

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Sorpce rizikových prvků na odpadní materiály z výroby
olivového oleje**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Miloš Hovorka

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

Konzultant: Dr. Mercedes García-Sánchez

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Sorpce rizikových prvků na odpadní materiály z výroby olivového oleje" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 6. dubna 2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval paní prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za její cenné rady, připomínky a odbornou pomoc při vypracovávání diplomové práce. Děkuji také všem pracovníkům katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, kteří mi byli nápomocni při práci v laboratoři.

Děkuji své rodině a všem blízkým za podporu po celou dobu studia.

Sorpce rizikových prvků na odpadní materiály z výroby olivového oleje

Souhrn

Hlavním cílem této diplomové práce je ověřit účinnost odpadního materiálu z výroby olivového oleje na imobilizaci rizikových prvků Pb, Cd a Zn v extrémně kontaminované půdě a experimentálně ověřit následující hypotézu: aplikace odpadního materiálu z výroby olivového oleje omezí dostupnost rizikových prvků v půdě a zároveň zlepší zásobenost půdy dostupnými živinami i biologické vlastnosti této půdy. Práce je členěna na dvě části a to na teoretickou část – literární přehled a část experimentální.

Literární přehled obsahuje obecný popis rizikových prvků a jejich možných škodlivých vlivů na živé organismy, uvádí jejich možné zdroje vstupu do životního prostředí, popisuje chování těchto prvků v půdě, zejména děje, které se podílí na jejich retenci půdou. Dále jsou zde naznačeny možné metody remediace půdy kontaminované rizikovými prvky a podrobněji je popsána technika imobilizace pomocí půdních přídatků. Poslední podkapitola této části je věnována odpadnímu materiálu z výroby olivového oleje, jehož vlastnosti se testovali v experimentální části této práce.

Experimentální část je zaměřena na ověření sorpčních schopností odpadního materiálu z výroby olivového oleje pro vybrané rizikové prvky. Jako odpadní materiál byl použit suchý olivový zbytek (označovaný jako DOR) a DOR po remediaci těmito druhy hub: štětičkovec žlutavý (*Penicillium chrysogenum*), outkovka druhu *Corioloropsis floccosa*, šedopórka osmahlá (*Bjerkandela adusta*) a pevník nachový (*Chondrostereum purpureum*). Pomocí analytických metod došlo ke stanovení koncentrací prvků, pH, bodu nulového náboje (pH_{pzc}) a kationtové výměnné kapacity (KVK) u jednotlivých vzorků reprezentujících surový materiál DOR a DOR po remediaci vybranými druhy hub. Sorpčním experimentem byla u jednotlivých materiálů stanovena sorpční účinnost pro prvky Cd, Pb a Zn. Stabilita vazby rizikových prvků se sorbentem byla ověřena desorpcí. V laboratorních inkubačních experimentech se sledovala změna mobility rizikových prvků v kontaminované půdě v závislosti na dávce a typu odpadního materiálu. Zároveň se sledovaly i obsahy dostupných esenciálních prvků v půdě. Obsahy prvků byly stanoveny metodami atomové spektrometrie (ICP-OES) a výsledky vyhodnoceny adekvátními statistickými metodami.

Výsledky ukázaly dobré sorpční schopnosti odpadního materiálu DOR, především po jeho transformaci pomocí různých druhů hub, pro rizikové prvky, a to zejména Pb, méně pak Cd a Zn. Desorpční experiment však prokázal nestabilitu vazeb prvků ve vzorcích DOR, zejména v případě Zn, která se projevila i při inkubačním experimentu. Tato nestabilita je zřejmě dána nízkým pH materiálu DOR, proto by bylo vhodné při dalších výzkumech brát v úvahu zvýšení hladiny pH těchto vzorků. Z hlediska prvkového složení se zdá být biotransformovaný DOR dobrým zdrojem minerálních živin. Přidávky DOR v půdě navíc zvýšily přístupnost živin jako je Cu, Fe a Mn pro rostliny.

Klíčová slova: rizikové prvky, odpad z výroby olivového oleje, sorpce, remediace

Risk element sorption on waste materials from olive oil production

Summary

The main objective of this thesis is to verify the efficiency of waste material from olive oil production to immobilize risk elements Pb, Cd and Zn in extremely contaminated soil and to verify following hypothesis: application of waste material from olive oil production will limit the availability of risk elements in the soil and also improves a supply of soil available nutrients and biological properties of the soil. The work is divided into two parts, theoretical part (literature review) and experimental part.

The theoretical part contains a general description of the risk elements and their possible harmful effects on living organisms, indicating their possible sources of entry into the environment, describes the behavior of these elements in the soil, especially events that contributes to the retention of soil. Furthermore, there are some possible methods for remediation of soil contaminated with hazardous elements and is described in more detail immobilization technique using soil improvers. In this chapter is devoted to the waste material from olive oil production, whose properties are tested in the experimental part of this work.

The experimental part is focused on verification sorption capability of waste material from olive oil production for selected risk elements. As a waste material has been used dry olive residue (known as DOR), and DOR after remediation of these types of fungi: *Penicillium chrysogenum*, *Corioloopsis floccosa*, *Bjerkandela adusta* and *Chondrostereum purpureum*. Analytical methods were used to determine the concentrations of the elements, the pH, the point of zero charge (pH_{pzc}), and cation exchange capacity (CEC) for the individual samples representing material DOR and DOR after remediation of certain species of fungi. The preliminary sorption experiment determined sorption efficiency for the elements Cd, Pb and Zn for all the material tested. Stability of the risk element bonds was verified *via* model desorption experiment. Model laboratory incubation experiment was carried out to assess the potential changes of hazardous elements mobility in the contaminated soil, depending on dose and type of DOR material. At the same time there were determined contents of available proportions of essential elements in the soil. The contents of elements were determined by atomic spectrometry (ICP-OES) and the results analyzed by adequate statistical methods.

Results showed good sorption capacity of the waste material DOR, especially after transformation with different species of fungi, for hazardous elements and particularly Pb, less than Cd and Zn. The desorption experiment, however, showed unstable linkages elements in samples DOR, particularly in the case of Zn, which is also reflected in the incubation experiment. This instability is probably due to the low pH material DOR, therefore it would be useful for further research take into account the increase of pH levels of these samples. In terms of elemental composition appears to be biotransformed DOR as a good source of nutrients. The treatment of the soil increased accessibility of nutrients such as Cu, Fe and Mn for plants.

Keywords: risk elements, waste from olive oil production, sorption, remediation

Obsah

1	Úvod.....	10
2	Cíl práce.....	11
3	Literární přehled	12
3.1	Rizikové prvky	12
3.1.1	Kadmium (Cd)	12
3.1.2	Olovo (Pb).....	13
3.1.3	Zinek (Zn)	14
3.2	Zdroje rizikových prvků.....	14
3.3	Toxicita rizikových prvků	16
3.4	Fytotoxicita rizikových prvků	17
3.5	Kontaminace půdy rizikovými prvky.....	19
3.6	Mobilita a dostupnost rizikových prvků v půdě.....	20
3.6.1	Retence rizikových prvků v půdě	21
3.6.1.1	Sorpce	21
3.6.1.2	Precipitace	24
3.6.1.3	Sorpce organickou hmotou.....	24
3.6.1.4	Sorpční izotermy	26
3.6.2	Půdní vlastnosti ovlivňující mobilitu a dostupnost prvků	27
3.6.2.1	Půdní reakce	28
3.6.2.2	Oxidačně-redukční potenciál.....	29
3.6.2.3	Kationtová výměnná kapacita	30
3.7	Remediace kontaminované půdy	30
3.7.1	Imobilizační metody	31
3.7.1.1	Imobilizační přídavky.....	32
3.8	Odpad z výroby olivového oleje jako imobilizační přídavek	33
3.8.1	Bioremediace DOR.....	34
4	Materiál a metodika	36
4.1	Příprava vzorků a jejich charakteristika	36
4.2	Stanovení obsahu prvků	37
4.3	Stanovení pH, pH _{pzc} a KVK.....	37
4.4	Sorpční a desorpční experiment	38
4.5	Vsádkový inkubační experiment.....	38
4.6	Statistické zpracování dat.....	39
5	Výsledky a diskuze	40
5.1	Celkový obsah prvků ve vzorcích	40
5.2	Stanovení pH, pH _{pzc} a KVK.....	41

5.3	Sorpční a desorpční experiment	45
5.4	Vsádkový inkubační experiment.....	49
6	Závěr	57
7	Použitá literatura	58

1 Úvod

Kontaminace půdy rizikovými prvky je jedním z celosvětově nejvýznamnějších problémů životního prostředí. Nejběžněji se v kontaminovaných lokalitách objevují olovo (Pb), chrom (Cr), arsen (As), zinek (Zn), kadmium (Cd), měď (Cu), rtuť (Hg) a nikl (Ni). Rizikové prvky v půdě představují hrozbu pro životní prostředí díky tomu, že nepodléhají degradaci a mohou tak v životním prostředí přetrvávat po dlouhou dobu. Jejich akumulace v půdě je také důležitou otázkou kvůli nežádoucím účinkům, které mohou mít vliv na kvalitu půdy, vody a potravin a na zdraví živých organismů, včetně člověka. Ionty rizikových prvků v živých organismech mohou být původci různých onemocnění a poruch a mají tendenci se v těchto organismech hromadit. Vzhledem k velkému růstu lidské populace, došlo ke zvýšení zdrojů kontaminace půdy rizikovými prvky. Atmosférická depozice, nakládání s odpady, používání hnojiv a pesticidů, energetika a doprava jsou hlavními zdroji těchto prvků.

V reakci na rostoucí počet kontaminovaných míst došlo k trvajícím vývoji různých technologií pro remediaci půdy kontaminované rizikovými prvky. Konvenční remediační techniky jsou považovány za vysoce efektivní, ale vyžadují vysoké náklady a také mohou zničit strukturu půdy a snížit její produktivitu. Je zkoumána řada alternativních metod, které jsou přívětivější k životnímu prostředí a nákladově efektivní. Jednou z takových technologií je in situ imobilizace rizikových prvků v půdě. Při této metodě se využívá nenákladných přísad, často organických odpadních materiálů, ke snížení vyluhování a dostupnosti kontaminantů v kontaminované půdě.

Výroba olivového oleje, jako jedna z nejvýznamnějších zemědělsko-průmyslových odvětví v oblasti Středozemního moře, produkuje velké množství pevného i kapalného odpadu. Nekontrolované skládkování těchto odpadů může představovat vážný problém pro životní prostředí v dané oblasti. Vysoké obsahy organické hmoty a minerálních živin v tomto materiálu vedly k úvahám o aplikaci suchého zbytku z výroby olivového oleje na zemědělskou půdu. Ukazuje se však, že se tento materiál vyznačuje poměrně vysokou fytotoxicitou, která je způsobena vysokým obsahem fenolických látek. Pro eliminaci fytotoxicity se v laboratorních podmínkách testuje bioremediace tohoto materiálu s pomocí saprofytických nebo dřevokazných hub. Předběžné (dosud nepublikované) výsledky naznačují, že testovaný materiál má významnou schopnost sorbovat některé rizikové prvky, zejména Pb, Cd a Zn a nabízí se tak možnost jeho využití jako imobilizačního přísadku pro remediaci půdy kontaminované těmito prvky.

2 Cíl práce

Cílem této práce je ověřit účinnost odpadního materiálu z výroby olivového oleje na imobilizaci rizikových prvků Pb, Cd a Zn v extrémně kontaminované půdě.

Hypotéza: aplikace odpadního materiálu z výroby olivového oleje omezí dostupnost rizikových prvků v půdě a zároveň zlepší zásobenost půdy dostupnými živinami i biologické vlastnosti této půdy.

3 Literární přehled

3.1 Rizikové prvky

Skupina rizikových prvků je tvořena prvky, které mohou mít negativní účinky na biologické a fyzikálně-chemické půdní procesy a mohou negativně ovlivnit zdraví člověka (Tlustoš et al., 2007). Do skupiny rizikových prvků se dle Sáňky (2004) řadí:

As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, V, Zn.

Některé tyto prvky jsou však ve stopových koncentracích nezbytné pro živé organismy, ovšem při vyšších koncentracích působí toxicky, jiné jsou toxické i při nízkých koncentracích (Poláková et al., 2011). Esenciální prvky jako je Cu, Zn a Mo jsou nezbytné pro růst rostlin. Prvky jako Cu, Co, Mo, Zn, Cr, Ni a V jsou důležité pro výživu zvířat a kromě V se uplatňují i ve výživě člověka. As, Cd, Hg a Pb jsou pro organismy toxické (Adriano et al., 2004).

V souvislosti s rizikovými prvky se můžeme setkat i s termíny stopové kovy (trace metals), těžké kovy (heavy metals) a toxické kovy (toxic metals):

- stopové kovy – přítomné v nízkých koncentracích ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ nebo méně) ve většině půd, rostlin a živých organismech (např. Zn, Cr) (He et al., 2005),
- těžké kovy – kovy a metaloidy, které mají hustotu vyšší než $5,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (např. Cd, Hg, Pb) (Adriano, 2001),
- toxické kovy – působí škodlivě na člověka a ostatní složky ekosystémů (Kafka et Punčochářová, 2002).

V ekotoxikologii se upřednostňuje pro kovy, které jsou škodlivé pro životní prostředí termín těžké kovy a řadí se sem Cu, Zn, Cd, Hg, Pb, Cr, Ni, Mn a Fe a polokovy As a Se (Kafka et Punčochářová, 2002).

3.1.1 Kadmium (Cd)

Kadmium je měkký, tažný, stříbřitě bílý, lesklý, elektropozitivní, nekorozivní kov s atomovou hmotností 112,4, hustotou $8,64 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ a bodem tání $321 \text{ }^\circ\text{C}$. V periodické tabulce prvků se nachází ve skupině II-B spolu se Zn a Hg (Adriano, 2001). Cd se vyskytuje v

přírodě jako ryzí jen zřídka. Nejčastěji se nachází ve sloučeninách jako je CdS, CdSe a CdO. Kadmium často doprovází galenit, sfalerit, biotit a amfibol, tedy rudy Zn a Pb. Průměrný obsah Cd v zemské kůře je 0,1 mg/kg (Kabata-Pendias, 2011).

Ve sloučeninách je, stejně jako Zn, dvojmocné a jeho ion je bezbarvý. Tvoří hydroxidy a komplexy s amoniakem a kyanidem ($\text{Cd}(\text{NH}_3)_6^{4+}$, $\text{Cd}(\text{CN})_4^{2-}$), komplexy s organickými aminy, sírou a chlorem a cheláty. Kademnaté ionty tvoří s uhličitany, arseničnany, fosfáty, oxaláty, a hexakvanoželeznatany nerozpustné, obvykle hydratované, bílé sloučeniny (Adriano, 2001).

Kadmium a zinek mají podobné iontové struktury, elektronegativity a chemické vlastnosti, ale ve srovnání se Zn má Cd vyšší afinitu k S a tak je jeho mobilita v kyselém prostředí vyšší (Kabata-Pendias, 2011). Na rozdíl od zinku, který je esenciální pro rostliny, zvířata i člověka, kadmium mezi esenciální prvky nepatří a na živé organismy působí toxicky. Díky jejich podobnosti (Cd a Zn) může docházet k nahrazení zinku v živém organismu kadmiem, což vede k narušení fungování metabolických procesů (Wuana et Okieimen, 2011).

Kadmium je pro své vlastnosti využíváno k ochraně železných materiálů před korozi, je přidáváno jako stabilizátor plastů a je součástí barevných pigmentů (žlutých) v barvivech. Pro zlepšení mechanických a chemických vlastností se přidává do slitin na bázi mědi. Známé je také jeho využití jako součást elektrod v alkalických akumulátorech (Bencko et al., 1995).

3.1.2 Olovo (Pb)

Olovo je modrošedý, lesklý kov s atomovým číslem 82, atomovou hmotností 207,2, teplotou tání 328 °C a hustotou 11,4 g.cm⁻³, patřící do skupiny IV-A periodické tabulky. Jedná se o kov měkký, poddajný, tažný a velmi odolný proti korozi (Adriano, 2001). V přírodě se nachází převážně ve sloučeninách - minerálech, nejčastěji jako PbS (galenit), dále například jako Pb(CO)₃ (cerusit) a PbSO₄ (anglesit). Průměrný obsah Pb v zemské kůře se odhaduje na 15 mg.kg⁻¹ (Kabata-Pendias, 2011).

Ve sloučeninách může olovo nabývat oxidačních stavů II nebo IV. Ve většině anorganických sloučenin se vyskytuje jako dvojmocné. Anorganické soli olova jsou, ve většině případů, špatně rozpustné s výjimkou octanu, dusičnanu, chlorečnanu, chloristanu a do jisté míry i chloridu. Z organických sloučenin jsou nejvýznamnější tetrametylolovo a tetraetylolovo pro jejich dřívější využití jako antidetonálních přísad do benzínu (Bencko et al., 1995).

Olovo se v průmyslové výrobě kovů řadí na páté místo za Fe, Cu, Al a Zn. Nejvíce olova se spotřebuje na výrobu olovených akumulátorů. Další využití připadá např. na výrobu ložisek, kabelových krytů, střeliva, pigmentů, těsnění, olovených pájek, a jako stínění radioaktivního záření (Wuana et Okieimen, 2011).

3.1.3 Zinek (Zn)

Zinek je modrobílý, relativně měkký, přechodný kov s atomovým číslem 30 náležící v periodické soustavě prvků do II-B skupiny. Jeho hustota činí $7,13 \text{ g.cm}^{-3}$, atomová hmotnost 65,38 a bod tání $420 \text{ }^\circ\text{C}$ (Adriano, 2001). Průměrný obsah Zn v zemské kůře se odhaduje na 70 mg.kg^{-1} . Běžnými Zn minerály jsou sfalerit (αZnS), wurtzit (βZnS), zinkit (ZnO), smithsonit (ZnCO_3), willemmit (Zn_2SiO_4) a hemimorfit ($\text{Zn}_4\text{Si}_2\text{O}_7(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Všechny tyto minerály obsahují přibližně 50% Zn (Kabata-Pendias, 2011).

Ve sloučeninách je zinek dvojmocný. Zinečnatý iont je bezbarvý a existuje v hydratované formě v kyselých a neutrálních vodných roztocích. Vzhledem k amfoterní povaze zinek tvoří různé soli, jako jsou chlorečnany, chloridy, sírany a dusičnany, které jsou ve vodě snadno rozpustné, zatímco oxidy, uhličitany, fosforečnany, křemičitany a sulfidy jsou ve vodě relativně nerozpustné. Na vzduchu povrch Zn oxiduje, čímž se chrání před korozí (Adriano, 2001).

Zinek je používán v mnoha průmyslových odvětvích. Nejběžnější je jeho využití jako ochrany proti korozi oceli. Je důležitou součástí různých slitin (mosazi) a je široce používán při různých chemických výrobách (gumy, pigmenty, plasty, maziva, a pesticidy). Jeho další využití je při výrobě baterií, potrubí a zařízení pro domácnost a v automobilové technice. Různé sloučeniny zinku nacházejí uplatnění i v medicíně (Kabata-Pendias, 2011).

Zinek patří k prvkům esenciálním pro člověka, zvířata i rostliny. V organismech je součástí metaloenzymů a některé další enzymy ho potřebují ke své funkci. Hraje důležitou roli v metabolismu bílkovin a nukleových kyselin a je např. součástí molekuly inzulínu (Kafka et Punčochářová, 2002).

3.2 Zdroje rizikových prvků

Zdroje znečištění životního prostředí rizikovými prvky lze rozdělit na zdroje přírodní, které souvisí s půdotvornými procesy a zdroje antropogenní související s lidskou činností. K přírodnímu znečištění dochází v momentě, kdy matečná hornina obsahuje větší množství

rizikových prvků a ty se z ní pak uvolňují zvětráváním (He et al., 2005). Vstupy ze zdrojů přírodních nejsou často tak významné jako ty ze zdrojů antropogenních (Kabata-Pendias, 2011).

Hlavními antropogenními zdroji rizikových prvků jsou energetika, těžební průmysl, hutnictví a doprava, (Gebreyesus, 2015). Spalovací procesy, zejména spalování fosilních paliv při výrobě elektrické energie, tepla a spalování paliv ve spalovacích motorech, jsou významnými zdroji některých kovů. Rizikové prvky se v oblasti těžebního průmyslu a hutnictví do prostředí uvolňují při těžbě v podobě prachu, tavbou rudy, kontaminovanou odpadní vodou a z odpadních materiálů. V dopravě je kromě spalovacích procesů zdrojem znečištění také vznikající prach (Kabata-Pendias, 2011). Jedním z dalších zdrojů, které přispívají ke zvýšené kontaminaci půdy těmito prvky, je likvidace komunálního odpadu a čištění odpadních vod. Mezi antropogenní zdroje lze zařadit také zemědělství, kde může docházet ke kontaminaci půdy při používání hnojiv a pesticidů a při zavlažování kontaminovanou vodou. Jako další zdroje lze uvést výrobu stavebních materiálů, vojenské operace a drobný průmysl zahrnující výrobu baterií, povrchové úpravy kovů, výrobu elektrických vodičů a další (Jadia et Fulekar, 2009).

