. 10. 3. 2015.
- LAVELLE P. et SPAIN A. V. (eds), 2001: *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Secaucus USA.

- LEUNG D. W. M. (ed), 2013: *Recent Advances Towards Improved Phytoremediation of Heavy Metal Pollution*. Bentham Science Publishers, Sharjah U. A. E.
- LI P., LIN C., CHENG H., DUAN X. et LEI K., 2015: *Contamination and health risks of soil heavy metals around a lead/zinc smelter in southwestern China*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113: 391–399 pp.
- LINDE M., ÖBORN I. et GUSTAFSSON J. P., 2007: *Effects of changed soil conditions on the mobility of trace metals in moderately contaminated urban soils*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 183: 69–83 pp.
- MARQUES A. P. G. C., RANGEL A. O. S. S. et CASTRO P. M. L., 2009: *Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology*. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39: 622–654 pp.
- MCLEAN J. E. et BLEDSOE B. E., 1992: *Behavior of Metals in Soils*. EPA Ground Water Issue, 1–25 pp.
- NEUMANN G. et RÖMHELD V., 2012: *Rhizosphere chemistry in relation to plant nutrition*. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*: 347–368 pp.
- NOVÁKOVÁ T., ŠVÁB M. et ŠVÁBOVÁ M., 2009: *Využití nanočástic v dekontaminačních technologiích: současný stav*. *Chemické Listy*, 103: 524–532 pp.
- O'CARROLL D., SLEEP B., KROL M., BOPARAI H. et KOCUR C., 2013: *Nanoscale zero valent iron and bimetallic particles for contaminated site remediation*. *Advances in Water Resources*, 51: 104–122 pp.
- OWNBY D. R., GALVAN K. A. et LYDY M. J., 2005: *Lead and zinc bioavailability to *Eisenia fetida* after phosphorus amendment to repository soils*. *Environmental Pollution*, 136 (2): 315–321 pp.
- PIERZYNSKI G., KULAKOW P., ERICKSON L. et JACKSON L., 2002: *Plant System Technologies for Environmental Management of Metals in Soils: Educational Materials*. *Journal of Natural Resources and Life Science Education*, 31: 31–37 pp.
- PONDER S. M., DARAB J. G. et MALLOUK T. E., 2000: *Remediation of Cr (VI) and Pb (II) aqueous solutions using supported, nanoscale zero-valent iron*. *Environmental Science & Technology*, 34 (12): 2564–2569 pp.
- QIN F., SHAN X. Q. et WEI B., 2004: *Effects of low-molecular-weight organic acids and residence time on desorption of Cu, Cd, and Pb from soils*. *Chemosphere*, 57 (4): 253–263 pp.
- QUEVAUVILLER P., 1998: *Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis. I. Standardization*. *Trends in Analytical Chemistry*, 17 (5): 289–298 pp.
- RIEUWERTS J. et FARAGO M., 1996: *Heavy metal pollution in the vicinity of a secondary lead smelter in the Czech Republic*. *Applied Geochemistry*, 11: 17–23 pp.

