

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Biologická fakulta**



Bakalářská diplomová práce

**Redoxní procesy železa v umělém mokřadu**

Kateřina Diáková

Vedoucí práce: RNDr. Jan Šíma, Ph.D.

České Budějovice 2007

## **Bakalářská diplomová práce**

Diáková, K. (2007): Redoxní procesy železa v umělém mokřadu (Redox processes of iron in a constructed wetland for wastewater treatment, Bc. Thesis, in Czech). Faculty of Biological Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic. 50 p.

### ANOTACE

This bachelor thesis is focused on the seasonal monitoring of individual iron oxidation states concentration ratio in a constructed wetland with horizontal subsurface flow. The ratio of Fe<sup>II</sup> and Fe<sup>III</sup> forms serves as the indicator of redox properties influencing the processes of wastewater treatment. Individual iron oxidation states were determined in the profile of the wetland (at the inflow before and after pretreatment, in the vegetation bed, at the outflow). The spectrophotometric method of iron determination with 1,10-phenanthroline was used during the study.

Tato práce vznikla v rámci projektu KJB 601410502 financovaného Grantovou agenturou Akademie věd ČR.

Prohlašuji, že jsem předloženou práci vykonala samostatně, pouze s použitím vlastních dat a citované literatury.

V Českých Budějovicích 2. května 2007

.....

## *PODĚKOVÁNÍ*

*Chtěla bych poděkovat svému školiteli Janu Šimovi především za trpělivost a ochotu při vedení mé práce, Jiřímu Duškovi za technické zázemí a poskytnutá data, Janu Lepšovi za cenné rady při statistickém zpracování dat. Děkuji také Tomáši Pickovi za odborné konzultace a Veronice Holcové za přátelské rady a zkušenosti. Vřelý dík patří mým rodičům, kteří mi po celou dobu studia byli velkou oporou a pomáhali slovem i činem v těžkých chvílích.*

# OBSAH

1. ÚVOD .....	1
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	2
2.1. Mokřady .....	2
2.2. Umělé mokřady .....	2
2.2.1. Klasifikace .....	3
2.2.2. Konstrukce .....	4
2.2.3. Procesy podílející se na odstraňování znečištění .....	5
2.2.4. Účinnost a využití .....	5
2.3. Redoxní potenciál ( <i>E</i> ) .....	6
2.4. Železo v abiotickém prostředí .....	6
2.5. Železo v rostlinách .....	8
2.5.1. Úloha železa v rostlinném těle .....	8
2.5.2. Způsoby příjmu Fe rostlinami .....	8
2.5.3. Zásobní formy železa .....	10
2.5.4. Deficit železa .....	10
2.5.5. Toxicita železa .....	11
2.6. Enzymatické a neenzymatické přeměny železa .....	11
3. METODIKA .....	13
3.1. Popis KČOV .....	13
3.2. Odběr vzorků .....	14
3.3. Analýza vzorků .....	15
3.3.1. Přístroje, činidla a reagensie .....	15
3.3.2. Popis metod .....	16
3.3.3. Charakteristiky metody podle Doškářové (2002) .....	17
3.4. Analýza dat .....	18
4. VÝSLEDKY .....	19
4.1. Optimalizace metody .....	19
4.1.1. Parametry metody .....	19
4.1.2. Charakteristiky metody .....	22
4.2. Výsledky terénního experimentu .....	23
4.2.1. Sezónní monitorování 2005 .....	23
4.2.2. Sezónní monitorování 2006 .....	26
4.2.3. Testování hypotéz .....	30
5. DISKUSE .....	32
5.1. Optimalizace metody .....	32
5.2. Oxidační a redukční schopnosti umělého mokřadu .....	33
5.3. Vliv roční doby .....	34
5.3.1. Srážky, průtoky a teploty v průběhu sezón .....	34
5.3.2. Redoxní potenciál .....	36
5.4. Změny ve vegetačním poli .....	37
5.5. Sražené formy železa .....	38
5.6. Celkové železo .....	39
5.6.1. Srážky, průtoky .....	39
5.6.2. Vymývání železa ze systému .....	41
6. ZÁVĚR .....	45
7. POUŽITÁ LITERATURA .....	47