Lokální kontaminace půd se vyskytuje hlavně v průmyslových oblastech a v centrech velkých sídel, kde jsou zdroji rizikových prvků především továrny, motorová vozidla a komunální odpady. Rizikové prvky se však neukládají jen v blízkosti jejich zdroje, ale jsou často schopny vzdušného přenosu na velké vzdálenosti a to zejména ty ve formě prachu nebo ve formě těkavých sloučenin (As, Se, Sb, a Hg). Atmosferickou depozicí pak tyto prvky kontaminují i místa velmi odlehlá od lidských sídel. (Kabata-Pendias, 2011).

V Tabulce 1 jsou uvedeny možné zdroje vybraných rizikových prvků.

Tabulka 1: Zdroje kontaminace životního prostředí vybranými rizikovými prvky
(Abbas et al., 2014; Kafka et Punčochářová, 2002)

Prvek	Zdroje kontaminace
Olovo	úpravny rud, hutě, rafinerie, chemický průmysl, akumulátory, pigmenty do barev, olovnaté sklo, přísady do glazur, zemědělství (hnojiva, insekticidy), spalování fosilních paliv, automobilový provoz (používání olovnatého benzínu)
Kadmium	doprovodný kov v zinkových a olovných rudách, zemědělství (fosfátová hnojiva a pesticidy), pigmenty pro barvy a plastů, baterie, spalování fosilních paliv
Zinek	galvanizace, pigmenty do barev a keramických glazur, slitiny (mosazi, bronzy), zemědělství, komunální odpad

3.3 Toxicita rizikových prvků

Toxické účinky rizikových prvků jsou rozmanité. Těžké kovy v těle člověka mohou způsobovat zažívací potíže, dermatitidy, poruchy krve tvorby, poškození mozku, jater a ledvin, mohou být karcinogenní, mutagenní a teratogenní (Nordberg et al., 2007). Rizikové prvky vstupují do organismu převážně plícemi a trávicím ústrojím. Může také docházet k jejich vstřebávání kůží a k transportu přes placentu. Toxický účinek je závislý na dávce, která do organismu pronikne. Některé prvky jsou v nízkých dávkách pro organismus prospěšné, ale mohou na organismus působit negativně ve vysokých dávkách podávaných po dostatečně dlouhou dobu (Bencko et al., 1995). Rizikovými prvky mohou být zejména negativně ovlivňovány specifické biochemické procesy (např. enzymatické reakce) a poškozena cílová místa (buněčné membrány a orgány). Toxický účinek je výsledkem interakce mezi kovovým iontem a cílovým místem. Toxicita je ovlivněna chemickou formou iontu, oxidačním stavem nebo ligandovou vazbou prvku. Některé ionty (Cu, Cd, Hg, Pb), navázané na buněčné membrány, mohou bránit transportním procesům přes buněčné stěny a blokovat tak přísun živin do buněk (Kafka et Punčochářová, 2002).

Kovové kationty se mohou vázat na thiolové –SH skupiny v enzymech, karboxylové skupiny –COOH a aminoskupiny –NH₂ bílkovin a narušit tak enzymatické funkce nebo genetické informace. Některé prvky mají tendenci se hromadit v různých tělních tkáních a nahrazovat některé esenciální prvky. Může docházet například k akumulaci olova v kostech, kde nahradí vápník. Vazby anorganických forem rizikových prvků s organickými látkami prostřednictvím půdních mikroorganismů a půdní mikroflory zvyšují toxicitu těchto prvků (typickým příkladem je alkylovaná rtuť), jak zdůrazňují např. Bencko et al. (1995).

Konkrétní toxické účinky vybraných rizikových prvků jsou prezentovány v Tabulce 2.

Tabulka 2: Toxické účinky na pro člověka u vybraných rizikových prvků

Prvek	Cílový orgán (Kafka et Punčochářová, 2002; Bencko et al., 1995)	Toxický účinek (Kabata-Pendias et Mukherjee, 2007; Abbas et al., 2014)
Cd	ledviny, játra, varlata	poškození ledvin, změna metabolismu Ca – osteoporóza (onemocnění itai-itai v Japonsku), poruchy trávicího ústrojí, karcinogenní změny (zejména ledvin a prostaty), poškození funkce plic, vysoký krevní tlak, snížení reprodukčních funkcí
Pb	dlouhé kosti, mozek, játra, ledviny, placenta	Inhibice tvorby hemu a s tím související anémie, poškození nervové soustavy, poškození ledvin, poškození trávicího ústrojí, zhoršení mentálního vývoje u dětí
Zn	játra, ledviny	horečka z kovů (horečka slévačů), podráždění zažívacího traktu

3.4 Fytotoxicita rizikových prvků

Rizikové prvky, které jsou přítomny jako rozpuštěné v půdním roztoku nebo ty, které jsou snadno rozpouštěny kořenovými exsudáty, jsou k dispozici pro příjem rostlinami. Rostliny vyžadují určité prvky (esenciální) pro svůj růst a vývoj, ale nadměrné množství těchto prvků může být pro ně toxické. Schopnost rostlin akumulovat esenciální prvky umožňuje získávat i prvky neesenciální, které bývají pro rostlinu toxické i v nízkých koncentracích. Koncentrace rizikových prvků v rostlině, které překročí určitou prahovou hodnotu nebo optimální úroveň, působí na rostlinu toxicky a to přímo anebo i nepřímo (Jadia et Fulekar, 2009).

Jako přímé toxické účinky, způsobené vysokou koncentrací prvku, lze označit inhibici cytoplazmatických enzymů a poškození buněčných struktur v důsledku oxidačního stresu. Příkladem nepřímého toxického účinku je nahrazení základních živin na výměnných místech kationtů v rostlině. Nepřímo ovlivnit růst rostlin může také negativní vliv rizikových prvků na růst a činnost půdních mikroorganismů. Například snížení počtu prospěšných půdních mikroorganismů z důvodu vysokých koncentrací rizikových prvků může vést ke snížení rozkladu organických látek, což způsobí pokles živin v půdě (Chibuike et Obiora, 2014).

Zvýšené koncentrace rizikových prvků v půdě mohou vést ke zvýšení příjmu těchto prvků rostlinami a mohou tak negativně ovlivnit jejich růst. Při vysokých koncentracích zasahují do metabolických procesů a inhibují růst, což někdy vede až k úmrtí rostliny. Rizikové prvky prostřednictvím rostlin vstupují do potravního řetězce a mohou tak negativně ovlivňovat zdraví člověka akutními a chronickými nemocemi (Schmidt, 2003).

Rostliny absorbují stopové prvky pomocí kořenů z půdy a nadzemními částmi ze vzdušné depozice. Toxické účinky se projevují obvykle zakrněním a poškozením kořenů, chlorózou, nekrózami, hnědými a tmavě zelenými skvrnami na listech a vadnutím a odumíráním starších listů (Kabata-Pendias et Mukherjee, 2007).

Vliv toxicity rizikových prvků na růst rostlin se liší v závislosti na konkrétním prvku a procesu, kterého se tento prvek účastní. U prvků, jako je Cd, Hg a As, které nehrají žádnou prospěšnou roli v růstu rostlin, byly nežádoucí účinky zaznamenány již při velmi nízkých koncentracích těchto prvků v půdě. Snížení růstu rostlin, rostoucích na kontaminovaných půdách lze zdůvodnit snížením fotosyntetické aktivity rostlin, minerální výživy, a snížení aktivity některých enzymů (Jadia et Fulekar, 2009). Tabulka 3 ukazuje souhrn toxických účinků vybraných prvků pro rostliny.

Zinek a kadmium patří mezi prvky akropetálně snadno pohyblivé a proto lze jejich značné množství nalézt v nadzemních částech rostlin. Olovo se řadí k prvkům nejméně pohyblivým. K akumulaci Pb rostlinami dochází jen vzácně, díky ochotě tohoto prvku tvořit v rhizosféře nerozpustné sulfáty, čímž se snižuje jeho potenciální příjem a transport do rostliny. Vzhledem k nízké mobilitě olova v půdě se zejména ve znečištěných oblastech ukazuje významným jeho mimokořenový (foliární) příjem (Tlustoš et al., 2007).

Tabulka 3: Fytotoxicita vybraných prvků
(Kabata-Pendias et Mukherjee, 2007; Poláková et al., 2011)

Prvek	Toxický účinek
Cd	omezený růst, poškození kořenů, červenohnědé skvrny na listech, chloróza, inhibice fotosyntézy, porušení transpirace a fixace CO ₂ , změny permeability buněčných membrán, narušení klíčení semen
Pb	narušení metabolismu Ca, inhibice enzymatických systémů, snížení příjmu CO ₂ , narušení buněčného dělení, omezení příjmu vody
Zn	redukce růstu kořenů a listů, chlorózy a nekrózy na špičkách listů

3.5 Kontaminace půdy rizikovými prvky

Kontaminace půdy rizikovými prvky je celosvětový problém týkající se velkého počtu míst. Akumulace těchto prvků v půdě může mít nežádoucí vliv na kvalitu potravin, zdraví půdy, růst rostlin a životní prostředí (Gray et al., 2006). Rizikové prvky vstupují do půdy prostřednictvím přírodních a antropogenních procesů. Půda přirozeně obsahuje rizikové prvky, které do ní vstupují při zvětrávání matečných hornin. V důsledku lidské činnosti se může jejich obsah zvýšit nad přijatelnou úroveň (He et al., 2005).

Rizikové prvky, kromě toho, že mohou být toxické pro člověka, zvířata, rostliny a mikroorganismy, nepodléhají degradačním procesům, a proto mohou setrvávat téměř neomezeně a hromadit se v životním prostředí. Biologická dostupnost těchto látek se však může značně měnit v závislosti na jejich interakci s různými půdními složkami (Doumett et al., 2008). Nahromaděné rizikové prvky jsou z půdy vyčerpány pomalu loužením, příjmem rostlin, erozí nebo odnosem (Kabata-Pendias, 2011).

Některé půdní organismy umožňují vstup rizikových prvků do komplexů s organickými látkami, a ty pak mohou být z hlediska toxicity nebezpečnější než původní forma prvku (např. již výše zmíněná methylrtuť). O tom, zda bude prvek v půdě mobilní, rozhoduje především rozpustnost látky ve vodě. Čím je sloučenina rozpustnější, tím je mobilita kovu vyšší. Důležitá je také rozpustnost sloučenin rizikových prvků v kyselinách, zejména v kyselině sírové a dusičné, protože ty jsou často přítomné v životním prostředí. Například nadměrně kyselá vodní srážky nebo prosakující vody, mohou tyto sloučeniny vymývat z půdy a způsobit jejich pronikání do rostlin a zdrojů pitné vody (Kafka et Punčochářová, 2002).

Za půdu kontaminovanou rizikovými prvky lze považovat takovou půdu, u níž došlo k překročení obsahů těchto prvků nad povolený limit. V České republice jsou nejvyšší přípustné obsahy rizikových prvků v zemědělské půdě vymezeny v příloze č. 1 vyhlášky Ministerstva životního prostředí č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Nejvyšší přípustné obsahy rizikových prvků dle této vyhlášky jsou uvedeny v Tabulce 4. Údaje v tabulce neplatí pro organické půdy a lehkými půdami se rozumí písčité a hlinitopísčité půdy. Vyhláška předpokládá stanovení „pseudocelkových“ obsahů prvků, tedy podílů prvků extrahovatelných lučavkou královskou, ze směsných vzorků odebraných z horní vrstvy vyšetřovaných minerálních půd v tloušťce 0,25 m a vysušených na vzduchu do konstantní hmotnosti. Potenciálně mobilizovatelné obsahy prvků se pak stanoví ve výluhu roztokem 2M HNO₃ při poměru půdy k vyluhovacímu

1 : 10. V případě rtuti pak vyhláška předpokládá stanovení celkového obsahu s použitím jednoúčelového analyzátoru AMA-254.

Tabulka 4: Maximálně přípustné hodnoty obsahu rizikových prvků v půdách podle způsobu analytického zjištění (příloha č. 1 vyhlášky č. 13/1994 Sb.)

	Maximálně přípustné hodnoty (mg.kg ⁻¹)			
	Výluh 2M HNO ₃		Rozklad lučavkou královskou	
Prvky	<i>lehké půdy</i>	<i>ostatní půdy</i>	<i>lehké půdy</i>	<i>ostatní půdy</i>
As	4,5	4,5	30,0	30,0
Be	2,0	2,0	7,0	7,0
Cd	0,4	1,0	0,4	1,0
Co	10,0	25,0	25,0	50,0
Cr	40,0	40,0	100,0	200,0
Cu	30,0	50,0	60,0	100,0
Hg	-	-	0,6	0,8
Mo	5,0	5,0	5,0	5,0
Ni	15,0	25,0	60,0	80,0
Pb	50,0	70,0	100,0	140,0
V	20,0	50,0	150,0	220,0
Zn	50,0	100,0	130,0	200,0

3.6 Mobilita a dostupnost rizikových prvků v půdě

Chování rizikových prvků v půdách závisí na mnoha půdních procesech (Kabata-Pendias, 2011). Mobilita a dostupnost rizikových prvků jsou řízeny zejména chemickými a biochemickými procesy, jako je precipitace (srážení), rozpouštění, adsorpce, desorpce, tvorba komplexů, disociace, oxidace a redukce (He et al., 2005); podobně Kabata-Pendias (2011) uvádí v této souvislosti vazbu organickými látkami, okluzi a difusi do mřížky minerálů, příjem organismy, volatilizaci a transport. Je velmi důležité pochopit některé významné reakce v půdě, které řídí uvolňování určitého prvku v půdě, například pro překonání problémů spojených s deficitem nebo nadbytkem daného prvku (Violante et al., 2010).

Rizikové prvky v půdách mohou být rozděleny do forem ve vodě rozpustných, výměnných, vázaných oxidy, vázaných uhličitany, vázaných organickou hmotou a zbytkových, které jsou vázány resistantními minerály a neextrahovatelných (Adjia et al., 2008). Ve vodě rozpustné a výměnné frakce jsou považovány za biologicky dostupné, frakce kyslíkaté, uhličitánové a vázané na organické látky mohou být potenciálně biologicky dostupné. Zbytková frakce není dostupná rostlinám ani mikroorganismům. Podíly každé frakce se v různých půdách liší a do značné míry určují dostupnost a mobilitu rizikových prvků v půdě (He et al., 2005). Mobilita kovů klesá v pořadí $Cd > Zn > Ni > Mn > Cu > Pb > Hg$ (Tlustoš et al., 2007).

3.6.1 Retence rizikových prvků v půdě

Ionty rizikových prvků mohou být v půdě zadržovány zejména pomocí sorpce, precipitací (srážením) a tvorbou komplexů s organickou hmotou (Adriano et al., 2004).

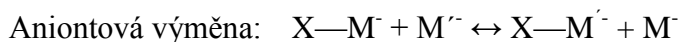
3.6.1.1 Sorpce

Sorpce je obecným termínem, který označuje ztrátu rozpuštěné látky z vodného roztoku. (Hooda, 2009). Sorpce je považována za nejdůležitější proces, který řídí rozdělování prvků mezi kapalnou a pevnou fází v půdě. Může představovat kombinovaný vliv iontové výměny, specifické adsorpce, srážení a tvorby komplexů (Adriano et al., 2001). Při sorpci dochází buď k adsorpci, při které rozpuštěné látky lpí na povrchu pevné látky nebo absorpci, při níž rozpuštěné látky difundují do porézní pevné látky a lpí na vnitřních površích (Hooda, 2009).

Sorpce rizikových prvků půdními koloidy může probíhat prostřednictvím nespecifické nebo specifické sorpce (He et al., 2005). Nespecifická sorpce je proces, ve kterém náboj na iontech prvků vyrovnává náboj na půdních částicích prostřednictvím elektrostatické přitažlivosti, zatímco specifická adsorpce zahrnuje tvorbu chemické vazby mezi ionty a sorpčními místy půdy (Adriano et al., 2004). Při adsorpci Cu, Pb a Cd v silně zvětralých půdách s proměnným nábojem se mohou zapojit oba mechanismy (nespecifická i specifická sorpce) (He et al.). Pro specifickou sorpci se často používá termín "chemisorpce" (Hooda, 2009).

Protože většina rizikových prvků se v půdách vyskytuje ve formě kationtů, kationtová výměna (výměna kationtu za kationt) při jejich sorpci převažuje. K dispozici je také

odpovídající aniontová výměna (výměna aniontu za aniont) pro prvky, které se vyskytují jako oxyaniony (např. Se, As, Cr, Sb, V, Mo). Tyto jevy lze vyjádřit schematicky jako (1):

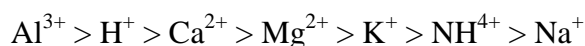


(1)

Kde „X“ představuje jílový náboj (+ nebo -) a „M⁺“ a „M⁻“ představují kationty a anionty (Adriano, 2001).

Principem kationtové výměny je fakt, že při izomorfní substituci na rozhraní jílu a půdního roztoku kationty s nižším nábojem nahradí kationty s nábojem vyšším a na jílovém povrchu tak vznikne na pH nezávislý permanentní náboj, který zde vytváří výměnné místo. Například substitucí iontu Al³⁺ v oktaedrické vrstvě jílu dvojmocným iontem Mg²⁺ vznikne v krystalové mřížce jeden volný záporný náboj. Volný záporný náboj vznikne také nahrazením iontu Si⁴⁺ v silikátových tetraedrech iontem Al³⁺. Kationty, které se pohybují v půdním roztoku, jsou pak přitahovány k povrchu jílu, čímž dojde k vyrovnání elektrických nábojů v půdním systému. Síla přitažlivosti kationtů je úměrná poměru náboj / iontový poloměr (iontový potenciál) (Adriano, 2001; Violante et al., 2010).

Výměnné reakce jsou stechiometrické (dva ionty Na⁺ se vymění s jedním přitahovaným iontem Ca²⁺), probíhají rychle a jsou vratné. Pořadí výměny závisí na afinitě kationtů na nabitě místo ve srovnání s jejich přitažlivostí pro molekuly vody. Kationty hojně zastoupené v půdním roztoku (Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺ a Na⁺) jsou jen slabě zadržovány půdami jako vyměnitelné kationty ve srovnání s většinou stopových kationtů, jako jsou ionty přechodných kovů, které jsou půdami zadržovány silně. Obecně platí, že Al³⁺ kationty jsou vyměnitelné nejobtížněji a Na⁺ kationty nejsnáze v porovnání s jinými:



(Adriano, 2001).

Ostatní interakce, které přispívají k vázání rizikových prvků koloidními částicemi, zahrnují komplexotvorné reakce mezi kovy a anorganickými a organickými ligandy. Organická složka půdy má vysokou afinitu pro kationty rizikových prvků, jako je Cu, Cd a Pb z důvodu přítomnosti ligandů nebo skupin, které mohou tvořit s kovy cheláty (Selim, 2015).

Každá složka půdy je při sorpci aktivní a ovlivňuje koncentraci iontů v půdním roztoku. Složkami půdy, podílejícími se na sorpci rizikových prvků, jsou oxidy (hydratované i amorfní, zejména Fe a Mn a v menší míře, Al a Si), jílové minerály, organická hmota a biota a

také uhličitany, fosforečnany, sulfidy, a soli s bázemi (Kabata-Pendias, 2011). Afinitu vybraných prvků k různým půdním složkám znázorňuje Tabulka 5, z níž je patrné, že nejvyšší afinitu mají Pb a Cd, střední Zn a nejslaběji jsou vázány Cd a Ni (Tlustoš et Pavlíková, 2003).

Tabulka 5: Sestupná afinita rizikových prvků k některým sorbentům
(Tlustoš et Pavlíková, 2003)

Materiál	Pořadí prvků
Montmorillonit (Na)	Ca > Pb > Cu > Mg > Cd > Zn
Illit (Na)	Pb > Cu > Zn > Ca > Cd > Mg
Kaolinit (Na)	Pb > Ca > Cu > Mg > Zn > Cd
Amorfní Al oxidy	Cu > Pb > Zn > Ni > Co > Cd
Amorfní Fe oxidy	Pb > Cu > Zn > Ni > Cd > Co
Goethit	Cu > Pb > Zn > Co > Cd
Hematit	Pb > Cu > Zn > Co > Ni > Mn
Birnessit	Pb > Cu > Mn = Co > Zn > Ni
Fulvokyselina (pH 5)	Cu > Pb > Zn
Huminová kyselina (pH 4-6)	Cu > Pb >> Cd > Zn
Rašelina	Pb > Cu > Cd = Zn > Ca

Dynamickou rovnováhu mezi prvky v roztoku a pevnou fází půdy určují vlastnosti půdy a složení půdního roztoku. Koncentraci rizikových prvků v půdním roztoku ovlivňuje povaha anorganických i organických aniontů a pH půdy, a to prostřednictvím jejich vlivu na sorpční procesy. Například vliv hodnot $\text{pH} > 6$ na snížení iontové aktivity volných kovů v půdě lze přičíst zvýšení povrchového náboje na oxidech Fe, Al a Mn, chelataci organickou hmotou, nebo srážení hydroxidů kovů (Selim, 2015).