- RYBICKA E. H., 1996: *Impact of mining and metallurgical industries on the environment in Poland*. Applied Geochemistry, 11: 3–9 pp.
- SHERENE T., 2010: *Mobility and transport of heavy metals in polluted soil environment*. Biological Forum, 2 (2): 112–121 pp.
- SHI Z. et ERICKSON L. E., 2001: *Mathematical model development and simulation of in situ stabilization in lead contaminated soils*. Journal of Hazardous Materials, 87 (1–3): 99–116 pp.
- SHU Y. et ZHAI S., 2014: *Study on soil heavy metals contamination of a lead refinery*. Chinese Journal of Geochemistry, 33: 393–397 pp.
- SCHWAB A. P., ZHU D. S. et BANKS M. K., 2008: *Influence of organic acids on the transport of heavy metals in soil*. Chemosphere, 72 (6): 986–994 pp.
- SOUDEK P., PETROVÁ Š., BENEŠOVÁ D., KOTYZA J. et VANĚK T., 2008: *Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti*. Chemické Listy, 102: 346–352 pp.
- SUDA A. et MAKINO T., 2015: *Methodological Drawbacks of the Extraction of Trace Metals from Fe and Mn Oxides in Soil Samples with Oxalic Acid–Ammonium Oxalate–Ascorbic Acid Solution*. Water, Air, & Soil Pollution, 226.
- SUNGUR A., SOYLAK M., YILMAZ S. et OSCAN H., 2014: *Determination of heavy metals in sediments of the Ergene River by BCR sequential extraction method*. Environmental Earth Sciences, 72 (9): 3293–3305 pp.
- TAKÁČ P., SZABOVÁ T., KOZÁKOVÁ L., BENKOVÁ M. et TAKÁČ P., 2009: *Heavy metals and their bioavailability from soils in the long-term polluted Central Spiš region of SR*. Plant, Soil and Environment, 55 (1): 167–172 pp.
- TEHRANI M. R. F., SHAMSAI A. et VOSSUGHI M., 2015: *In-situ Pb²⁺ remediation using nano iron particles*. Journal of Environmental Health Science and Engineering, 13 (1): 1–8 pp.
- TIPPING E., RIEUWERTS J., PAN G., ASHMORE M. R., LOFTS S., HILL M. T. R., FARAGO M. E. et THORNTON I., 2003: *The solid–solution partitioning of heavy metals (Cu, Zn, Cd, Pb) in upland soils of England and Wales*. Environmental Pollution, 125: 213–225 pp.
- TRAKAL L., KOMÁREK M., SZÁKOVÁ J., ZEMANOVÁ V. et TLUSTOŠ P., 2011: *Biochar application to metal–contaminated soil: Evaluating of Cd, Cu, Pb and Zn sorption behavior using single- and multi-element sorption experiment*. Plant, soil and environment, 57 (8): 372–380 pp.
- UMOREN I. U., UDOH A. P. et UDOUSORO I. I., 2007: *Concentration and chemical speciation for the determination of Cu, Zn, Ni, Pb and Cd from refuse dump soils using the optimized BCR sequential extraction procedure*. The Environmentalist, 27 (2): 241–252 pp.

- USDA, 2006: *Heavy Metal Soil Contamination*. Soil Quality – Urban Technical Note, 3: 1–7 pp, online: http://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_053279.pdf, cit. 20. 2. 2015.
- USPA, 2000: *Introduction to Phytoremediation*. U. S. Environmental Protection Agency, Washington D. C.
- VANGRONSVELD, J. et CUNNINGHAM S. D., 1998: *Introduction to the concepts*. In: VANGRONSVELD J. et CUNNINGHAM S. D. (eds): *Metal-contaminated soils. In situ inactivation and phytoremediation*. Springer, New York, 1–15 pp.
- VIOLANTE A., COZZOLINO V., PERELOMOV L., CAPORALE A. et PIGNA M., 2010: *Mobility and Bioavailability of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 10 (3): 268–292 pp.
- VÍTKOVÁ M., KOMÁREK M., TEJNECKÝ V. et ŠILEROVÁ H., 2015: *Interactions of nano-oxides with low-molecular-weight organic acids in a contaminated soil*. Journal of Hazardous Materials 293: 7–14 pp.
- VYSLOUŽILOVÁ M., PUSCHENREITER M., WIESHAMMER G. et WENZEL W. W., 2006: *Rhizosphere characteristics, heavy metal accumulation and growth performance of two willow (*Salix × rubens*) clones*. Plant, Soil and Environment 2006 (8): 353–361 pp.
- WATERLOT C., BIDAR G., PELFRÉNE A., ROUSSEL H., FOURRIER H. et DOUAY F., 2013: *Contamination, fractionation and availability of metals in urban soils in the vicinity of former lead and zinc smelters, France*. Pedosphere, 23 (2): 143–159 pp.
- WENZEL W. W., WIESHAMMER G., FITZ W. J. et PUSCHENREITER M., 2001a: *Novel rhizobox design to assess rhizosphere characteristics at high spatial resolution*. Plant and Soil, 237: 37–45 pp.
- WENZEL W. W., KIRCHBAUMER N., PROHASKA T., STINGEDER G., LOMBI E. et ADRIANO D. C., 2001b: *Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure*. Analytica Chimica Acta, 436: 309–323 pp.
- YAO Z., LI J., XIE H. et YU C., 2012: *Review on Remediation Technologies of Soil Contaminated by Heavy Metals*. Procedia Environmental Sciences, 16: 722–729 pp.
- YOO J. C., LEE C. D., YANG J. S. et BAEK K., 2013: *Extraction characteristics of heavy metals from marine sediments*. Chemical Engineering Journal 228: 688–699 pp.
- YOON J., CAO X., ZHOU Q. et MA L. Q., 2006: *Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site*. Science of the Total Environment, 368, 456–464 pp.
- ZHANG Y. Y. S., XUEFEI Z., CHAOMENG D. et KELLER A. A., 2013: *A new insight on the core-shell structure of zerovalent iron nanoparticles and its application for Pb(II) sequestration*. Journal of Hazardous Materials, 263: 685–93 pp.