# 1. ÚVOD

Pro mokřadní ekosystémy je charakteristická jejich schopnost čistit vodu od kontaminujících složek, zejména od organických sloučenin, suspendovaných pevných částic a částečně také od sloučenin dusíku a fosforu. V zaplavených systémech s vegetací obecně dochází k aeraci jinak silně redukčního prostředí vlivem kořenů rostlin. Dochází tak ke střídání oxidačních a redukčních zón a k tvorbě gradientů redoxního potenciálu. Tím jsou poskytnuty podmínky pro širokou škálu biologických, chemických a fyzikálních dějů, které jsou nezbytné pro správnou funkci umělého mokřadu při čištění odpadních vod. Znalost oxidačně redukčních vlastností má hlavní význam při studiu umělého mokřadu. Jako měřítko redoxních vlastností obvykle slouží redoxní potenciál ( $E$ ). Indikátorem však může být také zastoupení jednotlivých oxidačních stavů vhodně zvoleného redoxního systému. Z praktického hlediska je velice výhodný systém  $\text{Fe}^{\text{III}}/\text{Fe}^{\text{II}}$ . Informace získané touto cestou jsou komplexnější než naměřené hodnoty  $E$ , neboť nejsou omezeny pouze na tenkou vrstvu v těsné blízkosti indikační elektrody.

## Cíle práce

- určení základních charakteristik metody stanovení  $\text{Fe}^{2+}$  s 1,10-fenantrolinem
- sezónní monitorování zastoupení oxidačních stavů železa v umělém mokřadu po dobu 2 sezón (otestovat redoxní vlastnosti umělého mokřadu)

Stanovení hypotéz:

1. V příčném řezu vegetačním polem vedeném ve vzdálenosti 1m od nátoky je větší zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v %) ve srovnání s příčným řezem vedeným ve vzdálenosti 10 m.
2. Ve třech podélných řezech vedených vegetačním polem od nátoky k odtoku (levém, středním a pravém transektu) se mění zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v%) stejným způsobem.
3. V odběrových místech v hloubce 60 cm je více zastoupeno  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v %) než v hloubce 20 cm.
4. Změny v zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  a  $\text{Fe}^{\text{III}}$  jsou závislé na ročním období.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Mokřady

Mokřadní ekosystémy tvoří přirozený přechod (ekoton) mezi suchozemskými a vodními ekosystémy (Gopal a kol. 1990) a jsou rozšířeny v různých formách na všech kontinentech kromě Antarktidy, od tropů po tundry (Mitsch, Gosselink 2000). Probíhají v nich velmi specifické fyzikální, chemické i biologické děje, nevlastní jak terestrickým, tak aquatickým systémům (kap. 2.1.4.). V historii naší civilizace byly dlouho považovány za bezcenná a spíše problematická místa. Lidé jich zneužívali jako recipientů odpadních vod a odstraňovali je z krajiny vedení mimo jiné mylným strachem z chorob pramenících z močálů. V průběhu několika posledních desetiletí však lidstvo začalo znovu poznávat význam těchto lokalit v krajině. Jsou nárazníkem či vyrovnávacím článkem mezi extrémními suchy a jednorázovými povodněmi, díky svým čistícím schopnostem bývají nazývány „ledvinami krajiny“ (Mitsch, Gosselink 2000) a poskytují jedinečné prostředí pro mnoho druhů rostlin a živočichů. Vyvrcholením úsilí o ochranu mokřadů v krajině se stala mezinárodní Ramsarská úmluva (*Úmluva o mokřadech majících mezinárodní význam především jako biotopy vodního ptactva*), podepsaná v roce 1971, která má v současné době již 138 smluvních stran, mezi nimi i ČR.