V Tabulce 6 jsou vyhodnoceny pevnosti vazby prvků na humus, jílu a sesquioxidy a je zde uvedeno za jakých hodnot pH a oxidačně-redukčního potenciálu jsou vazby prvků dostatečně pevné.

Tabulka 6: Pevnost vazby vybraných rizikových prvků (Pevnost vazby: 1 – velmi slabá, 2 – slabá, 3 – střední, 4 – silná, 5 – velmi silná; Tlustoš et Pavlíková, 2003)

Prvek	Pevnost vazby			Pevná vazba	
	humus	jíl	sesquioxidy	nad pH	při Eh 7 (mV)
Zn	2	3	3	5,5	0 až -200
Cd	4	2	3	6,0	0 až -200
Pb	5	4	5	4	0 až -200
Cu	5	3	4	4,5	0 až -200
Ni	3-4	2	3	5,5	0 až -300

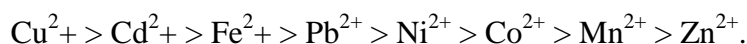
3.6.1.2 Precipitace

Principem precipitace (srážení) je tvorba nerozpustných látek (Selim, 2015). Jedná se o převládající proces v půdách s vysokým pH v přítomnosti aniontů jako jsou sírany, uhličitany, hydroxidy a fosfáty, zvláště když je koncentrace iontů daného kovového prvku vysoká (He et al., 2005). Srážení kovových fosfátů nebo uhličitanů je považováno za jeden z mechanismů imobilizace kovů, jako je Cu a Pb, a to zejména v substrátech, které obsahují vysoké koncentrace těchto prvků (Selim, 2015). Úpravou pH například vápněním lze tedy zvýšit retenci rizikových prvků v půdě (Adriano, 2001). Například Basta et McGowen (2004) zjistili, po aplikaci zemědělského vápence v množství 170 g.kg^{-1} na kontaminovanou zeminu, pokles mobilního podílu Cd o 55 %, Pb o 45,2 % a Zn o 21,9 %. Při tom došlo ke zvýšení pH z 6,8 na 7,7 a bylo zaznamenáno zvýšení tvorby uhličitanů těchto prvků.

3.6.1.3 Sorpce organickou hmotou

Snižování koncentrace rizikových prvků v roztoku prostřednictvím organické hmoty může probíhat prostřednictvím nespecifické sorpce, specifické sorpce a tvorbou komplexů s těmito prvky. Organická hmota v půdě se skládá z látek humusové a nehumusové povahy. Humusové látky jsou nejstabilnějšími sloučeninami v půdě a zahrnují huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Tyto látky mají složité struktury a obsahují velké množství funkčních skupin (např. CO_2 , OH, C=C, COOH, SH, CO_2H), které mají velkou afinitu k vazbě s kovovými ionty. Díky možné kombinaci těchto skupin, zejména OH a SH, jsou humusové látky schopny tvořit komplexy s některými kationty. Organicky vázány v půdách mohou být i některé anionty například anionty B, I, a Se (Kabata-Pendias, 2011). Obecně

pořadí afinity pro kationty kovů tvořících komplexy s organickou hmotou je dle Adriano (2001):



Organická hmota se podílí na transportu, rozpouštění, srážení, ale i na zadržování rizikových prvků v půdě. Organické látky mají vliv na velikost kationtové výměnné kapacity (KVK) půdy. Dle obsahu organické hmoty v různých půdách se může hodnota KVK mezi těmito půdami lišit až o 50%. Velká sorpční kapacita organické hmoty napomáhá snížení aktivity rizikových prvků. Bylo prokázáno, že sorpce některých prvků se zvýší v přítomnosti humusových látek, a že humusové látky jsou snadno adsorbovány na jílové materiály a oxidy v půdě (Kabata-Pendias, 2011). Haas et Horowitz (1986) zaznamenali při adsorpci Cd^{2+} kaolinitem zvýšení variabilního náboje na minerálu po přidání organické hmoty prostřednictvím tvorby adsorbované organické vrstvy na povrchu jílu.

Reakcemi, které mohou probíhat mezi humusovými látkami a rizikovými prvky jsou iontová výměna, povrchové adsorpce, chelace, koagulace a peptizace. Všechny tyto reakce mohou vézt ke vzniku ve vodě rozpustných nebo ve vodě nerozpustných komplexů. Rozpustnost komplexů humusových látek s kovovými ionty je závislá na pH. Při hodnotách pH v rozmezí 3 až 9,5 jsou rozpustné a při pH v rozmezí 1 až 3 nerozpustné. Rozpustnost komplexů huminových kyselin s Fe, Cu, Ni, Cd, Cu a Mn je ve srovnání s jejich anorganickými komplexy opačná (Kabata-Pendias, 2011).

Organická hmota hraje důležitou roli při transportu a akumulaci kationtů. Kationty přítomné v půdě jako cheláty mají různé stability, které určují přístupnost těchto iontů pro kořeny rostlin. Komplexy fulvokyselin s kovem mají nižší stabilitu a jsou obvykle snadno rozpustné a dostupné pro kořeny rostlin, zatímco komplexy kovu s huminovými kyselinami jsou stabilnější a působí spíše imobilizačně. Stabilita kovových komplexů s těmito kyselinami se zvyšuje spolu se zvyšujícím se pH a to v rozmezí hodnot pH od 3 do 7 (Tlustoš et Pavlíková, 2003).

Fulvokyseliny jsou schopny vázat větší koncentrace rizikových prvků než huminové kyseliny. Při vazbě rizikových prvků na půdní organickou hmotu platí, že čím nižší je obsah kovu, tím vyšší je energie vazby organokovových skupin. Na druhou stranu rizikové prvky (např. Cu, Zn, Pb, Mn) tvoří komplexy s huminovými kyselinami o mnoho snadněji než s fulvokyselinami, přičemž nejvyšší podíl Cu je vázán s huminovými kyselinami v rozsahu pH 4-5, vazba Cu fulvokyselinami je omezena intervalem pH 6-7. Obě kyseliny často vykazují vyšší afinitu k Cu a Pb, než k Fe a Mn (Kabata-Pendias, 2011).

3.6.1.4 Sorpční izotermy

Proces sorpce probíhá do momentu vytvoření sorpční rovnováhy mezi látkou v roztoku a v pevné fázi (sorbentu). Sorpční izotermy vyjadřují vztah mezi množstvím látky sorbované na pevné fázi a koncentrací látky v roztoku ve stavu sorpční rovnováhy za stálých teplotních podmínek (Dhankhar et Hooda, 2011). Pomocí sorpčních izoterem lze tedy popsat a kvantifikovat sorpční schopnosti sorbentu pro jednu či více látek v sorpčním procesu (Ramešová, 2014). Pro stanovení sorpčních vlastností půdy se provádí série vsádkových experimentů. Při těchto experimentech jsou roztoky o známých koncentracích rozpuštěné látky v kontaktu se sorbentem (půdou). Po určité době, po které se předpokládá dosažení sorpční rovnováhy, se koncentrace látky v roztoku změří (Hooda, 2009).

K popisu sorpce rizikových prvků půdou (rozdělení prvků mezi pevnou a kapalnou fází půdy při konstantní teplotě), lze využít empirické modely, založené na matematických rovnicích nebo funkcích a vztah vyjádřit graficky pomocí křivky. Dvěma nejvíce využívanými empirickými modely jsou izotermy Freundlichova a Langmuirova (Trakal et al., 2012). Freundlichova a Langmuirova izoterma jsou obvykle dostačující k empirickému popisu a shrnutí chování sorpce v širším rozsahu koncentrací (Hooda, 2009).

Freundlichova izoterma byla publikována Freundlichem a Küsterem v roce 1907 (Abbas et al., 2014). Platí pro sorpci heterogenními povrchy sorbentu s nerovnoměrným rozložením sorpčních míst, která jsou nestejnorodá (jejich afinity jsou odlišné). Uvažuje i vícevrstvou adsorpci. Každé vazebné místo má různou vazebnou energii, přičemž silnější vazebná místa jsou obsazována jako první. Sorpční energie se snižuje exponenciálně až do ukončení sorpce (Foo et Hameed, 2010).

Freundlichovu izotermu lze vyjádřit exponenciálním vztahem (2; Hooda, 2009; Chirenje et al., 2006):

$$C_s = K_d \cdot C_w^n \quad (2)$$

kde C_s je množství látky sorbované jednotkou hmotnosti sorbentu [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$], K_d distribuční koeficient (někdy také označovaný jako koncentrační koeficient nebo rozdělovací koeficient), C_w zbytková koncentrace látky v roztoku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] a n je konstanta vyjadřující intenzitu sorpce (nabývá hodnot od 0 do 1).

Langmuirova izoterma byla v roce 1918 vyvinuta Irvingem Langmuirem původně k popisu sorpce plynů pevnými částicemi (Abbas et al., 2014). Tento empirický model je založen na předpokladu, že se na jedno sorpční místo naváže pouze jedna částice (monovrstvá adsorpce), sorpční místa jsou si rovnocenná (mají stejnou afinitu pro sorbát) a že nedochází k pohybu sorbátu v rovině povrchu (Foo et Hameed, 2010). Langmuirova izoterma může být vyjádřena matematicky jako (3; Hooda, 2009; Chirenje et al., 2006):

$$C_s = \frac{K_d \cdot C_{max} \cdot C_w}{1 + K_d \cdot C_w} \quad (3)$$

kde C_s je množství látky sorbované jednotkou hmotnosti sorbentu [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$], K_d distribuční koeficient, C_{max} maximální sorpční kapacita sorbentu [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$] a C_w je zbytková koncentrace látky v roztoku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$].

Distribuční koeficient K_d zjednodušeně charakterizuje vztah sorbentu a sorbované látky (sorbátu). Distribuční koeficient je možno označit jako nejjednodušší formu izotermy (někdy nazývaná jako Henryho izoterma). Vyjadřuje lineární závislost koncentrace adsorbované látky na koncentraci látky rozpuštěné v roztoku a stanovuje se experimentálně. Pro popis sorpce lze tedy distribuční koeficient využít pouze v případech, kdy je vztah mezi koncentrací adsorbované látky a zbytkovou koncentrací látky v roztoku lineární, což obecně platí pro málo koncentrované roztoky. Jednotkami K_d jsou $\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$. Distribuční koeficient lze stanovit následujícím vztahem (4):

$$K_d = \frac{C_s}{C_w} \quad (4)$$

kde C_s je množství sorbované látky [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$] a C_w je zbytková koncentrace látky v roztoku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$] (Ramešová, 2014).

3.6.2 Půdní vlastnosti ovlivňující mobilitu a dostupnost prvků

Chování prvků v půdě ovlivňují chemické, fyzikální a biologické vlastnosti půdy, kterými jsou zejména půdní reakce, oxidačně-redukční potenciál, kationtová výměnná kapacita, množství a druh organické hmoty, zastoupení oxidů, uhličitánů a jílových minerálů,

vlhkost, teplota a činnost mikroorganismů. Na sorpci rizikových prvků v půdě má vliv zejména půdní reakce, oxidačně-redukční potenciál a kationtová výměnná kapacita (Kabata-Pendias, 2011).

3.6.2.1 Půdní reakce

Půdní reakce má významný účinek na sorpci rizikových prvků v půdě. Nízké hodnoty pH mohou vést ke snížení sorpce a následnému zvýšení biologické dostupnosti a mobility většiny rizikových prvků v půdě (Rieuwerts, 2007). Rozpustnost rizikových prvků, které se mohou vyskytovat jako volné hydratované kationty, se obecně zvyšuje s klesající hodnotou pH. Dle Hooda (2009) lze vliv pH na chování prvků v půdě vysvětlit:

1. **Soutěžením o sorpci mezi prvky**, kdy s poklesem pH půdního roztoku dochází ke zvýšení aktivity H^+ , Fe^{3+} , Al^{3+} a jejich kladně nabitých hydroxidů v roztoku půdy. Tyto kationty budou soutěžit s rizikovými prvky o negativní sorpční místa.
2. **Snížením hodnoty na pH závislého negativního náboje sorpčního komplexu**. Celkové množství negativních sorpčních míst klesá s klesající hodnotou pH. Negativní, na pH závislé náboje na pevné fázi půdy, způsobené disociací povrchových OH skupin na minerálech nebo funkčních skupin na organických koloidech, jsou neutralizovány protonací. Kladné náboje jsou vytvořeny kovalentní vazbou H^+ na hydratovaných oxidech železa a manganu, nebo organických funkčních skupinách. Celkový negativní náboj na sorpčním komplexu proto klesá. Pod bodem nulového náboje PZC (z anglického „point of zero charge“) získají půdní koloidy čistý kladný náboj.
3. **Rozpouštěním složek půdy**. Některé půdní složky se stanou nestabilními s klesající hodnotou pH. Volný uhličitán vápenatý je stabilní pouze v půdách s pH 7,5 a vyšším, hydroxidy hliníku budou podstatně rozpustnější při hodnotě pH nižší než 5,5, a hydroxidy železa, když hodnoty pH klesnou pod 3,5.

Tlustoš et al. (2006), při změně hodnoty pH kontaminované půdy z 5,7 na 7,3 po aplikaci vápna, zaznamenali pokles mobilního podílu Cd v půdě o 53 %, Zn o 78 %, a Pb o 19 %.

Prvky, které se v půdě nacházejí jako anionty, např. Mo, Se a Cr(VI), jsou více mobilní v alkalickém prostředí. Anionty jsou stále více sorbovány s klesající hodnotou pH, protože půdní koloidy stále více získávají další kladný náboj. To se děje za předpokladu, že prvek nadále nese negativní náboj i při nižším pH (Hooda, 2009).

3.6.2.2 Oxidačně-redukční potenciál

Vliv oxidačně-redukčního (redox) potenciálu na sorpci prvků v půdě se týká prvků, které se mohou vyskytovat ve více oxidačních stupních (Fe, Mn, As, Cu, Hg, Pb) (Tlustoš et al., 2007). Stopové prvky mají tendenci být méně mobilní v redukčních podmínkách než v podmínkách oxidačních (Hooda, 2009). Změna redox potenciálu má vliv na rozpustnost rizikových prvků především ve spojení s oxidy Fe a Mn, kdy za redukčních podmínek se oxidy Fe a Mn v půdě redukují a dochází tím ke zvýšení jejich rozpustnosti. To může způsobit uvolnění například sorbovaného Cd a Zn do roztoku. Na druhé straně může tato změna přispět ke zvýšení specifické sorpce těžkých kovů. Za silných redukčních podmínek často dochází k vysrážení těžkých kovů ve formě sulfidů. Prvky jsou zpravidla méně rozpustné za vyššího oxidačního stupně. Oxidačně-redukční reakce v půdě probíhají zpravidla pomalu a většinou jsou katalyzovány půdními mikroorganismy (Tlustoš et Pavlíková, 2003).

Oxidační, aerobní podmínky při mineralizaci organické hmoty způsobují uvolňování prvků navázaných na organické látky. Takto se může zvýšit mobilita například Hg, Zn, Pb, Cu a Cd. Tyto uvolněné prvky jsou pak imobilizovány většinou jiným způsobem, ale často méně účinně než v redukčním prostředí (Hooda, 2009).

Ve většině oxidačně redukčních procesů anorganických látek je důležitá, kromě redox potenciálu, i hodnota půdní reakce. Tabulka 7 znázorňuje vliv oxidačních a redukčních podmínek a půdní reakce na dostupnost rizikových prvků.

Tabulka 7: Vliv půdních podmínek na dostupnost prvků (Kubná, 2015)

Půdní podmínky	pH	Dostupnost	
		snadná	Střední
oxidační	< 3	Cd, Zn, Co, Cu, Ni	Mn, Hg, V
oxidační	> 5	Cd, Zn	Mo, Se, Sr, Te, V
oxidační (+Fe)	> 5	-	Cd, Zn
redukční	> 5	Se, Mo, As	Cd, Zn, Cu, Mn, Pb, Sr
redukční (+ H ₂ S)	> 5	žádný	Mn, Sr

3.6.2.3 Kationtová výměnná kapacita

Množství kationtů rizikových prvků, které je schopna půda poutat, závisí na kationtové výměnné kapacitě půdy (KVK). Ionty zapojené do procesu výměny kationtů jsou vratně adsorbovány, a proto se označují jako vyměnitelné kationty. Kationtová výměnná kapacita se vyjadřuje jako množství vyměnitelných kationtů na jednotku hmotnosti adsorbentu (např. jílu) a udává se v jednotkách $\text{mmol}(+)\cdot 100\text{g}^{-1}$ (popř. $\text{cmol}(+)\cdot \text{kg}^{-1}$, $\text{mmol}(+)\cdot \text{kg}^{-1}$). Čím větší je kationtová výměnná kapacita půdy, tím více je půda schopna nespecificky vázat kationty rizikových prvků. V jednoduché výměně kationtů nedochází k žádné změně v povrchovém náboji nebo v pH roztoku. Jeden kationt jednoduše nahradí ekvivalentní množství jiného kationtu (Adriano, 2001).

3.7 Remediacce kontaminované půdy

V reakci na rostoucí potřebu řešit kontaminaci životního prostředí, byla vyvinuta řada remediačních technologií k ošetření kontaminované půdy (Jadia et Fulekar, 2009). K zamezení působení kontaminujících látek u půdy kontaminované rizikovými prvky lze použít fyzikální, chemické a biologické metody (Aboulroos et al., 2006). Ošetření půdy lze provádět in situ (přímo na místě) nebo ex situ (na jiném místě po jejím vytěžení). Metody in situ mají výhodu minimálního narušení aktivit na místě nebo na přilehlých pozemcích. Ex situ přístupy nabízejí vyšší účinnost a snadnější kontrolu procesu, ale jejich finanční náročnost je zpravidla vyšší a dochází při nich ke zničení struktury půdy a snížení její produktivity (Scullion, 2006). Při remediaci může docházet k odstraňování, degradaci, omezení rozpustnosti nebo imobilizaci polutantů. Výběr remediační technologie, která bude použita, závisí na druhu a koncentraci kontaminantu, typu půdy, a charakteristice kontaminované lokality (Kabata-Pendias, 2011). Pro ošetření půd kontaminovaných rizikovými prvky existuje celá řada remediačních technik, které lze rozdělit dle metody působení na kontaminanty (Tabulka 8).

Tabulka 8: Techniky remediace půd kontaminovaných rizikovými prvky
(Wuana et Okieimen, 2011; Evanko et Dzombak, 1997).

Metoda	Remediační technika
Izolace	Pokryvné bariéry, podpovrchové bariéry
Imobilizace	Solidifikace a stabilizace, vitrifikace
Redukce toxicity a mobility	Chemická úprava, propustné aktivní stěny, fytoremediace, biochemické procesy, bioakumulace
Fyzikální separace	Gravitační separace, magnetická separace, flotace
Extrakce	Praní půdy, pyrometalurgická extrakce, vymývání půdy, elektrokinetika

Konvenční remediační techniky (praní půdy, vitrifikace, elektrokinetika a magnetická separace), používané k nápravě půdy kontaminované rizikovými prvky, jsou sice vysoce efektivní, ale jsou obtížně použitelné pro velké plochy a vyžadují vysokou spotřebu energie a drahé stroje. Současně ničí strukturu půdy a snižují její produktivitu (Schmidt, 2003).

Je zkoumána řada alternativních možností, které jsou považovány za méně rušivé a nákladově efektivní (Gray et al., 2006). Jednou ze slibných technologií je in situ imobilizace rizikových prvků v půdě, která využívá nenákladných přísad ke snížení vyluhování a dostupnosti kontaminantů v kontaminované půdě (Lee et al., 2009). Tato technika se vyhýbá nákladům na dopravu a skládkování působením na znečišťující látky v místě a je použitelná pro velké plochy (Basta et McGowen, 2004). Může být ale považována pouze za dočasné řešení, protože kontaminanty nebyly z půdního prostředí zcela odstraněny (Jadia et Fulekar, 2009).

3.7.1 Imobilizační metody

Šíření kontaminantů v půdě může být narušeno imobilizačními metodami prostřednictvím fyzikálních nebo chemických procesů. Mobilita se obvykle sníží fyzikálním omezením kontaktu kontaminantu s okolní podzemní vodou, nebo chemickou změnou kontaminující látky tak, že vznikne látka méně rozpustná. Tyto remediační techniky také využívají znalosti funkce rozdělování prvků mezi vodnou a pevnou fází půdy k omezení jejich mobility a dostupnosti živým organismům. Většina imobilizačních metod může být provedena in situ nebo ex situ. In situ procesy jsou preferovány v důsledku nižších požadavků

na pracovní sílu a energii, ale realizace in situ bude záviset na konkrétních místních podmínkách (Evanko et Dzombak, 1997).