Použité normy:

ČSN ISO 10390. *Kvalita půdy – stanovení pH*. Praha: Český normalizační institut, 2005.

13. Přílohy

Příloha 1. Výsledné koncentrace prvků z oxalátové extrakce (průměr ± směrodatná odchylka; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| Koncentrace (mg/kg) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Půda | Fe | S | Mn | Pb | Zn | Al | K | Si | As | Ca | Mg | Na | Ba | Cu | Se | Ti | Cd | Cr |
| Kontrolní (bez nZVI) | 13682 | 3195 | 3160 | 2840 | 2234 | 743 | 733 | 538 | 290 | 198 | 130 | 126 | 68,8 | 55,5 | 44,8 | 41,4 | 21,9 | 11,1 |
| | ± 271 | ± 17,0 | ± 313 | ± 197 | ± 69,6 | ± 18,1 | ± 105 | ± 1,35 | ± 7,01 | ± 3,55 | ± 5,49 | ± 1,48 | ± 2,57 | ± 2,09 | ± 10,2 | ± 2,09 | ± 1,03 | ± 0,36 |
| Stabilizovaná nZVI | 29070 | 1449 | 3540 | 3148 | 2730 | 983 | 3133 | 772 | 369 | 171 | 252 | 133 | 113 | 67,0 | < DL | 67,6 | < DL | < DL |
| | ± 1270 | ± 27 | ± 299 | ± 121 | ± 112 | ± 40,0 | ± 296 | ± 30,8 | ± 11,3 | ± 3,55 | ± 4,02 | ± 4,57 | ± 0,45 | ± 3,07 | < DL | ± 4,63 | < DL | < DL |

Příloha 2. Výsledné koncentrace prvků z extrakce HNO₃ (průměr ± směrodatná odchylka; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| Koncentrace (mg/kg) | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Půda | Fe | Pb | Zn | Ca | Mn | Al | Si | Mg | K | Ba | Cu | Cd | As | Na | Ti | Ni |
| Kontrolní (bez nZVI) | 4223 | 2351 | 2274 | 1045 | 821 | 714 | 360 | 169 | 108 | 90,9 | 45,7 | 31,1 | 23,8 | 7,29 | 5,82 | 3,54 |
| | ± 61,0 | ± 13,2 | ± 35,2 | ± 18,3 | ± 15,8 | ± 8,78 | ± 5,08 | ± 2,02 | ± 23,8 | ± 1,71 | ± 1,37 | ± 0,74 | ± 1,01 | ± 2,00 | ± 0,13 | ± 0,46 |
| Stabilizovaná nZVI | 7729 | 2330 | 1917 | 956 | 1715 | 600 | 349 | 135 | 178 | 81,1 | 52,4 | 27,2 | 16,3 | 3,32 | 5,90 | 4,25 |
| | ± 245 | ± 74,6 | ± 49,3 | ± 23,8 | ± 58,4 | ± 16,5 | ± 9,69 | ± 1,72 | ± 17,3 | ± 1,97 | ± 1,10 | ± 0,68 | ± 0,50 | ± 2,27 | ± 0,20 | ± 0,39 |