Definovat takto různorodou skupinu je velmi obtížné. Proto se do jisté míry liší definice právní a vědecké. Ekologická definice ustanovená v dokumentu Ramsarské úmluvy (Finlayson, Moser 1991) zahrnuje nejširší spektrum biotopů, neboť zohledňuje všechna stanoviště migrujících ptáků (Scott, Jones 1995):

*Mokřiny, slatiny, rašeliniště a území pokrytá vodou, ať přirozená nebo uměle vytvořená, stálá či dočasná, s vodou stojatou i tekoucí, sladkou, brakickou nebo slanou, zahrnující také mořské oblasti, kde hloubka při odlivu nepřesahuje 6 m.*

### 2.2. Umělé mokřady

Umělé mokřady jsou definovány jako uměle vytvořený komplex zvodnělého nebo mělce zaplaveného zemního lože, emerzní, submerzní nebo plovoucí vegetace, živočichů a vody, který napodobuje přirozené mokřady pro praktické využití (Hammer, Bastian 1989).

V současnosti jsou budovány pro následující účely (Kadlec, Knight 1996):

- náhrada za odvodněné přirozené mokřady, které byly převedeny na zemědělskou půdu
- čištění odpadních vod a zlepšení kvality vody
- protipovodňová ochrana
- pěstování rychle rostoucích mokřadních dřevin

Vzhledem k tomu, že je tato práce založena na výsledcích získaných analýzou vzorků z umělého mokřadu pro odstraňování znečištění z odpadní vody, budu se dále zabývat touto kategorií.

Přirozené mokřady byly zneužívány jako recipienty odpadní vody, a tím docházelo k jejich poškození a degradaci. V umělých mokřadech se využívá přirozených procesů probíhajících v mokřadech, avšak v ohraničeném prostoru za známých podmínek. Mají definovaný přítok a odtok a nedochází zde ke vsakování ani vstupu spodní vody do systému. Můžeme tedy daleko podrobněji a přesněji sledovat děje a přeměny v rámci systému.

### **2.2.1. Klasifikace**

Podle vegetace, kterou je vegetační pole osázeno, můžeme umělé mokřady rozdělit do tří skupin (Vymazal 1995):

- mokřady s plovoucími rostlinami
- mokřady s ponořenými (submerzními) rostlinami
- mokřady s vynořenými (emerzními) rostlinami

Mokřady s emerzními rostlinami jsou nejvhodnější k přímému čištění odpadních vod a je možné je vybudovat v několika variantách:

- s povrchovým tokem
- s podpovrchovým horizontálním tokem
- s podpovrchovým vertikálním tokem

Kořenové čistírny odpadních vod (dále jen KČOV) v České republice využívají podpovrchového horizontálního toku (Vymazal 1995). Na jedné z nich byly v průběhu této práce odebírány vzorky pro analýzu, proto i další text popisuje právě tuto variantu.

### 2.2.2. Konstrukce

Samotnému průtoku odpadní vody vegetačním polem předchází mechanické předčištění, které zahrnuje podle velikosti zdroje buď jen septik či domovní anaerobní filtr (v případě domovních čistíren) nebo česle a šterbinové nádrže (pro větší zdroje – obce, podniky). Pokud je na KČOV přiváděna voda z jednotné obecní kanalizace (splašky + dešťové splachy), je vhodné zařadit lapač písku. Pro případ velkých srážek se budují dešťové odlehčovače, které při příliš velkých průtocích odvádějí velmi zředěnou vodu z kanalizace do přirozeného vodního toku nebo do dočišťovacích nádrží, aby nedošlo k přeplavení vegetačních polí a narušení rovnováhy procesů.