Při in situ metodách jsou aplikovány přídatky podporující imobilizaci na nevytěženou zeminu. Výhodami těchto technik jsou jednoduchost, rychlost, nízká cena a možnost jejich použití na široké spektrum anorganických polutantů. Nevýhodou může být to, že se jedná jen o dočasné řešení (kontaminanty nejsou odstraněny) a také to, že proces ovlivňuje pouze povrchovou vrstvu půdy a je nutné trvalé monitorování místa. Ex situ metody se uplatňují v oblastech, kde je nutné vysoce kontaminované půdy odebrat z jejich původního místa a jejich skladování představuje vysoké ekologické riziko. Tyto metody jsou výhodné z hlediska rychlé a snadné aplikovatelnosti a relativně nízkých investičních a provozních nákladů. Za jejich nevýhody se dají označit vysoká invazivita pro životní prostředí a tvorba významného množství pevných odpadů, které musí být uloženy na speciálních skládkách, kde budou neustále kontrolovány (Wuana et Okieimen, 2011).

3.7.1.1 Imobilizační přídatky

Některé imobilizační technologie využívají organické a anorganické půdní přídatky ke snížení mobility a biologické dostupnosti rizikových prvků v půdě. Imobilizační přídatky podporují půdní sorpční procesy zahrnující nespecifickou a specifickou sorpci, precipitaci a komplexotvorné reakce (Wuana et Okieimen, 2011).

Imobilizace pomocí přídatků může být považována za součást remediační techniky solidifikace a stabilizace. Principem této techniky je, za použití různých materiálů (bentonit, cement, asfalt, kompost), vytvoření ztuhlé matrice, která fyzicky váže kontaminovaný materiál (solidifikace), nebo přeměna kontaminantů do méně mobilních forem s využitím chemických procesů (stabilizace) (Kumpiene et al., 2008). Tato technika bývá také často užívána ve spojení s fytostabilizací, kdy kořeny rostlin také přispívají ke snížení mobility kontaminantů (Houben et al., 2012).

Za účelem imobilizace rizikových prvků v půdě byla testována řada různých půdních přídatků, jako jsou například jílové minerály, organická hmota, fosfátové a alkalické materiály, oxidy Fe, Mn a Al a průmyslové materiály (Kumpiene et al., 2008; Adriano et al., 2004; Gray et al., 2006; Lee et al., 2009). Tyto materiály se vyznačují velkou sorpční kapacitou. Přídatky na bázi organické hmoty mají tu výhodu, že kromě omezení mobility rizikových prvků v půdě a jejich dostupnosti rostlinám, zlepšují úrodnost a provzdušnění půdy a zvyšují její zádržnou kapacitu pro vodu a živiny.

Organické přídatky (komposty, hnoje, odpady z potravinářství) byly předmětem několika studií (Park et al., 2011; Walker et al., 2004; Khan et Jones, 2008; Adjia et al., 2008; Cao et Ma, 2004; van Herwijnen et al., 2007). Cao et Ma (2004) sledovali příjem arsenu mrkvi (*Daucus carota L.*) a hlávkovým salátem (*Lactuca sativa L.*), pěstovaných na arsenem kontaminovaných půdách. Po aplikaci kompostu v množství 10 % došlo ke snížení příjmu As u mrkve o 79-88 % a u hlávkového salátu o 86-96 % ve srovnání s neošetřenou půdou. As byl vázán organickou hmotou z kompostu a bylo prokázáno snížení množství ve vodě rozpustných, vyměnitelných a uhličitanových frakcí arsenu v půdě. Van Herwijnen et al., 2007 pozorovali, že přídatek kompostu ze zeleného zahradního odpadu v množství 20 % do půdy, přispěl k výraznému snížení vyluhování Zn o 48,8 % a Cd o 47 %. Houben et al., 2012 aplikovali vysušený kravský hnůj na půdu kontaminovanou Cd, Zn a Pb. Po aplikaci došlo ke snížení průměrných obsahů Cd a Zn ve výluhu o 72,9 % a 89 %. Přídatek hnoje naopak zvýšil vyluhování Pb 2,3 krát ve srovnání s kontrolou prostřednictvím tvorby rozpustných komplexů. Vácha et al., 2002 prokázali, že účinnost organických půdních přídatků na snížení mobility rizikových prvků je určena kvalitou organické hmoty, která může významně ovlivnit formu rizikových prvků v půdě. Aplikace zeleného hnojení a chlévského hnoje, tedy čerstvé organické hmoty s převahou slabě poutaných nízkomolekulárních huminových kyselin, přispěla k růstu mobility rizikových prvků v půdě i k růstu jejich příjmu rostlinami. Naopak, po aplikaci slatinné rašeliny a kvalitního zemědělského kompostu, které byly klasifikovány jako organické hmoty s převahou silně poutaných vysokomolekulárních huminových kyselin, došlo k významné redukci mobility rizikových prvků a jejich transferu do rostlin. Zadržování kontaminantů organickou hmotou závisí na její kvalitě (stupni humifikace), sorpční kapacitě a jejím vlivu na půdní reakci (Kabata-Pendias, 2011).

3.8 Odpad z výroby olivového oleje jako imobilizační přídatek

Výroba olivového oleje patří mezi nejdůležitější zemědělsko-průmyslové aktivity v oblasti Středomoří. Při výrobě olivového oleje však vzniká velké množství pevných a kapalných odpadů, jejichž hromadění nebo nesprávná likvidace představuje vážné ekologické problémy (Sampedro et al. 2007). Olej se z oliv získává nejčastěji dvoufázovou centrifugací (90 % vyroben oleje ve Španělsku). Tento proces vede ke vzniku dvou frakcí: olivového oleje a vlhkého pevného materiálu (pokrutin). Pokrutiny se vysuší a následnou extrakcí rozpouštědlem (zpravidla n-hexanem) je z nich uvolněn zbytkový olej, což vede ke vzniku

konečného odpadu – suchého olivového zbytku, označovaného „DOR“ (z anglického dry olive residue). Produkce DOR ve Španělsku činí přibližně 4 miliony tun ročně (Sampedro et al. 2009).

Průměrný DOR je charakterizován obsahem vlhkosti 14%, mírně kyselým pH a obsahem organické hmoty kolem 88%. Organická hmota se skládá převážně z ligninu a lipidů. DOR se vyznačuje také vysokým poměrem C:N, a vysokým obsahem minerálních živin (P, K, Ca) a zastoupením sloučenin, jako jsou cukry, pektin a polyfenoly (Blanc Acebal, 2015). Vzhledem k vysokému obsahu organických látek a minerálních živin má DOR potenciál pro využití v zemědělství jako hnojivo (Aranda et al., 2006). Díky těmto vlastnostem je také potenciálně uplatnitelný jako imobilizační půdní přídatek při remediaci půd kontaminovaných rizikovými prvky. Například Walker et Bernal (2008) zaznamenali zlepšení fyzikálně-chemických vlastností u vysoce zasolené zemědělské půdy po aplikaci kompostu vyrobeného z vedlejších produktů z výroby olivového oleje. Došlo ke zvýšení kationtové výměnné kapacity, zvýšení obsahu organické hmoty a některých živin, zejména rozpustného K^+ a k podpoře růstu u testovaných rostlin řepy přímořské (*Beta maritima*) a řepy obecné (*Beta vulgaris*).

Ukázalo se však, že přímá aplikace DOR do půdy může působit toxicky na rostliny a půdní organismy. Příčinou toxicity jsou zejména fenolické látky obsažené v organické frakci, které jsou schopny inhibovat jak mikrobiální růst, tak i klíčení semen a morfogenezi rostlin (Sampedro et al. 2009). Z tohoto důvodu je nutno provést vhodné ošetření DOR předtím, než je aplikován na zemědělskou půdu. Optimálního odstranění toxických látek z DOR lze dosáhnout použitím několika postupů, skládajících se z různých chemických, fyzikálních a biologických procesů (García-Sánchez et al., 2014). Pozitivních výsledků v tomto směru bylo dosaženo například kompostováním DOR samotného nebo spolu s jinými zemědělskými odpady (Sampedro et al. 2009) a bioremediací DOR saprofytickými houbami (Aranda et al., 2009).

3.8.1 Bioremediace DOR

Jako slibná metoda pro odstranění toxicity DOR se jeví jeho bioremediace pomocí saprofytických hub. Tyto mikroorganismy jsou schopny štěpit lignin a celulózu na jednodušší cukry a degradovat toxické látky, jako jsou fenolické sloučeniny (Aranda et al., 2009).

Dřevokazné houby jsou považovány za nejefektivnější pro degradaci ligninu v přírodě (Sampedro et al., 2007). Schopnost tzv. bílé hniloby rozkládat lignin se zdá být spojena

s působením extracelulárních enzymů, mezi něž patří především lignin peroxidázy, Mn-peroxidázy a lakázy, které se zároveň mohou podílet na snížení toxicity DOR (Aranda et al., 2006). Na degradaci fenolické frakce se podílí zejména lakázy prostřednictvím polymerace fenolů oxidací (Wan et Li, 2012).

V tomto směru bylo testováno několik druhů bílé hniloby. Sampedro et al. (2007) studovali vliv aerobního ošetření DOR pomocí různých druhů saprofytických hub, a to konkrétně *Phanerochaete chrysosporium*, *Coriolopsis floccosa* (dříve známá jako *Coriolopsis rigida*), *Phlebia radiata*, *Poria subvermispora*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Pleurotus pulmonarius*, na vývoj organické hmoty a fytotoxicitu tohoto odpadu. Zaznamenali, že po 20 týdnech inkubace došlo k významným úbytkům fenolických sloučenin, přičemž se jako nejúčinnější při degradaci ligninu a snižování fytotoxicity zdála být *C. floccosa*. Prudký pokles celkového obsahu fenolů zaznamenali Reine et al. (2013) po inkubaci DOR s *Auricularia auricula-judae*, *Bjerkandera adusta* a *Coprinellus radians*. Nogales et al. (2008) sledovali změny DOR při jeho biotransformaci pomocí houby *Pleurotus ostreatus* (po dobu 3 měsíců) a jeho následném vermikompostování s využitím žížal *Eisenia fetida* (po dobu 4 měsíců). Po ošetření pomocí *P. ostreatus* došlo u DOR ke znatelnému snížení obsahu u polyfenolů, organické hmoty, hemicelulózy a celulózy, ke zvýšení obsahu živin N, P, K, Ca, Mg a byla zaznamenána podpora aktivity některých enzymů (dehydrogenasy, glukosidázy a ureázy). Následné vermikompostování ošetřeného DOR vedlo ke zlepšení zemědělské kvality tohoto materiálu prostřednictvím optimalizace poměru C:N, omezení fytotoxicity a zvýšení obsahu živin.

4 Materiál a metodika

4.1 Příprava vzorků a jejich charakteristika

Materiál – suchý olivový zbytek (DOR) použitý pro tento experiment byl dodán výrobcem olivového oleje Sierra Sur S.A. (Granada, Španělsko). Pro biotransformaci DOR byly zvoleny čtyři druhy hub: štětičkovec žlutavý (*Penicillium chrysogenum*) CAST-10 (collection EEZ-10), outkovka druhu *Corioloropsis floccosa* (Español Type Culture Collection, CECT 20449T) izolovaná z bukového dřeva, šedopórka osmahlá (*Bjerkandela adusta*, collection DSMZ, n° de accession 23426), pevník nachový (*Chondrostereum purpureum*, collection DSMZ, n° accession DSM-4894). Jako půda pro inkubační experiment byla použita kontaminovaná fluvizem o známém celkovém obsahu prvků (Tabulka 9).

Biotransformace DOR byla provedena podle postupu, který publikovali Silas et al. (2014) následovně: Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 ml byly naplněny 50 g DOR, který byl předtím sterilizován. Do každé baňky bylo poté přidáno 20 g příslušných semen ječmene naočkovaných *C. floccosa*, *B. adusta*, *P. chrysogenum*-10 nebo *C. purpureum*. Následně probíhala inkubace po dobu 3 týdnů při teplotě 28 °C a bez přístupu světla. Po inkubaci byly vzorky DOR prosátý sítím (5 mm) a zbytek semen ječmene ručně odstraněn. Takto připravené vzorky byly uchovávány při teplotě 4 °C až do doby použití. Jako kontroly byly inkubovány nenačkované sterilizované vzorky DOR. Semena ječmene použitá pro naočkování DOR byla připravena následovně: 20 g ječmene předem povařeného a sterilizovaného (120 °C; 20 minut) bylo umístěno do Erlenmeyerových baněk o objemu 250 ml. Semena v jednotlivých baňkách byla naočkována příslušným druhem houby prostřednictvím kousků kultivačního média MEA, ve kterém byla houba předtím pěstována. Následně probíhala inkubace po dobu 3 týdnů při teplotě 28 °C a v temnu (Blanc Acebal, 2015). Alikvóty vzorků byly pak dále inkubovány po dobu 6 a 9 týdnů. Tyto vzorky byly využity pro stanovení kationtové výměnné kapacity.

Pro experiment bylo tedy připraveno celkem 5 vzorků, které byly označeny následovně:

DOR: DOR bez ošetření

Vzorek 1 (S1): DOR ošetřený *Penicillium chrysogenum*

Vzorek 2 (S2): DOR ošetřený *Corioloropsis floccosa*

Vzorek 3 (S3): DOR ošetřený *Bjerkandela adusta*

Vzorek 4 (S4): DOR ošetřený *Chondrostereum purpureum*

4.2 Stanovení obsahu prvků

Stanovení pseudocelkových koncentrací prvků ve vzorcích (DOR, S1, S2, S3, S4 a v půdě) bylo provedeno po mikrovlnně asistované extrakci směsí kyselin. Pro stanovení obsahů prvků bylo naváženo vždy 0,5 g sušiny vzorku do extrakční nádoby. Vzorek v nádobě byl přelit 8,0 ml koncentrované kyseliny dusičné (Analytika sro, Česká republika) a 2,0 ml H₂O₂ (Analytika sro, Česká republika). Směs byla následně zahřívána v mikrovlnné peci Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) při teplotě 220 °C po dobu 30 minut. Po ochlazení extraktů vzorků došlo k jejich kvantitativnímu převedení do skleněných zkumavek (25 ml). Vzorky byly doplněny deionizovanou vodou a skladovány při teplotě místnosti do doby měření. Pro zajištění kvality analytických dat byl využit standardní referenční materiál (NIST Apple Leaves, NIST, USA).

Obsahy prvků ve vzorcích byly stanoveny pomocí optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Agilent 720, Agilent Technologies Inc., USA) Přístroj Agilent 720 byl vybaven dvoukanálovým peristaltickým čerpadlem, Struman-Mastersovou zmlžovací komorou, a pneumatickým rozprašovačem z inertního materiálu s V-drážkou a jeho nastavení bylo následující: výkon 1,2 kW, tok plazmy 15,0 l.min⁻¹, pomocný průtok 0,75 l.min⁻¹, tok rozprašovače 0,9 l.min⁻¹.

4.3 Stanovení pH, pH_{pzc} a KVK

Hodnoty pH jednotlivých vzorků byly stanoveny v základním elektrolytu (0,01 mol.l⁻¹ NaNO₃, 1:30 w / v). Hodnoty byly změřeny v suspenzi 1 h a 24 h po expozici (Tabulka 10).

Bod nulového náboje (pH_{pzc}) byl stanoven imerzní metodou dle práce, kterou publikovali Fiol et Villaescusa (2009) (Obrázek 1). Změna pH (Δ pH) při dosažení rovnovážného stavu byla vypočtena a pH_{pzc} byl identifikován jako počáteční hodnota pH s minimální Δ pH.

Kationtová výměnná kapacita (KVK) byla vypočtena jako suma všech kationtů Ca, Mg, K, Na, Fe, Mn a Al extrahovatelných 0,1 M BaCl₂ (m / V = 1 + 20 po dobu 2 hodin) (ISO 1994, Tabulka 11). Úroveň KVK pro fluvizem použitou v sorpčních experimentech byla 54,8 ± 0,6 mmol.kg⁻¹ a hodnota KVK u neošetřeného DOR činila 574 ± 56 mmol.kg⁻¹.

4.4 Sorpční a desorpční experiment

Pro dosažení sorpční rovnováhy se 0,5 g vzorku třepalo s 15 ml základního elektrolytu (roztok $0,01 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaNO}_3$) se 4 mmol.l^{-1} koncentrací jednotlivých prvků (Cd, Pb a Zn) po dobu 0, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 8, 12, 24, a 48 hodin při 150 otáčkách za minutu při teplotě místnosti. Po vytřepání se suspenze odstředila po dobu 10 minut při 3000 otáčkách za minutu a následně byly stanoveny koncentrace Cd, Pb a Zn v roztocích pomocí ICP-OES.

Desorpční experiment byl proveden po předchozím nasycení vzorků sledovanými prvky, které proběhlo tak, že vzorky byly vystaveny 4 mmol.l^{-1} roztokům s jednotlivými prvky, poté centrifugovány a usazené sedimenty vysušeny při 30°C . Vysušené nasycené vzorky byly extrahovány třemi činidly:

- 1) $0,01 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaNO}_3$ (základní elektrolyt) po dobu 24 hodin,
- 2) $0,05 \text{ mol.l}^{-1} \text{ EDTA}$ (kyselina ethylendiamintetraoctová) při pH 7 po dobu 1 hodiny (Quevauviller et al., 1993),
- 3) $2 \text{ mol.l}^{-1} \text{ HNO}_3$ po dobu 6 hodin (Borůvka et al. 1996).

Následně došlo ke stanovení koncentrací sledovaných prvků v roztocích pomocí ICP-OES.

4.5 Vsádkový inkubační experiment

Pro provedení experimentální inkubace půd se 50 g kontaminované fluvizemě navázilo do polypropylenových nádobek a půda v nádobkách se ihned nasýtila na 60% vlhkost demineralizovanou vodou. Takto připravené vzorky půd byly poté ošetřeny jednotlivými přísadkami:

- 1) neošetřený vzorek půdy – kontrola,
- 2) 5% (w / w) DOR,
- 3) 5% (w / w) DOR ošetřený *Penicillium chrysogenum* (S1),
- 4) 5% (w / w) DOR ošetřený *Corioloopsis floccose* (S2),
- 5) 5% (w / w) DOR ošetřený *Bjerkandela adusta* (S3),
- 6) 5% (w / w) DOR ošetřený *Chondrostereum purpureum* (S4).

Půdy se pak řádně promíchaly a inkubovaly se při 24-27 °C po dobu 21 dnů. Vzorke pro hodnocení mobility prvků v ošetřené půdě byly odebrány po 1, 2, 3, 7, 14 a 21 dnech inkubace. V jednotlivých časech byl odebrán vždy 1 g každé půdy a vzorky se extrahovaly:

- 1) 0,01 mol.l⁻¹ NaNO₃ (základní elektrolyt) po dobu 24 hodin,
- 2) 2 mol.l⁻¹ HNO₃ po dobu 6 hodin (Borůvka et al., 1996).

Tři opakování byla provedena pro každé ošetření. Celkové obsahy prvků byly zjištěny v půdě i v jednotlivých vzorcích (DOR, S1, S2, S3, S4) před začátkem pokusu a výsledky jsou shrnuty v Tabulce 9.

4.6 Statistické zpracování dat

Analytická data byla zpracována s využitím statistického softwaru Statistica 10 CZ. Pro zjištění statisticky významných rozdílů mezi jednotlivými výsledky byla využita jednofaktorová analýza rozptylu (one-way ANOVA) a následně Tukeyho test. Všechny statistické analýzy a testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. K zobrazení výsledků pomocí tabulek a grafů byl využit program Microsoft Excel 2010.

5 Výsledky a diskuze

5.1 Celkový obsah prvků ve vzorcích

Zjištěné celkové obsahy prvků, včetně těch rizikových, v jednotlivých vzorcích DOR jsou zobrazeny v Tabulce 9. Z uvedených hodnot je patrné, že biotransformace DOR přispěla ke zvýšení obsahu cenných živin ve výsledném materiálu. Nejvýraznější nárůst mikro- a makroživin byl pozorován po ošetření pomocí hub *C. floccose* (S2) a *B. adusta* (S3). Zvýšení obsahu minerálních živin po houbové biotransformaci prokázali také např. Nogales et al. (2008), jak bylo již výše zmíněno. Pozitivní výsledky je možno sledovat v případě rizikových prvků Cd a Pb. Po biotransformaci byly obsahy Cd stále zanedbatelné jako u neošetřeného vzorku DOR. V případě Pb, biotransformace, bez ohledu na použitý druh houby, dokonce vedla vždy k významnému poklesu obsahu tohoto prvku. Obsah živin a absence toxických prvků by tento materiál mohly zvýhodnit před jinými organickými odpadními materiály, jako jsou např. čistírenské kaly nebo kompost z komunálního odpadu, u kterých byly často pozorovány zvýšené obsahy toxických prvků (např. Cd, Pb, Hg a Cr), jak uvádějí mnozí autoři (Smith, 2009; Hargreaves et al., 2008; Singh et Agrawal, 2008). Využití biotransformovaného DOR jako hnojiva v zemědělství se zdá být vhodné. Tento materiál je dobrým zdrojem živin a nepředstavuje riziko kontaminace půdy. Je však nutné počítat se skutečností, že obsahy prvků v DOR se mohou lišit v závislosti na vstupních surovinách, které mohou pocházet z různých lokalit.