Příloha 3. Výsledné koncentrace prvků z RHIZO extrakce (průměr ± směrodatná odchylka; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| | | Koncentrace (mg/kg) | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Půda | Čas | Mn | Fe | Cu | Ni | Zn | Pb | Mg | Ca | K | Na | Cd | Ba | Al | Sr | Si | S |
| Kontrolní (bez nZVI) | 2h | 76,8 | 322 | 1,81 | 0,59 | 616 | 12,5 | 46,8 | 406 | 78,4 | 7,83 | 6,84 | 9,75 | 81,2 | 1,21 | 36,1 | < DL |
| | | ± 0,62 | ± 8,86 | ± 0,09 | ± 0,06 | ± 10,9 | ± 0,78 | ± 2,73 | ± 19,9 | ± 17,7 | ± 0,31 | ± 0,10 | ± 0,22 | ± 1,39 | ± 0,09 | ± 2,07 | < DL |
| Stabilizovaná nZVI | 2h | 625 | 731 | 1,55 | 1,15 | 367 | 9,25 | 49,5 | 434 | 58,6 | 7,61 | 5,83 | 8,77 | 60,5 | 1,28 | 66,4 | 6,07 |
| | | ± 1,94 | ± 5,62 | ± 0,03 | ± 0,05 | ± 2,59 | ± 0,27 | ± 0,75 | ± 2,73 | ± 1,48 | ± 0,03 | ± 0,04 | ± 0,04 | ± 0,28 | ± 0,04 | ± 1,30 | ± 0,35 |
| Kontrolní (bez nZVI) | 24h | 225 | 524 | 1,69 | 0,86 | 768 | 13,9 | 48,5 | 415 | 72,5 | 8,32 | 7,91 | 10,1 | 101 | 1,26 | 87,2 | 1,49 |
| | | ± 4,58 | ± 2,63 | ± 0,04 | ± 0,05 | ± 10,4 | ± 0,23 | ± 1,16 | ± 7,91 | ± 12,1 | ± 0,19 | ± 0,09 | ± 0,11 | ± 1,47 | ± 0,03 | ± 3,63 | ± 1,09 |
| Stabilizovaná nZVI | 24h | 741 | 707 | 1,39 | 1,17 | 427 | 9,12 | 53,0 | 453 | 63,8 | 8,74 | 6,17 | 9,24 | 75,4 | 1,39 | 119 | 11,5 |
| | | ± 1,03 | ± 3,90 | ± 0,05 | ± 0,02 | ± 3,96 | ± 0,23 | ± 0,20 | ± 0,48 | ± 0,87 | ± 0,12 | ± 0,04 | ± 0,03 | ± 1,43 | ± 0,05 | ± 2,42 | ± 0,61 |

Příloha 4. Koncentrace anorganických a organických aniontů při extrakci RHIZO (průměr ± směrodatná odchylka; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| | | Koncentrace (mg/l) | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|-----|--------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|--------|-----------|---------|--------|--------|--------|---------|---------|
| Půda | Čas | F ⁻ | Cl ⁻ | NO ₂ ⁻ | Br ⁻ | NO ₃ ⁻ | SO ₄ ²⁻ | PO ₄ ³⁻ | Laktát | Acetát | Propionát | Formiát | Malát | Oxalát | Citrát | Pyruvát | Fumarát |
| Kontrolní (bez nZVI) | 2h | 0,21 | 121 | < DL | < DL | 16,4 | 3,24 | 0,21 | 172 | 264 | < DL | 51,2 | 112 | 0,93 | 137 | 1,02 | 0,59 |
| | | ± 0,01 | ± 167 | < DL | < DL | ± 4,13 | ± 0,55 | ± 0,29 | ± 0,24 | ± 3,73 | < DL | ± 0,66 | ± 3,70 | ± 0,05 | ± 3,45 | ± 0,15 | 0,03 |
| Stabilizovaná nZVI | 2h | 0,09 | 1,16 | < DL | < DL | 5,79 | 3,93 | < DL | 165 | 263 | < DL | 48,6 | 90,5 | 0,65 | 145 | 2,05 | 0,51 |
| | | ± 0,01 | ± 0,07 | < DL | < DL | ± 1,55 | ± 0,06 | < DL | ± 0,37 | ± 2,22 | < DL | ± 0,69 | ± 0,55 | ± 0,20 | ± 0,21 | ± 0,23 | ± 0,05 |
| Kontrolní (bez nZVI) | 24h | 0,22 | 2,47 | < DL | < DL | 10,1 | 3,12 | 0,26 | 165 | 271 | < DL | 52,4 | 91,4 | 1,33 | 132 | 2,62 | 0,50 |
| | | ± 0,01 | ± 1,53 | < DL | < DL | ± 0,91 | ± 0,06 | ± 0,37 | ± 0,53 | ± 1,31 | < DL | ± 0,20 | ± 0,42 | ± 0,05 | ± 1,06 | ± 0,15 | ± 0,03 |
| Stabilizovaná nZVI | 24h | 0,11 | 1,15 | < DL | < DL | 5,13 | 5,38 | < DL | 156 | 257 | < DL | 30,0 | 79,4 | 0,58 | 146 | 5,22 | 0,33 |
| | | ± 0,00 | ± 0,11 | < DL | < DL | ± 1,93 | ± 0,88 | < DL | ± 0,17 | ± 2,14 | < DL | ± 9,49 | ± 7,33 | ± 0,05 | ± 0,38 | ± 3,15 | ± 0,05 |