Tabulka 9: Celkové obsahy prvků v jednotlivých vzorcích DOR a v půdě; výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, n = 3; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ($\alpha=0,05$)

Prvek	Půda mg.kg ⁻¹	DOR mg.kg ⁻¹	S1 mg.kg ⁻¹	S2 mg.kg ⁻¹	S3 mg.kg ⁻¹	S4 mg.kg ⁻¹
Al	21282 ± 805	2052 ± 166 ^a	3379 ± 95 ^b	3849 ± 195 ^c	3614 ± 130 ^{bc}	3304 ± 238 ^b
Ca	1425 ± 89	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
Cd	31.2 ± 2.4	0.977 ± 0.084 ^a	2.33 ± 0.09 ^b	2.81 ± 0.14 ^c	2.17 ± 0.06 ^b	2.07 ± 0.14 ^b
Cr	29.5 ± 0.68	7.43 ± 0.69 ^a	16.4 ± 0.0 ^b	18.7 ± 0.0 ^b	15.9 ± 0.2 ^b	15.1 ± 1.4 ^b
Cu	73.2 ± 6.0	230 ± 30 ^a	462 ± 9 ^b	663 ± 18 ^c	481 ± 12 ^b	398 ± 65 ^b
Fe	30106 ± 831	6460 ± 358 ^a	7807 ± 164 ^b	9487 ± 264 ^c	9146 ± 636 ^c	8016 ± 399 ^b
K	5556 ± 298	555 ± 42 ^a	931 ± 2 ^b	1186 ± 8 ^c	1125 ± 71 ^c	890 ± 76 ^b
Mg	2721 ± 57	5.83 ± 0.48 ^a	12.2 ± 0.9 ^c	12.8 ± 0.2 ^c	11.9 ± 0.5 ^c	7.6 ± 1.0 ^b
Mn	4282 ± 36	0.559 ± 0.088 ^a	1.55 ± 0.11 ^b	2.02 ± 0.05 ^c	1.74 ± 0.14 ^b	1.21 ± 0.12 ^{ab}
Ni	11.8 ± 1.0	517 ± 45 ^a	826 ± 38 ^b	1296 ± 21 ^c	1222 ± 96 ^c	791 ± 98 ^b
P	329 ± 41	1.1 ± 0.2	1.59 ± 0.20	<0.2	<0.2	<0.2
Pb	3277 ± 14.6	597 ± 50 ^a	946 ± 22 ^b	1168 ± 15 ^b	1058 ± 57 ^b	968 ± 70 ^b
S	706 ± 24	17.4 ± 0.16 ^a	19.1 ± 0.3 ^b	30.7 ± 0.6 ^c	23.4 ± 1.1 ^b	15.0 ± 2.1 ^a
Zn	4377 ± 95	2052 ± 166 ^a	3379 ± 95 ^b	3849 ± 195 ^c	3614 ± 130 ^{bc}	3304 ± 238 ^b

5.2 Stanovení pH, pH_{pzc} a KVK

Tabulka 10 prezentuje výsledky stanovení pH pro jednotlivé vzorky DOR. Zjištěné hodnoty pH potvrzují fakt, že DOR je materiálem kyselým. Neošetřený DOR vykazoval poměrně vysokou kyselost, která přetrvávala i po jeho ošetření pomocí *B. adusta* (S3). Biotransformace ostatními druhy hub (*P. chrysogenum* (S1), *C. floccosa* (S2) a *C. purpureum* (S4)), vedla vždy k významnému zvýšení úrovně pH, ale i přesto výsledný materiál byl i nadále slabě kyselý. Prodloužená expozice vzorků základnímu elektrolytu nevedla k žádné významné změně u hodnot pH. Nízké hodnoty pH snižují sorpci a následně zvyšují biologickou dostupnost a mobilitu většiny rizikových prvků v půdě (Rieuwerts, 2007). S klesající hodnotou pH se zvyšuje také rozpustnost rizikových prvků, které se v půdě mohou vyskytovat jako volné hydratované kationty (Hooda, 2009). Kumpiene et al. (2008) a Tlustoš

et al. (2006) potvrdili, že vyluhování Cd, Zn a Pb je silně závislé na pH, kdy nejnižší mobility prvků byly zaznamenány v neutrální až mírně alkalickém prostředí. Zjištěné nižší hodnoty pH vzorků by tedy mohli být nepříznivým faktorem pro sorpční vlastnosti těchto materiálů. Zvýšením pH, například vápněním lze podpořit retenci kovů v půdě (Adriano, 2001). Například Khan et Jones (2008) pozorovali vysokou imobilizační účinnost kompostu připraveného z odpadní zelené biomasy a čistírenských kalů v kombinaci s vápněním po aplikaci na odpadní materiál z měděného dolu. Koncentrace Cu a Fe v listech rostlin rajčat *Lycopersicon esculentum* byla tímto snížena o 77 % respektive o 83 %.

Výsledky stanovení kationtové výměnné kapacity (KVK) jsou shrnuty v Tabulce 11. U vzorků DOR remediovaných 3 týdny byl nejvíce pozitivní vliv na KVK pozorován u těch ošetřených pomocí *P. chrysogenum* (S1) a *B. adusta* (S3), kde došlo k výraznému zvýšení tohoto parametru. Ze vzorků po šestitýdenní remediaci vykazovaly nejvyšší KVK vzorky s *P. chrysogenum* a *C. purpureum* (S4). U vzorku S4 tedy došlo k rapidnímu zvýšení KVK mezi třetím a šestým týdnem remediaci. Devítitýdenní remediaci u vzorku S4 již však znamenala mírný pokles v tomto směru. U ostatních vzorků (S1, S2 a S3) hodnota KVK rostla spolu s prodlužující se dobou remediaci. Jak již bylo zmíněno, hodnota KVK u neošetřeného DOR činila $574 \pm 56 \text{ mmol.kg}^{-1}$. Z výsledků je patrné, že houbová biotransformace má vliv na množství sorpčních míst umožňujících nespecifickou sorpci kationtů, že v tomto směru existují rozdíly mezi jednotlivými druhy použitých hub a že zde také existuje závislost na době trvání remediaci. Materiály organické povahy, mezi které se DOR řadí, se obecně vyznačují vysokými hodnotami KVK (Adriano, 2001). Biotransformace houbami má zřejmě za následek zvětšení specifického povrchu, a tím pádem může docházet ke zvýšení KVK výsledného materiálu.

Bodu nulového náboje (PZC) bylo u netransformovaného vzorku DOR dosaženo při hodnotě pH 4 ($\text{pH}_{\text{pzc}} = 4$) a po biotransformaci, bez rozdílu na použitém druhu hub, došlo k mírnému zvýšení pH_{pzc} na hodnotu 6, jak je patrné z Tabulky 10 a Obrázku 1. Na základě znalosti pH_{pzc} lze určit povrchový náboj sorbentu při daném pH. Dle povrchového náboje sorbentu lze pak usuzovat, jakým způsobem bude materiál interagovat s kovovými speciemi. Při pH vzorku vyšším než pH_{pzc} je povrch sorbentu nabitý záporně a může interagovat s kovovými kationty, zatímco při pH nižším než pH_{pzc} má povrch kladný náboj a může u něj docházet k interakci s anionty kovů nebo jsou při sorpci zapojeny jiné mechanismy než elektrostatické síly (Fiol et Villaescusa, 2009). V případě vzorku DOR byl pozorován stav $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$, což znamená záporně nabitý povrch. U biotransformovaných vzorků lze sledovat $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$, z čehož lze usuzovat, že při sorpci Cd, Pb a Zn tímto materiálem, budou zapojeny

jiné faktory, než elektrostatické síly. Podobně Vaca et al. (2008) v půdách ošetřených čistírenskými kaly a kompostovanými čistírenskými kaly pozorovali, že prvky Pb a Zn nebyly vázány převážně elektrostaticky.

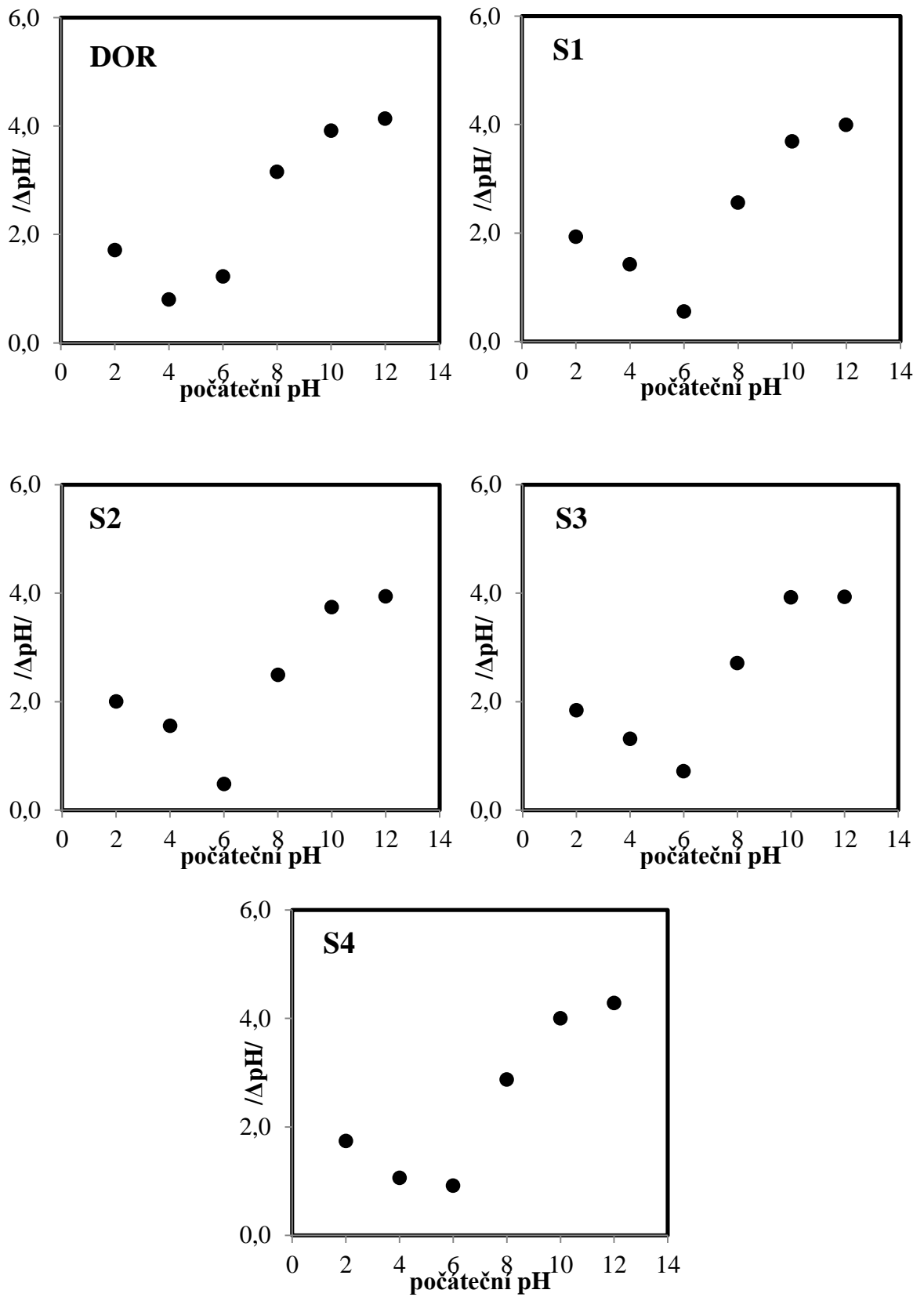
Tabulka 10: Hodnoty pH jednotlivých vzorků;
výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka, n = 3; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ($\alpha=0,05$)

Vzorek	1h	24 h	pH _{pzc}
DOR	4.88 ± 0.05 ^a	4.87 ± 0.01 ^a	4.0
S1	5.46 ± 0.02 ^b	5.51 ± 0.06 ^b	6.0
S2	5.74 ± 0.01 ^b	5.70 ± 0.01 ^b	6.0
S3	4.98 ± 0.01 ^a	5.06 ± 0.01 ^a	6.0
S4	5.26 ± 0.00 ^{ab}	5.35 ± 0.01 ^b	6.0

Tabulka 11: KVK biotransformovaných vzorků DOR (mmol.kg⁻¹);
výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka

Vzorek	Doba trvání remediace		
	3 týdny	6 týdnů	9 týdnů
S1	616 ± 26	733 ± 7	758 ± 23
S2	592 ± 30	644 ± 18	690 ± 50
S3	617 ± 19	666 ± 5	704 ± 14
S4	583 ± 17	739 ± 15	709 ± 14

Obrázek 1: Bod nulového náboje jednotlivých vzorků stanovený imerzní technikou podle Fiol and Villaescusa (2009)



5.3 Sorpční a desorpční experiment

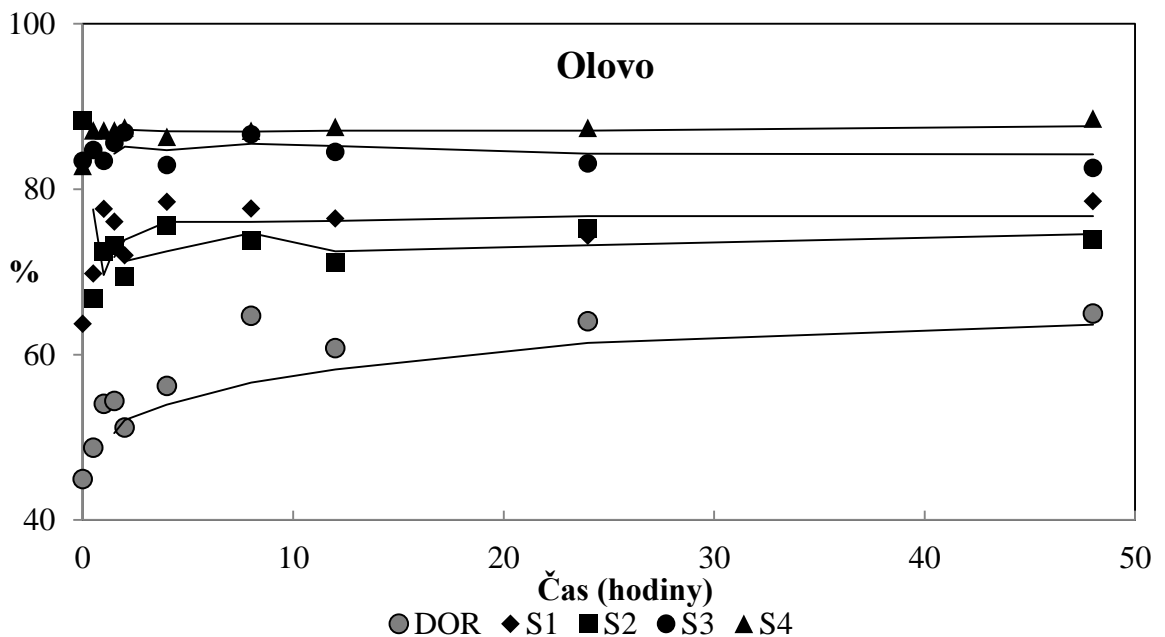
Účinnost sorpce jednotlivými vzorky pro zkoumané prvky (Pb, Cd, Zn) v závislosti na čase zobrazuje Obrázek 2. Jako nejméně účinný sorbent pro všechny tři prvky se ze všech vzorků jevil neošetřený DOR. Sorpce prvků tímto materiálem klesala v pořadí $Pb > Zn > Cd$. Biotransformované vzorky vykazovaly nejvyšší retenční schopnost pro Pb, menší pro Zn a nejméně ze všech prvků jimi bylo zadržováno Cd. Nejvyšší retence olova byla pozorována u vzorku transformovaného pomocí *C. purpureum* (S4), kdy tento vzorek dokázal zadržet až 88,5 % Pb v roztoku. Sorpce Pb jednotlivými vzorky klesala v pořadí $S4 > S3 > S1 > S2 > DOR$. Kadmium a zinek byly nejvíce zadržovány vzorkem ošetřeným pomocí *C. floccosa* (S2). Účinnost sorpce vzorkem S2 dosahovala u těchto prvků 60 %. Sorpce Cd i Zn jednotlivými vzorky klesala v pořadí $S2 > S1 > S4 > S3 > DOR$. Sorpce prvků u všech sledovaných vzorků probíhala takřka okamžitě. U Pb bylo sorpční rovnováhy dosaženo po 8 hodinách a u Cd a Zn dokonce již po 2 hodinách kontaktu. Po 24 hodinové expozici se dokonce u některých vzorků u Cd a Zn objevila klesající tendence.

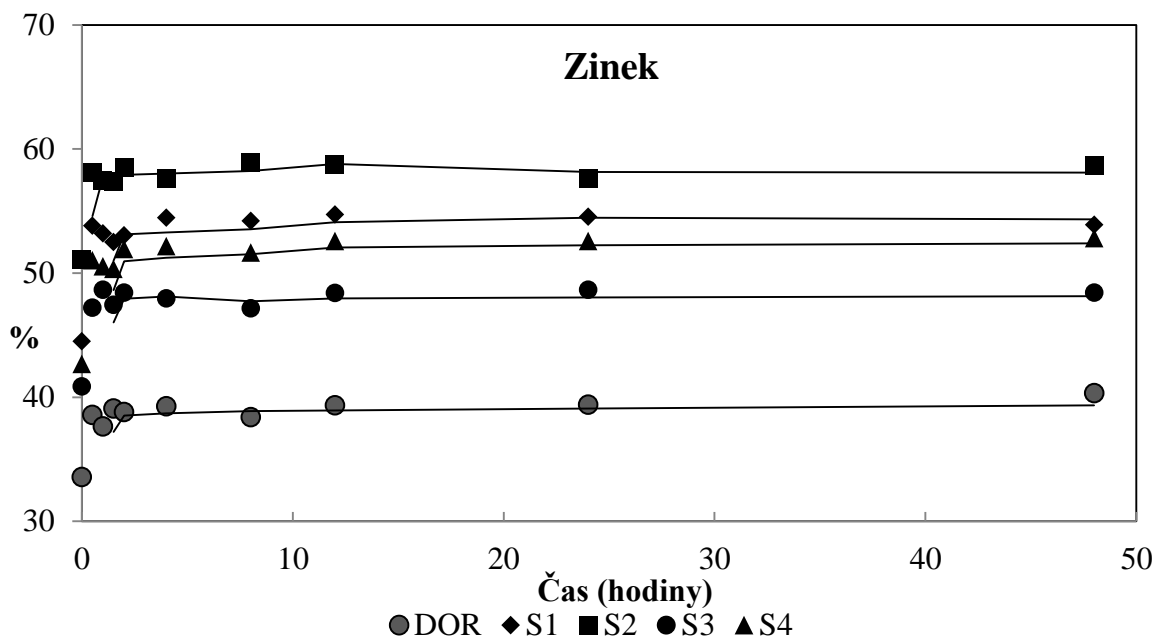
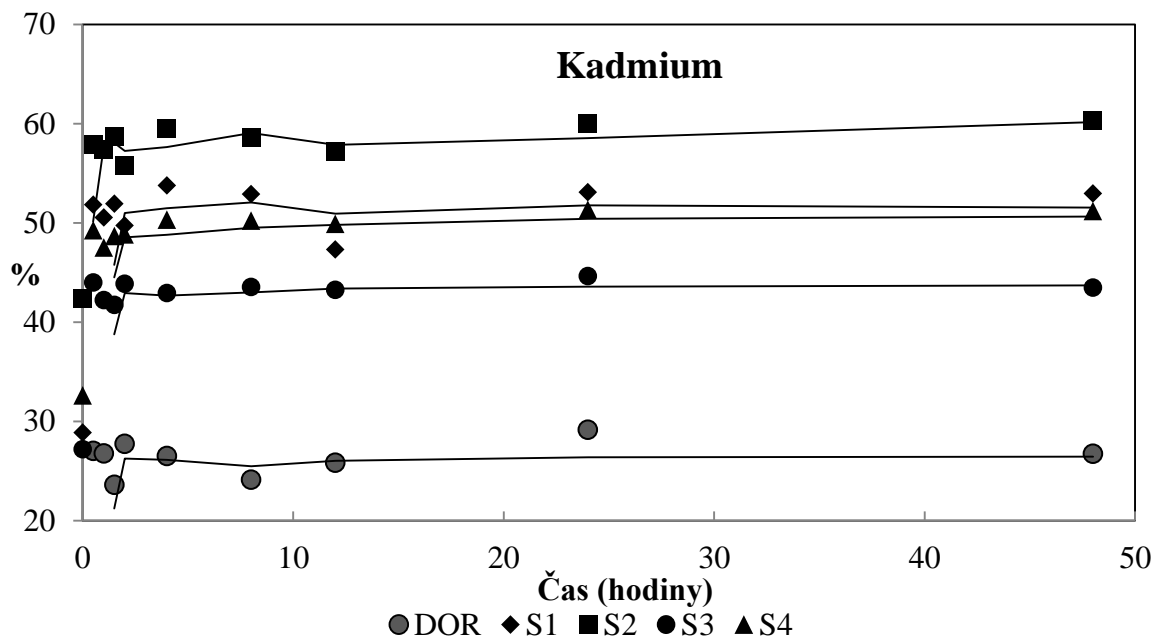
Desorpční experiment ukázal nízké stability vazeb mezi sorbovanými prvky a sorbentem u všech vzorků (Obrázek 3). Nejvyšší míra desorpce byla pozorována u vzorků DOR a to pro všechny sledované prvky. Téměř 90 % Zn sorbovaného v DOR bylo uvolněno extrakčními činidly $NaNO_3$ a EDTA a jen o něco méně (70 %) činidlem HNO_3 . Nejstabilněji ze všech prvků bylo vázáno olovo a nejnižší stability vazeb byly pozorovány u zinku. Nižší míru desorpce Pb z půd s vysokým obsahem organických látek pozorovali také Strawn a Sparks (2000). Z transformovaných vzorků DOR byly prvky nejpevněji vázány vzorkem DOR, k jehož transformaci byla použita *C. floccosa* (S2). Nejvyšší míra desorpce zejména Cd a Zn byla pozorována u vzorku ošetřeného pomocí *B. adusta* (S3). Rozdíly mezi jednotlivými ošetřenými vzorky však většinou nebyly v tomto směru nikterak vysoké.