Příloha 5. Výsledné koncentrace prvků při extrakci H₂O a KCl (průměr ± směrodatná odchylka; D – extrakce H₂O; K – extrakce KCl; 15-min; 24-hod; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| Půda | Extrakce | Koncentrace (mg/kg) | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|----------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | K | Ca | Zn | Si | Al | Fe | Mg | Na | Mn | Pb | Ba | Cr |
| Kontrolní (bez nZVI) | D15 | 43,1 | 37,5 | 21,1 | 11,6 | 7,22 | 6,49 | 6,41 | 5,42 | 1,88 | 0,66 | 0,40 | 0,03 |
| | | ± 31,7 | ± 0,10 | ± 1,15 | ± 1,52 | ± 1,15 | ± 0,70 | ± 0,10 | ± 1,18 | ± 0,06 | ± 0,04 | ± 0,02 | ± 0,05 |
| Stabilizovaná nZVI | D15 | 34,4 | 13,5 | 9,67 | 179 | 116 | 95,8 | 9,03 | 5,27 | 12,2 | 4,85 | 0,61 | 0,44 |
| | | ± 11,7 | ± 0,52 | ± 0,44 | ± 13,8 | ± 7,95 | ± 6,69 | ± 0,46 | ± 0,49 | ± 0,41 | ± 0,27 | ± 0,05 | ± 0,03 |
| Kontrolní (bez nZVI) | D24 | 38,6 | 58,0 | 46,6 | 165 | 96,7 | 98,8 | 14,8 | 6,7 | 8,41 | 7,62 | 1,47 | 0,10 |
| | | ± 9,21 | ± 1,51 | ± 4,92 | ± 7,94 | ± 5,85 | ± 3,23 | ± 0,22 | ± 0,33 | ± 0,16 | ± 0,14 | ± 0,04 | ± 0,01 |
| Stabilizovaná nZVI | D24 | 55,7 | 41,0 | 23,4 | 262 | 168 | 192 | 15,9 | 6,05 | 39,6 | 14,1 | 1,77 | 0,52 |
| | | ± 15,3 | ± 1,48 | ± 0,27 | ± 11,4 | ± 14,9 | ± 9,34 | ± 0,21 | ± 1,21 | ± 0,44 | ± 0,49 | ± 0,08 | ± 0,05 |
| Kontrolní (bez nZVI) | K15 | 753052 | 699 | 500 | 33,0 | < DL | 4,25 | 63,9 | 227 | 27,9 | 173 | 44,1 | 3,50 |
| | | ± 803 | ± 8,02 | ± 7,96 | ± 3,97 | < DL | ± 0,81 | ± 2,06 | ± 0,79 | ± 0,82 | ± 1,09 | ± 0,37 | ± 0,14 |
| Stabilizovaná nZVI | K15 | 753183 | 552 | 46,6 | 39,6 | < DL | 4,38 | 55,4 | 230 | 457 | 14,7 | 29,6 | 3,53 |
| | | ± 221 | ± 18,5 | ± 1,54 | ± 1,89 | < DL | ± 0,16 | ± 3,58 | ± 0,67 | ± 16,6 | ± 0,69 | ± 0,74 | ± 0,04 |
| Kontrolní (bez nZVI) | K24 | 753098 | 747 | 598 | 45,3 | < DL | 4,30 | 66,3 | 230 | 63,9 | 216 | 60,2 | 3,38 |
| | | ± 229 | ± 29,4 | ± 24,3 | ± 0,67 | < DL | ± 0,39 | ± 4,05 | ± 1,07 | ± 1,08 | ± 8,44 | ± 1,97 | ± 0,15 |
| Stabilizovaná nZVI | K24 | 756326 | 642 | 68,2 | 43,6 | < DL | 4,01 | 60,0 | 241 | 592 | 18,0 | 44,9 | 3,34 |
| | | ± 3098 | ± 30,2 | ± 2,76 | ± 2,17 | < DL | ± 0,03 | ± 3,18 | ± 7,48 | ± 31,5 | ± 0,90 | ± 2,00 | ± 0,13 |

Příloha 6. Koncentrace anorganických a organických aniontů při extrakci H₂O (průměr ± směrodatná odchylka; D – extrakce H₂O; K – extrakce KCl; 15-min; 24-hod ; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| | | Koncentrace (mg/l) | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|----------|--------------------|-----------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------|--------|-----------|---------|--------|--------|
| Půda | Extrakce | F ⁻ | Cl ⁻ | NO ₂ ⁻ | NO ₃ ⁻ | SO ₄ ²⁻ | PO ₄ ³⁻ | Laktát | Acetát | Propionát | Formiát | Oxalát | Citrát |
| Kontrolní (bez nZVI) | D15 | 1,36 | 37,5 | < DL | 113 | 19,0 | 0,60 | < DL | 12,2 | 0,61 | 1,54 | 2,51 | 4,31 |
| | | ± 0,06 | ± 38,0 | < DL | ± 4,8 | ± 0,47 | ± 0,84 | < DL | ± 0,30 | ± 0,05 | ± 1,02 | ± 0,03 | ± 0,68 |
| Stabilizovaná nZVI | D15 | 3,54 | 17,2 | 2,44 | 3,05 | 47,7 | 0,88 | 2,08 | 22,9 | 2,57 | 0,31 | 0,70 | 12,0 |
| | | ± 0,04 | ± 9,62 | ± 0,04 | ± 0,85 | ± 1,26 | ± 0,67 | ± 1,03 | ± 1,40 | ± 0,20 | ± 0,01 | ± 0,08 | ± 0,96 |
| Kontrolní (bez nZVI) | D24 | 1,77 | 42,6 | 9,89 | 99,2 | 53,5 | 0,46 | 6,67 | 10,7 | 1,88 | 0,78 | 2,05 | 10,4 |
| | | ± 0,12 | ± 4,75 | ± 13,2 | ± 56,5 | ± 4,80 | ± 0,65 | ± 7,01 | ± 6,93 | ± 1,39 | ± 0,53 | ± 1,27 | ± 6,96 |
| Stabilizovaná nZVI | D24 | 4,66 | 28,5 | 6,29 | 6,98 | 77,9 | 1,47 | 1,66 | 40,1 | 5,11 | 0,63 | 4,61 | 27,3 |
| | | ± 0,23 | ± 15,1 | ± 0,24 | ± 1,04 | ± 2,71 | ± 0,54 | ± 0,45 | ± 14,6 | ± 2,37 | ± 0,29 | ± 5,97 | ± 14,6 |

Příloha 7. Koncentrace Zn a Pb v jednotlivých frakcích sekvenční extrakce (průměr ± směrodatná odchylka; < DL – koncentrace pod detekčním limitem).

| Koncentrace Zn (mg/kg) | | | | |
|------------------------|------|-----|-----|------|
| Půda/Frakce | A | B | C | D |
| Kontrolní (bez nZVI) | 1822 | 816 | 298 | 1066 |
| Stabilizovaná nZVI | 1571 | 917 | 474 | 1041 |

| Koncentrace Pb (mg/kg) | | | | |
|------------------------|-----|------|-----|-----|
| Půda/Frakce | A | B | C | D |
| Kontrolní (bez nZVI) | 281 | 2165 | 706 | 387 |
| Stabilizovaná nZVI | 532 | 2077 | 907 | 23 |

Please ensure that your abstract fits into one column on one page and complies with the *Instructions to Authors* available from the Abstract Submission web page.

Effect of nano zero-valent iron on the behaviour of metals in soil and rhizosphere

M. VÍTKOVÁ^{1,*}, E. DRAGONOVÁ¹, P. FEJFAROVÁ¹,
V. TEJNECKÝ² AND M. KOMÁREK¹

¹Department of Environmental Geosciences, Faculty of Environmental Sciences, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 – Suchbát, Czech Republic (*correspondence: vitkovam@fzp.czu.cz, +420 22438 3864)

²Department of Soil Science and Soil Protection, Faculty of Agrobiological Sciences, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague 6 – Suchbát, Czech Republic

The application of nanoscale zero-valent iron (nZVI) is a fast developing alternative for environmental remediation [1]. However, detailed research on the behaviour of nZVI particles in soils is necessary for evaluating their efficiency and stability, especially in multi-element contaminated areas. Moreover, chemical stabilisation lower the risk of the metal(loid) uptake by plants. In this context, the processes at the soil-root interface (i.e., in the rhizosphere) significantly affect the behaviour of both the amendment and potential contaminants through the interaction with organic acids [2].

The study is focused on the investigation of nZVI effects on the mobility of metals when used in a contaminated soil and on the basic characteristics of the soil. The objective was to assess the stabilisation of metals particularly under simulated rhizosphere conditions by using various experimental/extraction methods.

Particles of nZVI were mixed with the soil (1 wt.%) and left to equilibrate for 1 month at about 70% water holding capacity. A set of extraction methods was applied, including 0.43 M HNO₃, Milli-Q H₂O, CaCl₂, NaNO₃ and “RHIZO” solution (a mix of acetic, lactic, citric, malic and formic acids simulating root exudates; [3]).

The addition of nZVI increased the soil pH. A significant decrease in Zn concentration was observed upon the H₂O extraction, while higher leachability of Pb was determined compared to non-amended soil. Upon contact with “RHIZO” solution the presence of nZVI significantly decreased the Zn and Pb concentrations. Positive effect of nZVI on the metal stabilisation is expected in the presence of root exudates.

[1] Tosco *et al.* (2014) *J. Clean. Prod.* 77, 10-21. [2] Vítková *et al.* (2015) *J. Hazard. Mater.* 293, 7-14. [3] Feng *et al.* (2005) *Chemosphere* 59, 939-949.