Je známo, že vyšší hodnoty pH a CEC a vyšší obsah oxidů Fe a Mn mají pozitivní vliv na sorpci rizikových prvků (Kabata-Pendias 2011). V případě DOR je důležitým faktorem pro sorpci prvků obsah organické hmoty. Diagboya et al. (2015) zjistili, že půdy s vysokým obsahem organické hmoty dokážou zadržet větší množství iontů prvků v kratším časovém horizontu, než ty s vysokým obsahem oxidů železa. Z dlouhodobého hlediska (90 dnů) však vysoký obsah organických látek vedl ke snížení retence rizikových prvků a ke zvýšení desorpce s postupem času. Tapia a kol (2010) při posuzování schopnosti tří různých kompostů imobilizovat Cd zjistili, že lepší účinek v tomto směru měly komposty s vyšším pH a vyšším stupněm humifikace organické hmoty. Sampedro et al. (2009) pozorovali pozitivní vliv na stupeň humifikace DOR po jeho transformaci saprofytickými houbami, kdy se stupeň

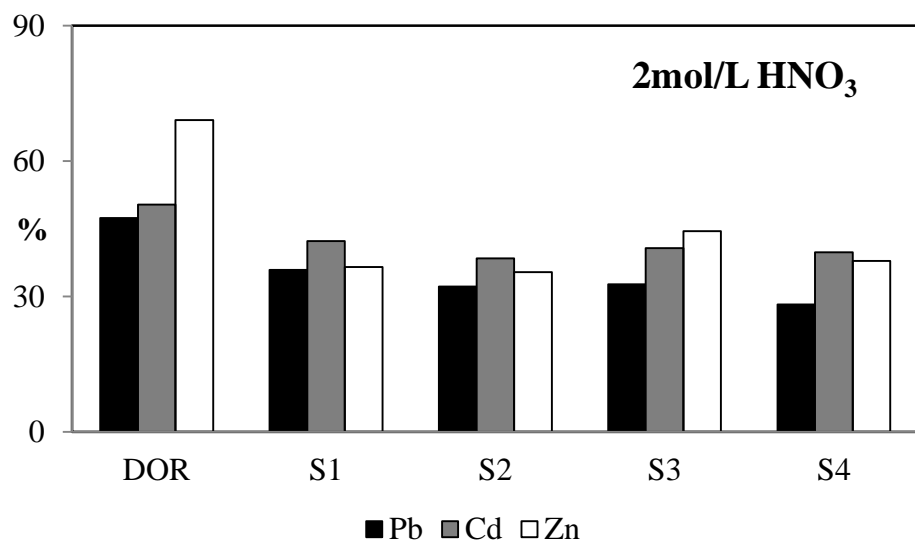
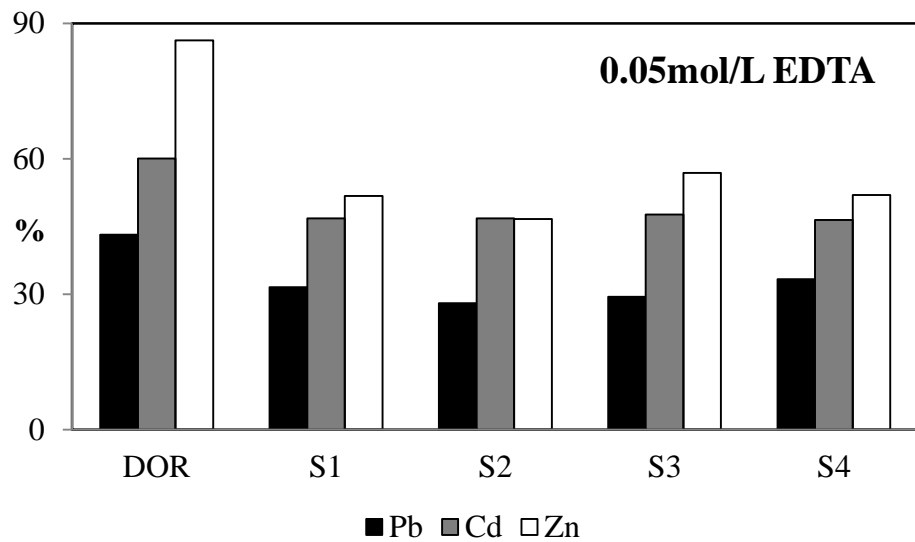
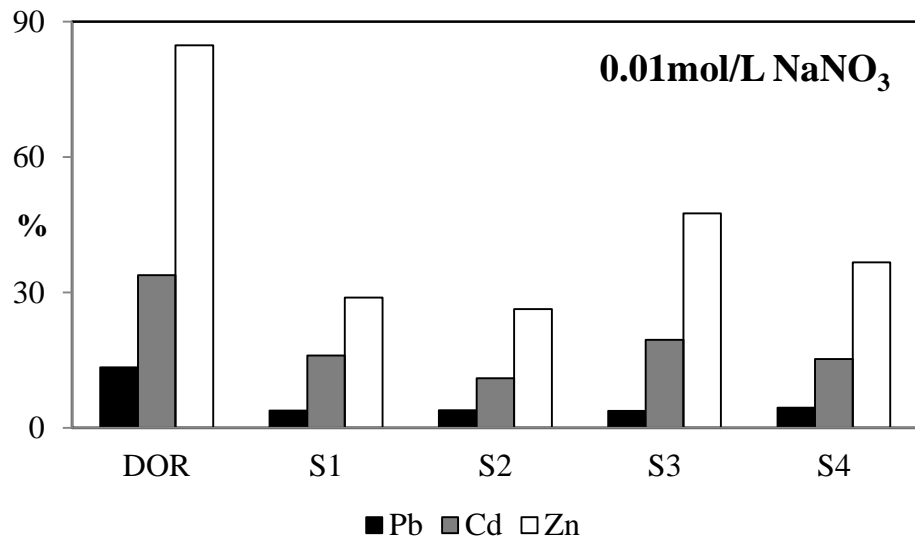
humifikace u DOR ošetřeného houbou *Paecilomyces farinosus* po dobu 20 týdnů, zvýšil o přibližně 65% a humifikační index dosáhl hodnoty 0,38, která charakterizuje dobře humifikovaný materiál. Z toho vyplývá, že biotransformovaný DOR má lepší potenciál pro sorpci rizikových prvků ve srovnání s neošetřenými vzorky. Karak et al. (2015) uvádějí, že sorpce Cd při pH kyselém je chemicky řízeným procesem, zatímco při pH alkalickém se jedná o proces řízený difuzí. To znamená, že nízká úroveň pH v případě DOR, a to i po jeho biotransformaci, může negativně ovlivnit stabilitu vazeb mezi prvky a vzorky DOR, což bylo posléze dokázáno desorpčním experimentem.

Obrázek 2: Vliv doby kontaktu jednotlivých vzorků se 4 mmol.l^{-1} roztoku zkoumaných prvků





Obrázek 3: Desorpce jednotlivých prvků za použití třech rozdílných extrakčních činidel



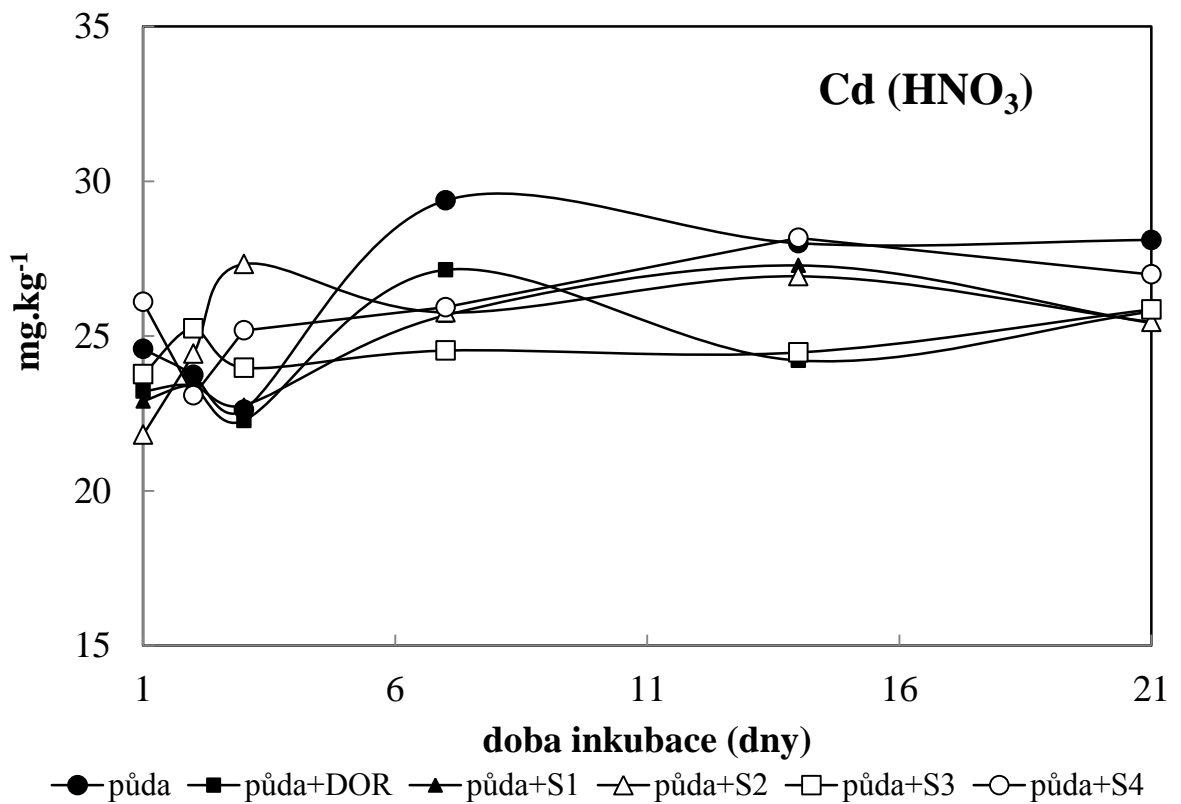
5.4 Vsádkový inkubační experiment

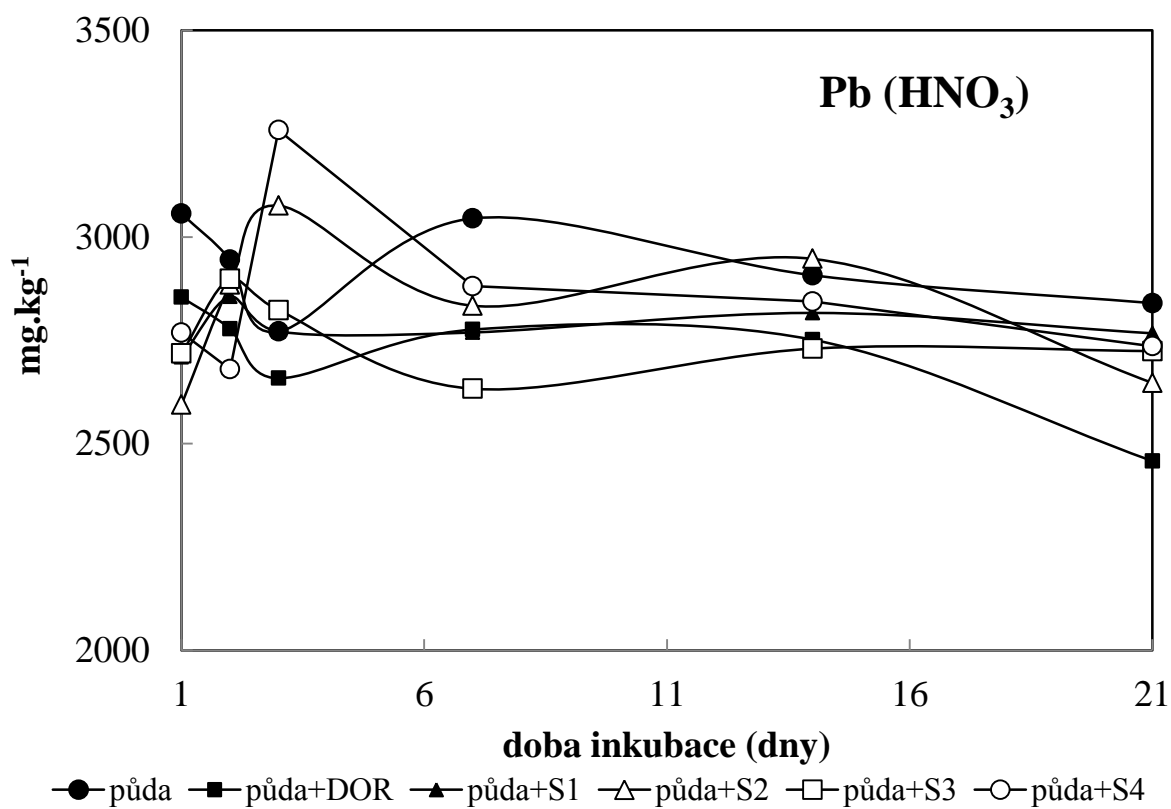
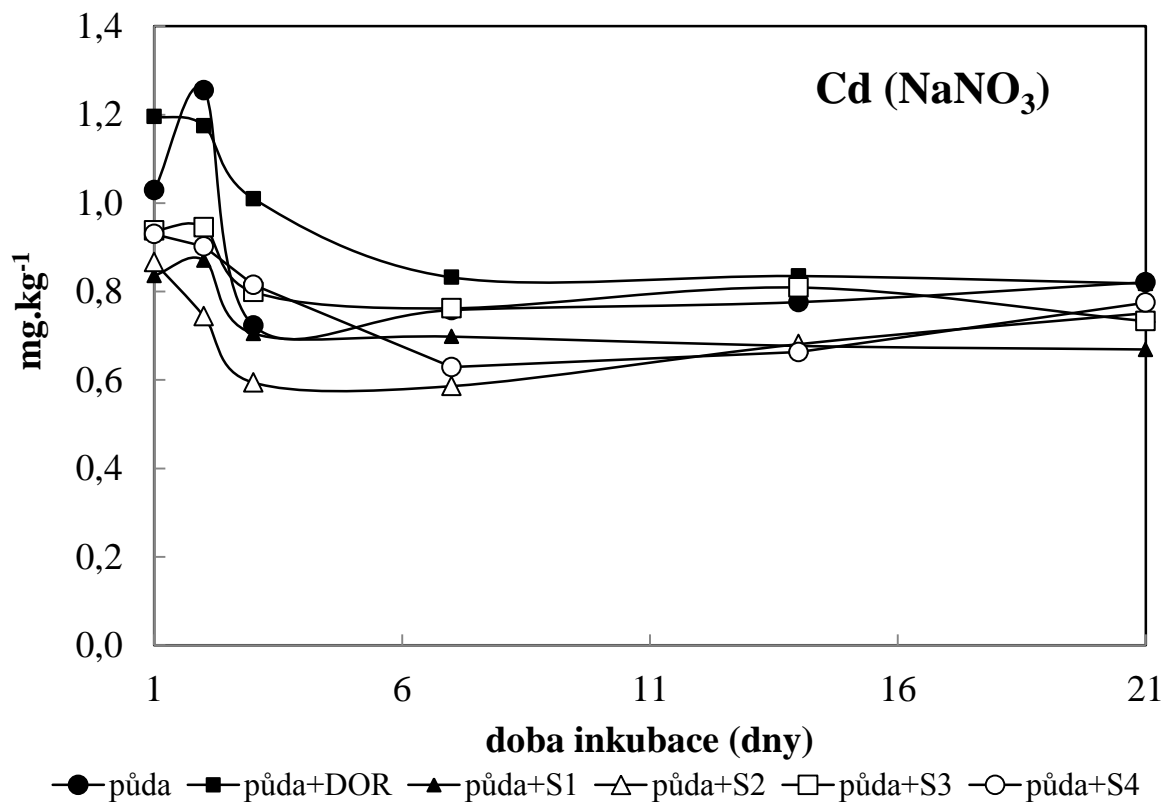
Tímto experimentem byl sledován vliv přísadků DOR a DOR transformovaných vybranými druhy hub na mobilitu rizikových prvků v kontaminované půdě. Uvolňování vybraných prvků do roztoku z neošetřené kontaminované půdy a z kontaminované půdy ošetřené jednotlivými vzorky DOR při extrakci HNO_3 a NaNO_3 v závislosti na době inkubace, je zachyceno na Obrázku 4. Extrakce pomocí HNO_3 poskytuje informace o potenciálně mobilizovatelných frakcích a extrakce NaNO_3 o frakcích biologicky dostupných. Z výsledků je patrné, že aplikované přísadky neměly významný vliv na potenciálně mobilizovatelné podíly prvků. Pouze u Pb, Zn a Cd byl zaznamenán ztelnější pokles těchto podílů po aplikaci surového DOR. Přísadky DOR surové, i ty po remediaci houbami, neovlivnily koncentrace Cd v půdě dostupné rostlinám, v případě Zn způsobily pokles dostupných frakcí a u Pb jejich podíl dokonce zvýšily. Přísadky v půdě zvýšily přístupnost živin jako je Cu, Fe a Mn pro rostliny. V tomto směru nebyla prokázána zásadní závislost na druhu houby použité k remediaci DOR. Pravděpodobně se zde potvrdila nedostatečná stabilita vzniklých vazeb díky nízkému pH, což naznačovaly již výsledky desorpčního experimentu.

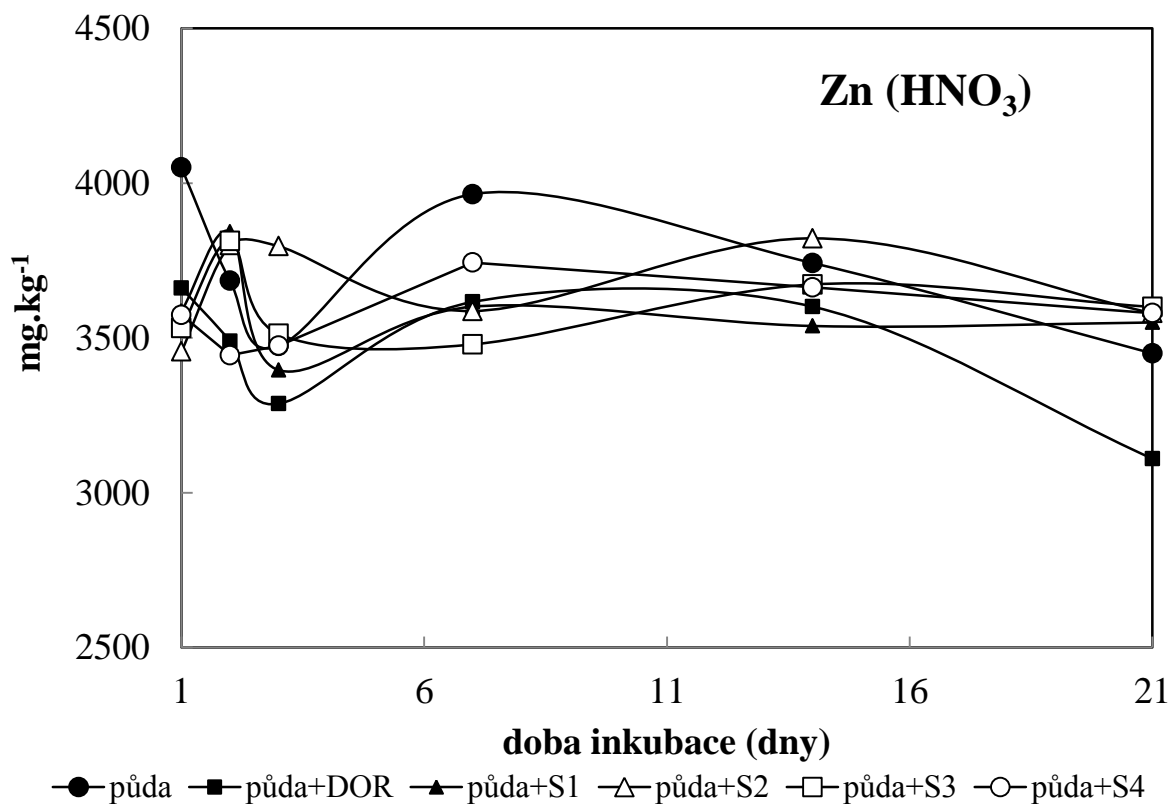
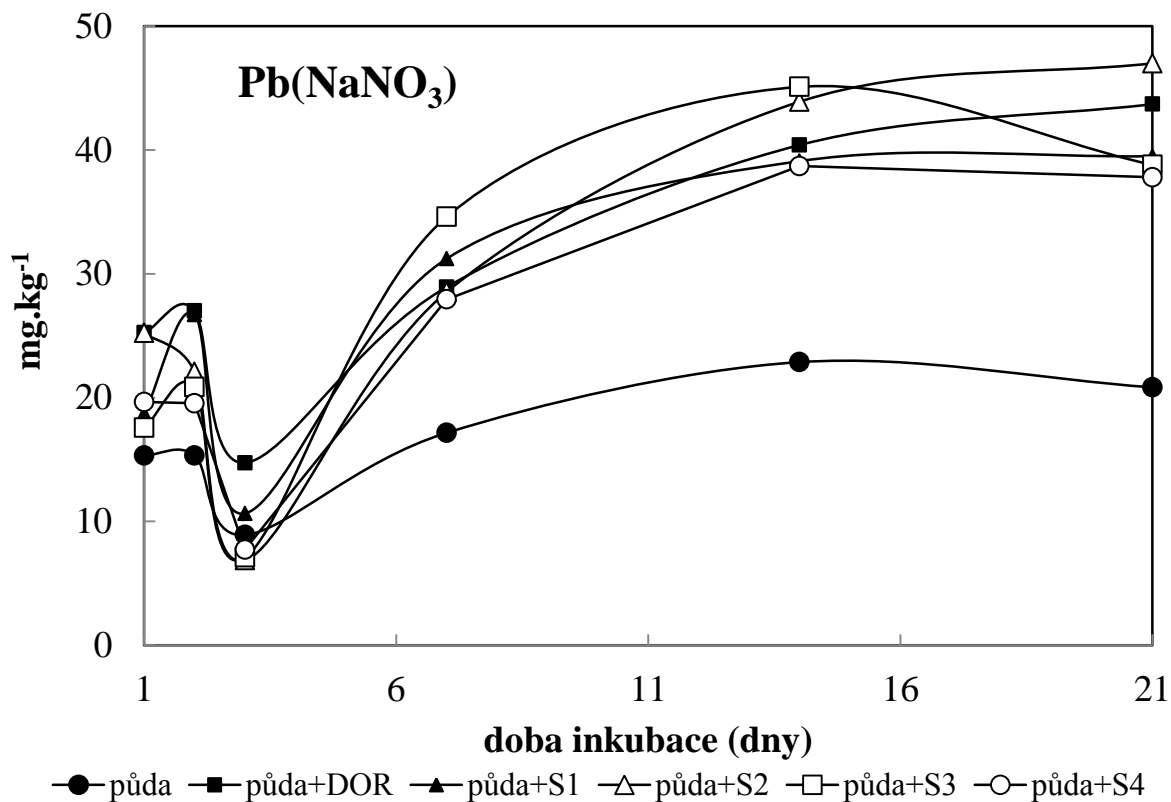
Blanc Acebal (2015) testovala sorpci rizikových prvků Pb, Cd a Zn v půdě po přísadku vzorků DOR ošetřených stejnými druhy hub, jako byly použity v tomto experimentu. Zdálo se, že přísadka DOR zvýšil sorpční kapacitu půdy pro všechny testované prvky. Toto však bylo zaznamenáno ve 24 hodinovém experimentu. Lze tedy konstatovat, že v inkubacích, kdy byl DOR s půdou v kontaktu delší dobu a pokus byl bližší reálným podmínkám, se očekávaný efekt DOR na snížení mobility prvků neprojevil. Je tedy zřejmé, že pro případné využití DOR k imobilizaci prvků v kontaminované půdě je nutno řešit stabilitu vazeb mezi prvky a DOR. Organická hmota se může na retenci prvků podílet prostřednictvím nespecifické sorpce, specifické sorpce a tvorbou komplexů s těmito prvky. Organické látky mohou obsahovat různé funkční skupiny, např. CO_2 , OH, C=C, COOH, SH, CO_2H , díky kterým mohou tvořit komplexy s některými kationty (Kabata-Pendias, 2011). Guo et al. (2006) prokázali rozdíly mezi principy adsorpce prvků Cd, Pb a Cu na půdní organickou hmotu, kdy adsorpce Pb a Cu probíhala především prostřednictvím tvorby komplexů s karboxylovými a hydroxylovými skupinami ve vnitřní sféře, zatímco Cd bylo zřejmě adsorbováno tvorbou komplexů ve vnější sféře sorpčního komplexu. Liu et al. (2009) testovali sorpční vlastnosti odpadních kalů ze zpracování vína, které se vyznačovaly vysokým obsahem organických látek a vysokou KVK. Pomocí infračervené analýzy určili karboxylovou skupinu jako hlavní funkční skupinu v tomto materiálu a také jako hlavní místo pro vazbu Zn. Stanovení povrchových funkčních

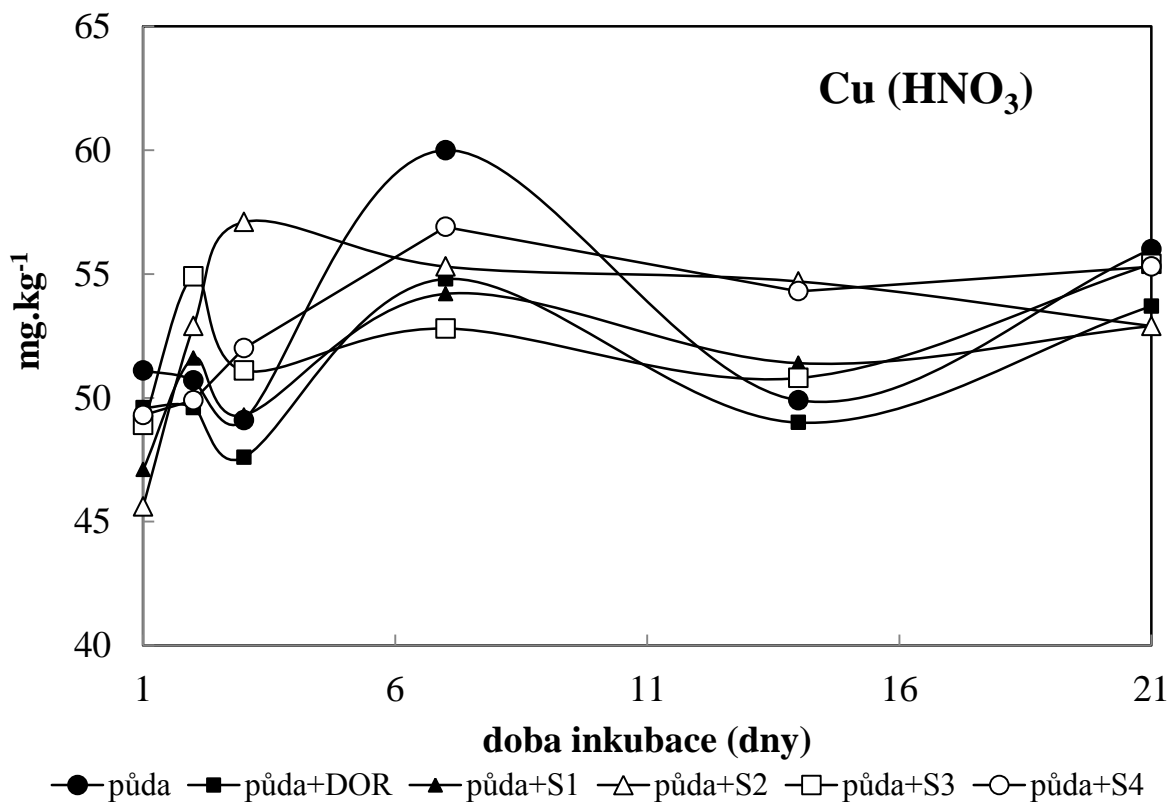
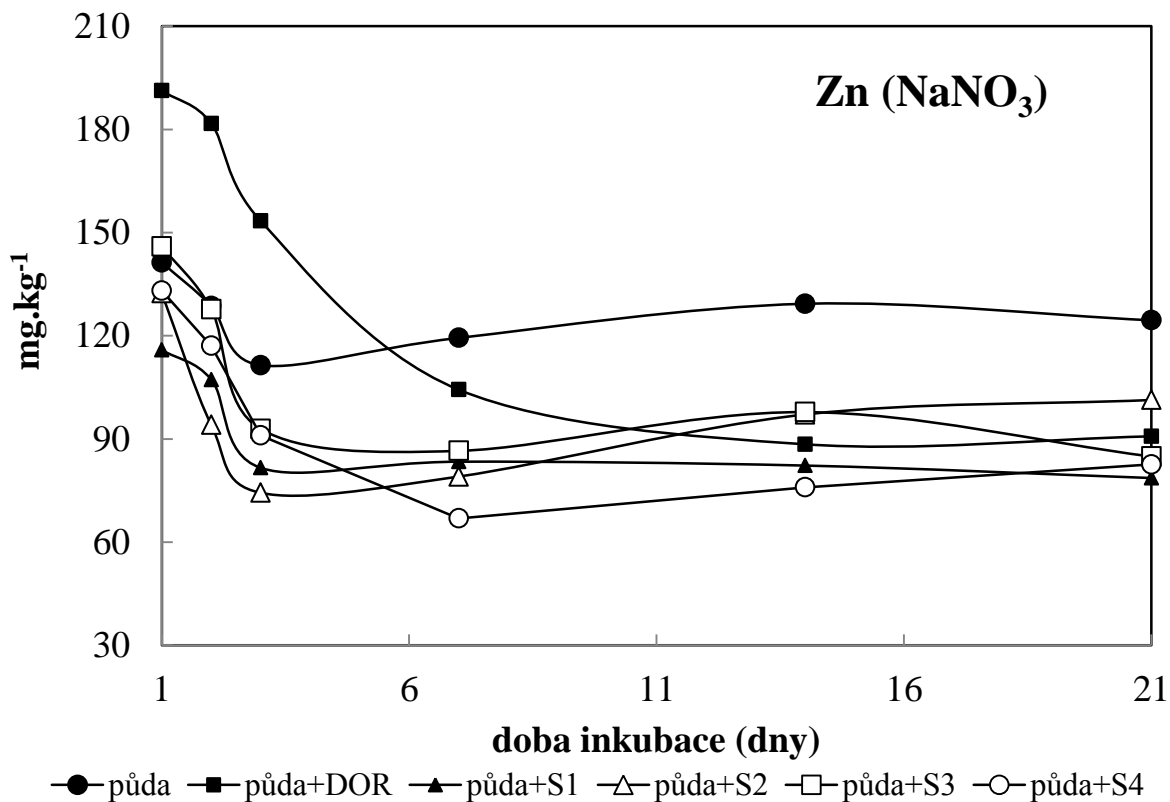
skupin vzorků DOR by mohlo být užitečné pro vyhodnocení vztahů mezi rizikovými prvky a danými vzorky.

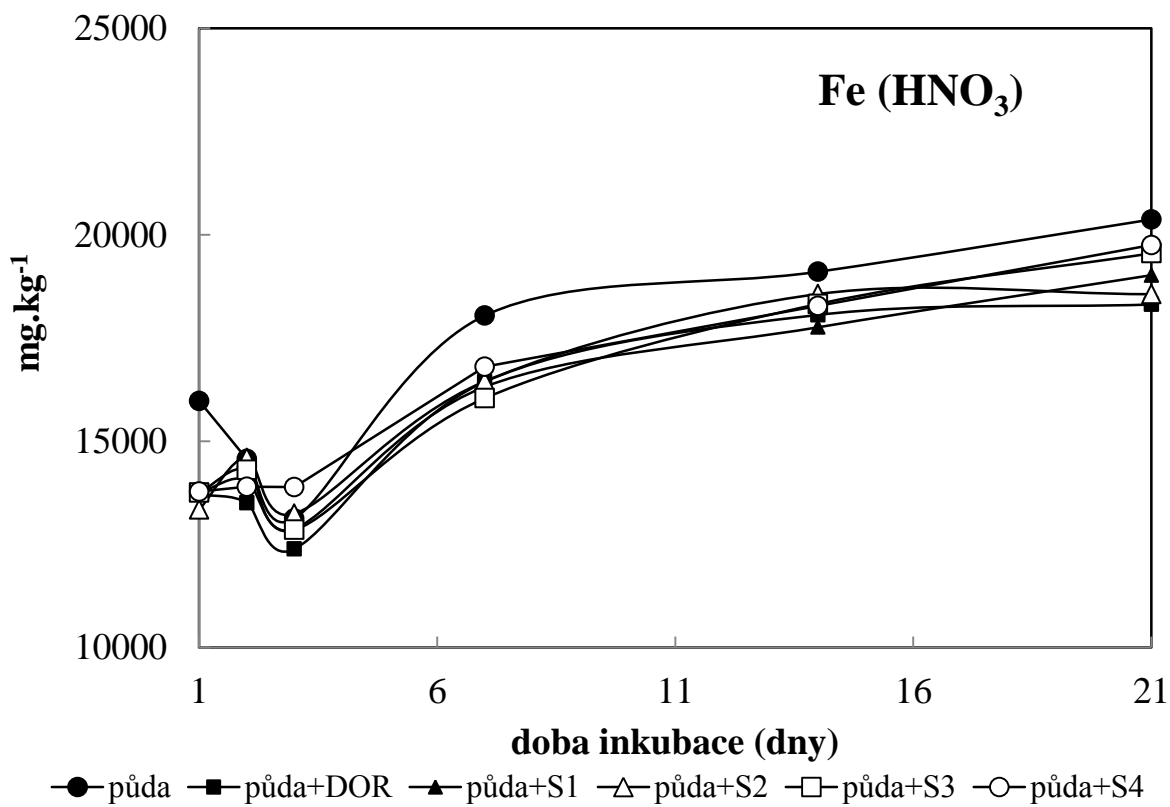
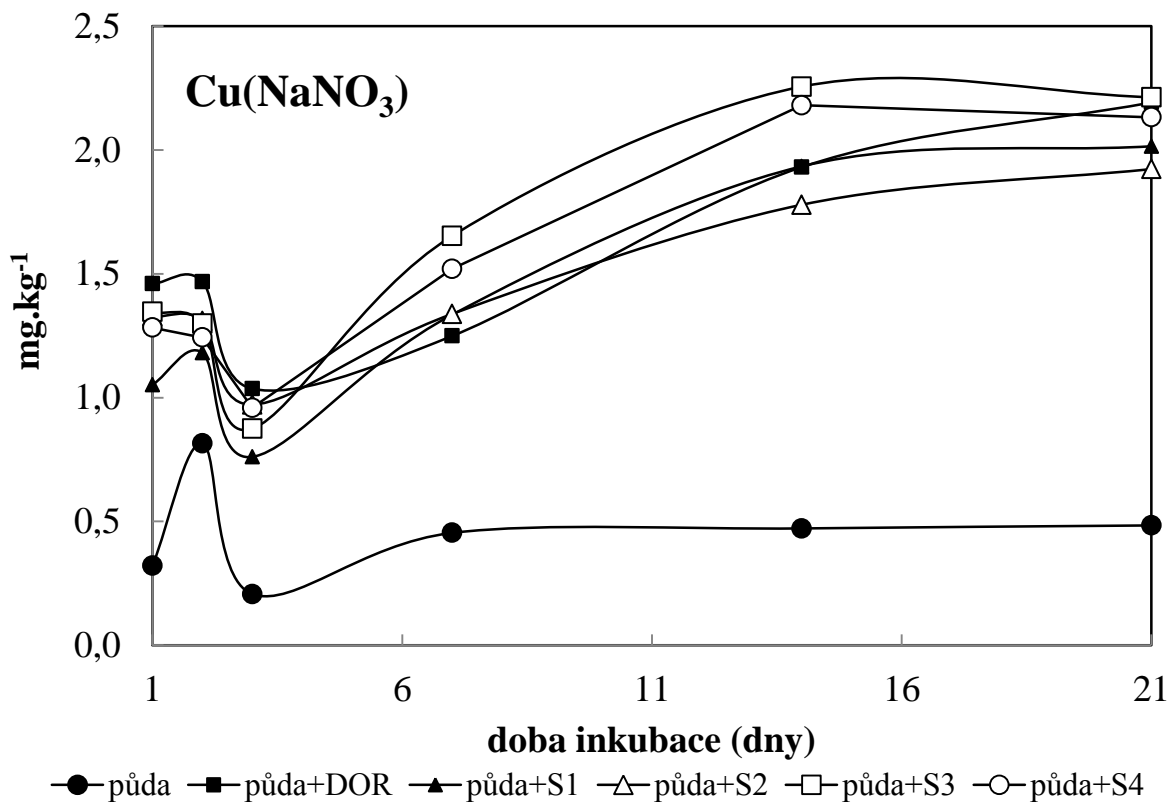
Obrázek 4: Změny koncentrací extrahovatelných podílů prvků v průběhu inkubace. (půda) neošetřená kontrola, (půda + DOR) 5% (w / w) DOR, (půda + S1) 5% (w / w) DOR po transformaci *Penicillium chrysogenum*, (půda + S2) 5% (w / w) DOR po transformaci *Corioloopsis floccosa*, (půda + S2) 5% (w / w) DOR po transformaci *Bjerkandera adusta* a (půda + S2) 5% (w / w) DOR po transformaci *Chondrostereum purpureum*

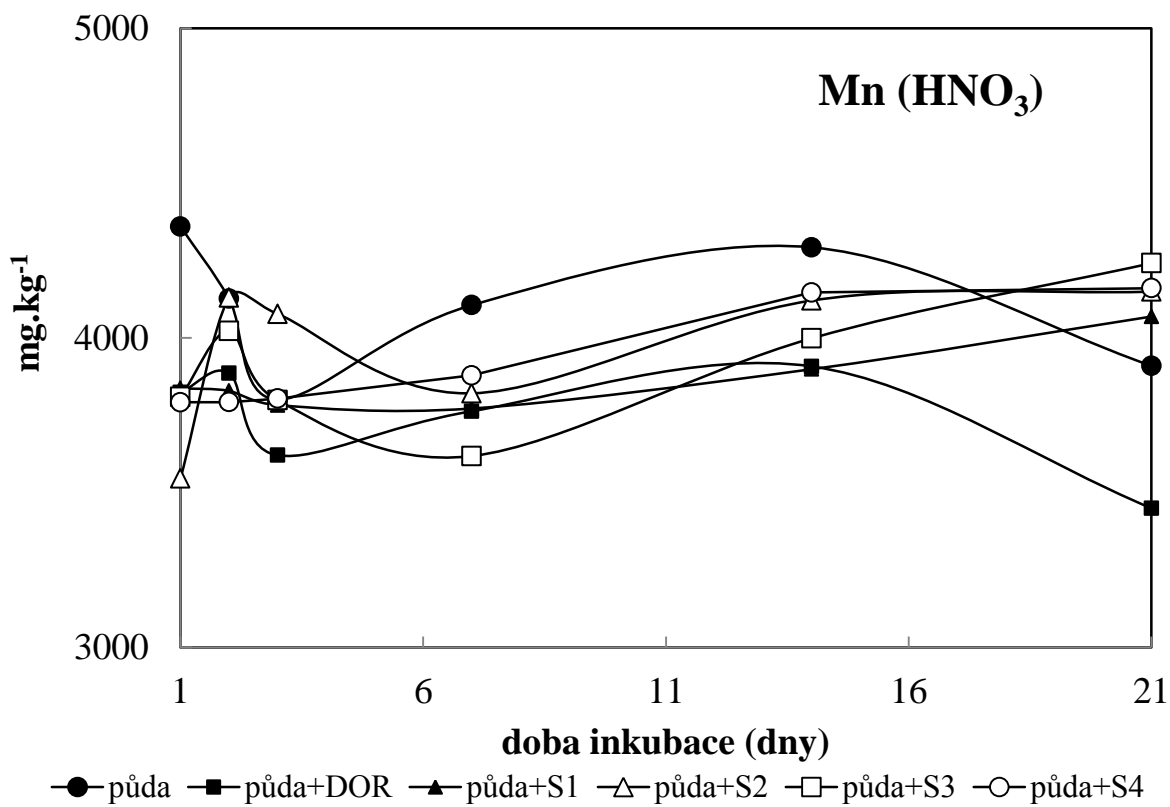
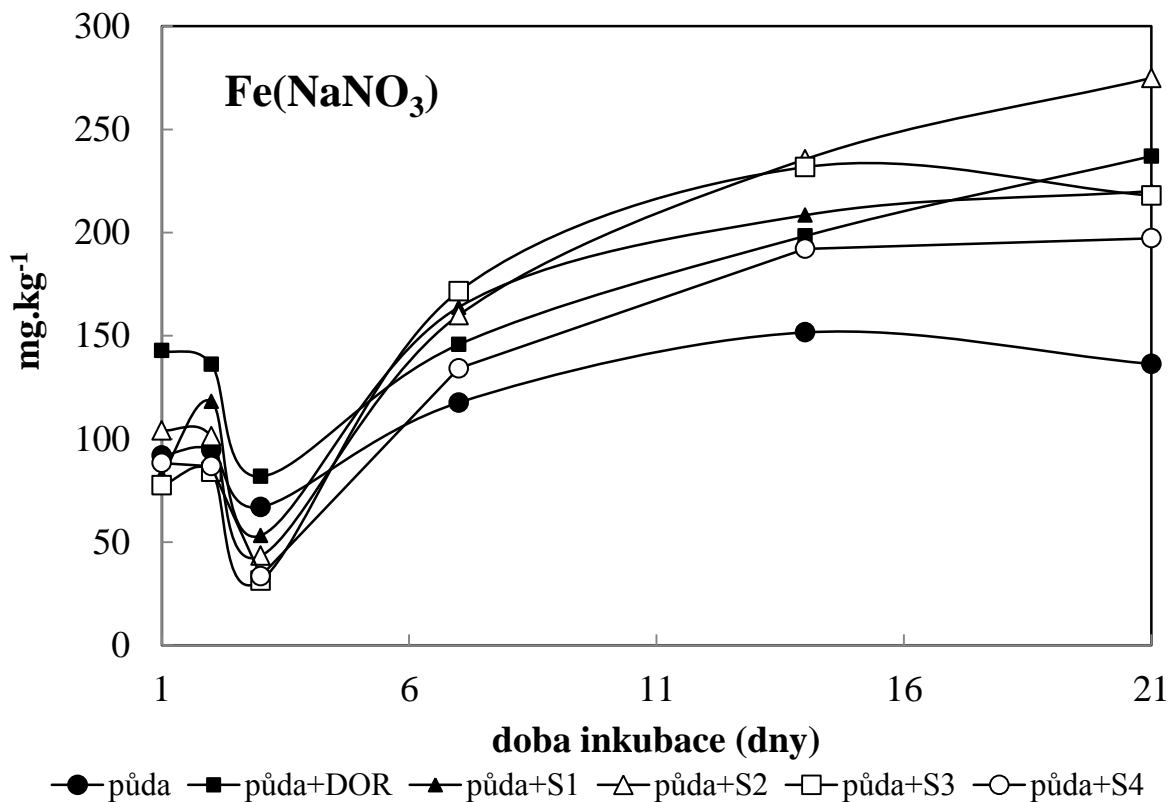


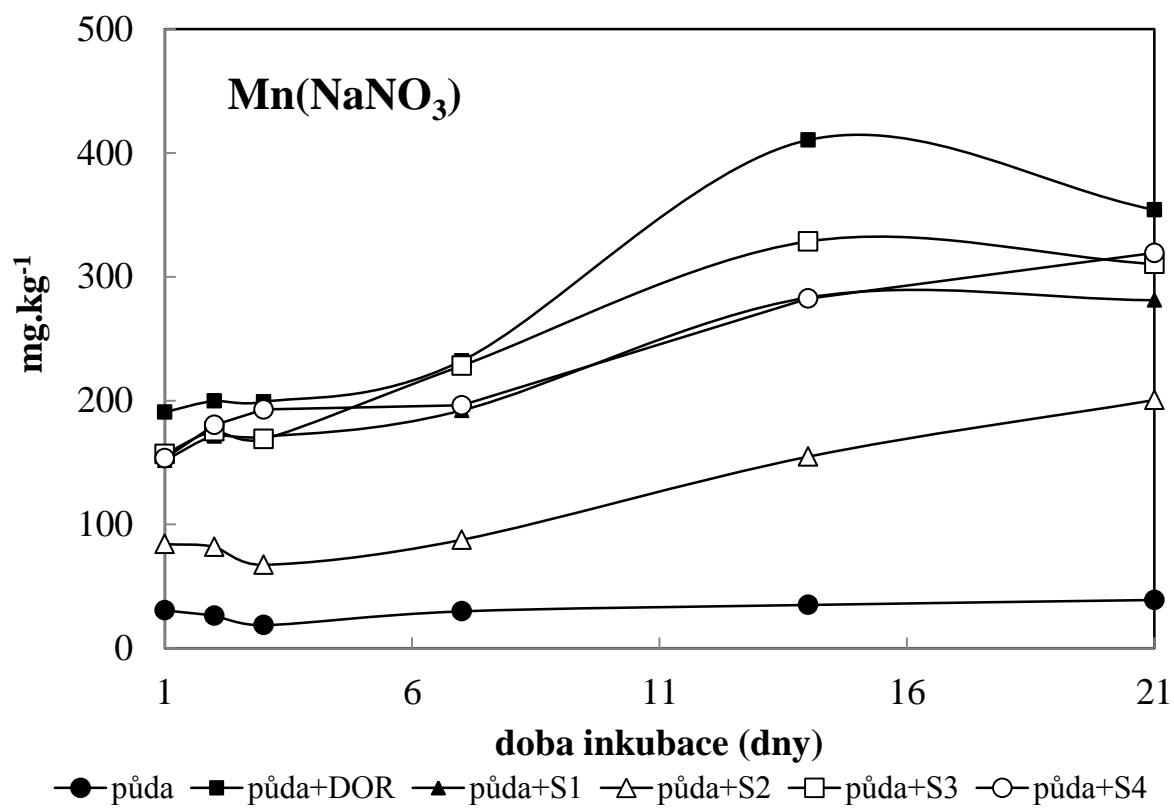












6 Závěr

- Materiál DOR prokázal dobré předpoklady pro sorpci rizikových prvků, a to zejména Pb, v menší míře i Cd a Zn. Vyšší sorpce těchto prvků byly pozorovány u vzorků DOR po biotransformaci pomocí různých druhů hub, kde lze očekávat vyšší humifikaci organické hmoty. Transformovaný DOR má tedy dobrý potenciál pro využití k imobilizaci rizikových prvků v kontaminované půdě.
- Nicméně, výsledky ukázaly relativně vysokou nestabilitu vazeb mezi prvky a DOR, především v případě Zn. Efektivita imobilizačních opatření, pomocí materiálů na bázi organické hmoty je v půdách kontaminovaných rizikovými prvky podstatně ovlivněna úrovní pH, kde se převážně imobilizace zvyšuje s rostoucí úrovní hodnoty pH. V tomto případě je DOR materiálem kyselým. Úprava pH půdy například vápněním by mohla pomoci a měla by se testovat v případných dalších experimentech.
- Biotransformovaný DOR se zdá být z hlediska prvkového složení dobrým zdrojem minerálních živin a přítomnost DOR v půdě měla navíc pozitivní efekt na zvýšení přístupnosti živin jako je Cu, Fe a Mn pro rostliny.

7 Použitá literatura

Abbas, S. H., Ismail, I. M., Mostafa, T. M., Sulaymon, A. H. 2014. Biosorption of heavy metals: a review. *Journal of Chemical Science and Technology*. 3 (4). 74-102.

Aboulroos, S. A., Helal, M. I. D., Kamel, M. M. 2006. Remediation of Pb and Cd polluted soils using in situ immobilization and phytoextraction techniques. *Soil & Sediment Contamination*. 15 (2). 199-215.

Blanc Acebal, M. 2015. Evaluation of metal sorption capacity in Dry Olive Residue. Final thesis of the International Exchange programme. Czech university of life sciences Prague, Faculty of agrobiological, food and natural resources, and Polytechnic university of Valencia, Higher technical school of agricultural engineering and environments. Prague

Adjia, R., Fezeu, W. M. L., Tchatchueng, J. B., Sorho, S., Echevarria, G., Ngassoum, M. B. 2008. Long term effect of municipal solid waste amendment on soil heavy metal content of sites used for periurban agriculture in Ngaoundere, Cameroon. *African Journal of Environmental Science and Technology*. 2 (12). 412-421.

Adriano, D. C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. 2nd ed. Springer – Verlag. New York. P. 867. ISBN: 0-387-98678-2.

Adriano, D. C., Wenzel, W. W., Vangronsveld, J., Bolan, N. S. 2004. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*. 122 (2). 121-142.

Aranda, E., Sampedro, I., Díaz, R., García-Sánchez, M., Arriagada, C. A., Ocampo, J. A., García-Romera, I. 2009. The effects of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus deserticola* on growth of tomato plants grown in the presence of olive mill residues modified by treatment with saprophytic fungi. *Symbiosis*. 47 (3). 133-140.

Aranda, E., Sampedro, I., Ocampo, J. A., García-Romera, I. 2006. Phenolic removal of olive-mill dry residues by laccase activity of white-rot fungi and its impact on tomato plant growth. *International biodeterioration & biodegradation*. 58 (3). 176-179.

Basta, N. T., McGowen, S. L. 2004. Evaluation of chemical immobilization treatments for reducing heavy metal transport in a smelter-contaminated soil. *Environmental pollution*. 127 (1). 73-82.

Bencko, V., Cikrt, M., Lener, J. 1995. *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka*. 2. přeprac. a dopl. vyd. Grada.. Praha. 282 s. ISBN 80-7169-150-X.

Boruvka, L., HuanWei, C., Kozák, J., Kristoufkova, S. (1996). Heavy contamination of soil with cadmium, lead and zinc in the alluvium of the Litavka river. *Rostlinna Vyroba*. 42 (12). 543-550.

Cao, X., Ma, L. Q. 2004. Effects of compost and phosphate on plant arsenic accumulation from soils near pressure-treated wood. *Environmental Pollution*. 132 (3). 435-442.

Dhankhar, R., Hooda, A. 2011. Fungal biosorption - an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Environmental technology*. 32 (5). 467-491.

Diagboya, P. N., Olu-Owolabi, B. I., Adebowale, K. O. 2015. Effects of time, soil organic matter, and iron oxides on the relative retention and redistribution of lead, cadmium, and copper on soils. *Environmental Science and Pollution Research*. 22 (13). 10331-10339.

Doumett, S., Lamperi, L., Checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzelli, G., Del Bubba, M. 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: influence of different complexing agents. *Chemosphere*. 72 (10). 1481-1490.

Evanko, C. R., Dzombak, D. A. 1997. *Remediation of metals-contaminated soils and groundwater*. Ground-water remediation technologies analysis center.

- Fiol, N., Villaescusa, I. 2009. Determination of sorbent point zero charge: usefulness in sorption studies. *Environmental Chemistry Letters*. 7 (1). 79-84.
- Foo, S. K., Hameed, B. H. 2010. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, 156 (1), 2-10.
- García-Sánchez, M., Paradiso, A., García-Romera, I., Aranda, E., de Pinto, M. C. 2014. Bioremediation of dry olive-mill residue removes inhibition of growth induced by this waste in tomato plants. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 11 (1). 21-32.
- Gebreyesus, S. T. 2015. Heavy Metals in Contaminated Soil: Sources & Washing through Chemical Extractants. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*. 10 (1). 54-60.
- Gray, C.W., Dunham, S.J., Dennis, P.G., Zhao, F.J., and McGrath, S.P. (2006) Field evaluation of in situ remediation of a heavy metal contaminated soil using lime and red-mud. *Environmental Pollution*. 142 (3). 530-539.
- Guo X., Zhang S., Shan X.Q., Luo L., Pei Z., Zhu Y.G., Liu T., Xie Y.N., Gault A. 2006. Characterization of Pb, Cu, and Cd adsorption on particulate organic matter in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25 (9). 2366–2373.
- Haas, C. N., Horowitz, N. D. 1986. Adsorption of cadmium to kaolinite in the presence of organic material. *Water, air, and soil pollution*, 27 (1-2). 131-140.
- Hargreaves, J. C., Adl, M. S., Warman, P. R. 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 123 (1). 1-14.
- He, Z. L., Yang, X. E., Stoffella, P. J. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 19 (2). 125-140.

Hooda, P. S. 2010. Trace elements in soils. John Wiley & Sons. Chichester. p 596. ISBN: 978-1-405-16037-7.

Houben, D., Pircar, J., Sonnet, P. 2012. Heavy metal immobilization by cost-effective amendments in a contaminated soil: effects on metal leaching and phytoavailability. *Journal of Geochemical Exploration*. 123. 87-94.

Chibuikwe, G. U., Obiora, S. C. 2014. Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *Applied and Environmental Soil Science*.

Chirenje, T., Ma, L. Q., Lu, L. 2006. Retention of Cd, Cu, Pb and Zn by wood ash, lime and fume dust. *Water, Air, & Soil Pollution*. 171 (1-4). 301-314.

ISO 11260, (1994) Standard of Soil Quality – Determination of Effective cation Exchange Capacity and Base Saturation Level Using Barium Chloride Solution. International Organization for Standardization.

Jadia, C. D., Fulekar, M. H. 2009. Phytoremediation of heavy metals: Recent techniques. *African journal of biotechnology*. 8 (6). 921-928.

Kabata-Pendias A., 2011. Trace elements in soils and plants (fourth ed). CRC Press LLC. Boca Raton. p. 534. ISBN: 978-1-4200-9368-1.

Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A. B. 2007. Trace elements from soil to human. Springer Science & Business Media. Berlin Heidelberg. p. 561. ISBN: 978-3-540-32713-4.

Kafka, Z., Punčochářová, J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. *Chemické listy*. 96 (7). 611-617.

Karak, T., Paul, R. K., Das, S., Das, D. K., Dutta, A. K., Boruah, R. K. 2015. Fate of cadmium at the soil-solution interface: a thermodynamic study as influenced by varying pH at South 24 Parganas, West Bengal, India. *Environmental monitoring and assessment*. 187 (11). 1-18.

Khan, M. J., Jones, D. L. 2008. Chemical and organic immobilization treatments for reducing phytoavailability of heavy metals in copper-mine tailings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 171 (6). 908-916.

Kubná, D. 2015. Možnosti využití kompostu při rekultivacích ploch kontaminovaných těžkými kovy. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta. Brno.

Lee, S. H., Lee, J. S., Choi, Y. J., Kim, J. G. 2009. In situ stabilization of cadmium-, lead-, and zinc-contaminated soil using various amendments. *Chemosphere*. 77 (8). 1069-1075.

Liu, C. C., Wang, M. K., Chiou, C. S., Li, Y. S., Yang, C. Y., Lin, Y. A. 2009. Biosorption of chromium, copper and zinc by wine-processing waste sludge: Single and multi-component system study. *Journal of hazardous materials*. 171 (1). 386-392.

Nordberg, G. F., Fowler, B. A., Nordberg, M., Friberg, L. T. 2007. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Academic Press. London. p. 1542. ISBN: 978-444-594532-2.

Park, J. H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., Chung, J. W. 2011. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *Journal of hazardous materials*. 185 (2). 549-574.

Poláková, Š., Kubík, L., Malý, S. 2011. *Monitoring zemědělských půd v České republice 1992-2007* Brno. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno. 117 s. ISBN: 978-80-7401-041-5.

Quevauviller, P., Ure, A., Muntau, H., Griepink, B. 1993). Improvement of analytical measurements within the BCR-programme: single and sequential extraction procedures applied to soil and sediment analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 51 (1-4). 129-134.

Ramešová, L. 2014. Optimalizace podmínek stanovení sorpčních vlastností dnových sedimentů. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze. Přírodovědecká fakulta. Praha.

Reina, R., Liers, C., Ocampo, J. A., García-Romera, I., Aranda, E. 2013. Solid state fermentation of olive mill residues by wood-and dung-dwelling Agaricomycetes: Effects on peroxidase production, biomass development and phenol phytotoxicity. *Chemosphere*. 93 (7). 1406-1412.

Rieuwerts, J. S. 2007. The mobility and bioavailability of trace metals in tropical soils: a review. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 19 (2). 75-85.

Sampedro I., Cajthaml T., Marinari S., Petruccioli M., Grego S., D'Annibale A. 2009. Organic matter transformation and detoxification in dry olive mill residue by the saprophytic fungus *Paecilomyces farinosus*. *Process Biochemistry*. 44 (2). 216–225.

Sampedro I., Marinari S., D'Annibale A., Grego S., Ocampo J. A., García-Romera I. 2007. Organic matter evolution and partial detoxification in two-phase olive mill waste colonized by white-rot fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 60 (2). 116–125.

Sáňka, M., Materna, J. 2004. Indikátory kvality zemědělské a lesní půdy ČR, *Planeta*. 11. 84 s.

Scullion, J. 2006. Remediating polluted soils. *Naturwissenschaften*. 93 (2). 51-65.

Selim, H. M. 2015. *Phosphate in Soils: Interaction with Micronutrients, Radionuclides and Heavy Metals*. CRC Press. Boca Raton. p. 381. ISBN: 978-1-4822-3680-4

Schmidt, U. 2003. Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals. *Journal of Environmental Quality*. 32 (6). 1939-1954.

Siles J.A., Pascual J., González-Menéndez V., Sampedro I., García-Romera I., Bill G.F. 2014. Short-term dynamics of culturable bacteria in a soil amended with biotransformed dry olive residue. *Systematic and Applied Microbiology*. 37 (2). 113-120.

Singh, R. P., Agrawal, M. 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. *Waste management*. 28 (2). 347-358.

Smith, S. R. 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environment international*. 35 (1). 142-156.

Tapia Y., Cala V., Eymar E., Frutos I., Gárate A., Masaguer A. 2010. Chemical characterization and evaluation of composts as organic amendments for immobilizing cadmium. *Bioresource Technology*. 101 (14). 5437–5443.

Tlustoš, P., Pavlíková, D. 2003. Možnosti redukce vstupu rizikových prvků do konzumních částí rostlin. Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí. VURV. Praha-Ruzyně. 34 s.

Tlustoš, P., Száková, J., Kořínek, K., Pavlíková, D., Hanč, A., Balík, J. 2006. The effect of liming on cadmium, lead, and zinc uptake reduction by spring wheat grown in contaminated soil. *Plant Soil Environ*, 52 (1), 16-2

Tlustoš, P., Száková, J., Šichorová, K., Pavlíková, D., Balík, J. 2007. Rizika kovů v půdě v agroekosystémech v ČR. Vědecký výbor fyto-sanitární a životního prostředí. VURV. Praha-Ruzyně. 32 s.

Trakal, L., Komárek, M., Száková, J., Tlustoš, P., Tejnecký, V., Drábek, O. 2012. Sorption behavior of Cd, Cu, Pb, and Zn and their interactions in phytoremediated soil. *International journal of phytoremediation*. 14 (8). 806-819.

Vaca, R., Lugo, J.A., Esteller, M.V., del Aguila, P. 2008. Soil organic matter quality and zinc and lead sorption as affected by a sewage sludge or a sewage sludge compost application. *Compost Science & Utilization* 16 (4). 239-249.

Vácha, R., Podlešáková, E., Poláček, O., ěmečekek, J. 2002. Immobilisation of As, Cd, Pb and Zn in agricultural soils by the use of organic and inorganic additives. *Rostlinná Výroba*. 48. 335-342.

Van Herwijnen, R., Hutchings, T. R., Al-Tabbaa, A., Moffat, A. J., Johns, M. L., Ouki, S. K. 2007. Remediation of metal contaminated soil with mineral-amended composts. *Environmental Pollution*. 150 (3). 347-354.

Violante, A., Cozzolino, V., Perelomov, L., Caporale, A. G., 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.

Walker, D. J., Clemente, R., Bernal, M. P. 2004. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere*. 57 (3). 215-224.

Walker, D.J., Bernal, M.P. 2008. The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil. *Bioresource Technology*. 99 (2). 396-403.

Wan, C., Li, Y. 2012. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances*. 30 (6). 1447-1457.

Wuana, R. A., Okieimen, F. E. 2011. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology*, 2011. p. 20.