Další stupeň čištění probíhá ve vegetačních polích. Velmi výhodným uspořádáním jsou alespoň dvě paralelní plochy. Voda je rovnoměrně rozdělována do jednotlivých polí a při výpadku jednoho z nich zůstává další v provozu. Při čištění splaškových vod se počítá s jednotkovou plochou  $5 \text{ m}^2 \text{ EO}^{-1}$  (EO – ekvivalentní obyvatel). Filtrační lože je vyplněno substrátem, který musí mít dostatečnou hydraulickou vodivost, aby nedocházelo k ucpávání a povrchovému odtoku, a musí umožnit růst mokřadní vegetace. Vegetační pole se ve středoevropských podmínkách osazují původní mokřadní vegetací, která tvoří buď jednodruhový porost nebo se cíleně kombinuje více druhů. Nejčastěji jsou využívány tyto rostliny (Vymazal 1995):

- rákos obecný (*Phragmites australis*)
- chrastice rákosovitá (*Phalaris arundinacea*)
- zblochan vodní (*Glyceria maxima*)
- orobinec (*Typha sp.*)
- sítina (*Juncus sp.*), skřípinec jezerní (*Scirpus lacustris*), kosatec (*Iris sp.*), kyprej vrbice (*Lythrum salicaria*) - v menších čistírnách současně jako okrasné druhy



### 2.2.3. Procesy podílející se na odstraňování znečištění

Hlavní charakteristikou mokřadů je trvalé zaplavení. Substrát je izolován vodou od atmosférického kyslíku, čímž se v systému ustavují redukční podmínky. Omezený vstup kyslíku do zatopené zóny je však zprostředkováván kořeny rostlin, takže dochází ke střídání zón s oxidačními a redukčními vlastnostmi (Armstrong a kol. 1990, Armstrong a kol. 1991, Brix 1993). To umožňuje velkou rozmanitost změn a procesů v systému.

V umělých mokřadech vládou podobné podmínky, proto zde dochází ke stejným dějům jako v přirozených mokřadech. Procesy důležité pro čištění odpadních vod lze rozdělit do tří kategorií (Stowell a kol. 1981):

- ❖ fyzikální (sedimentace, filtrace, adsorpce, těkání)
- ❖ chemické (srážení, adsorpce, rozklad)
- ❖ biologické (bakteriální metabolismus, rostlinný metabolismus, rostlinná absorpce, přirozený úhyn)

### 2.2.4. Účinnost a využití

KČOV jsou v našich podmínkách stavěny především za účelem odstraňování organického znečištění a nerozpustných látek z odpadních vod z malých obcí nebo samostatných obydlí. Míra organického znečištění se uvádí jako BSK<sub>5</sub> (biochemická spotřeba kyslíku za pět dní) nebo CHSK<sub>Cr</sub> (chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanovou metodou) (Pitter 1999). Účinnost odstraňování organických a nerozpustných látek je nejvyšší vždy hned po kontaktu vody se substrátem. Proto je důležitým parametrem vegetačního pole poměr délka/šířka, který by se měl pohybovat v rozmezí 0,4 – 3 (Reed 1993). Účinnost odstraňování fosforu a dusíku je nižší, po splnění požadavku velikosti plochy pro 1 EO však bývají na odtoku splněny limity pro maximální obsah nutrientů ve vodách vypouštěných do přírodních recipientů. V KČOV Slavošovice byla stanovena účinnost odstraňování organického znečištění (vyjádřeného jako BSK<sub>5</sub>) 83%, celkového dusíku 68% a fosforu 74% (Zemanová 2005).

Výhodou kořenových čistíren je schopnost čistit i odpadní vodu s nízkou koncentrací znečišťujících látek. Proto jsou vhodné pro malé obce s jednotnou kanalizací nebo jako stupeň dočištění po jiných technologiích (Vymazal 1995). Díky tomu, že existence mokřadu není závislá na přítékání odpadní vody, je tento způsob odstraňování znečištění z vody vhodný i pro občasně využívané objekty, jako jsou

například rekreační chaty nebo letní tábory. Ve světě se KČOV používají i pro větší zemědělské provozy (jarka a výroby masa, mlékárny, bodové zdroje znečištění ze zemědělství), pro papírny, pro úpravu vody z odvodněných důlních děl nebo pro průsaky ze skládek pevného odpadu (Vymazal 1995).

### 2.3. Redoxní potenciál ( $E$ )

Redoxní potenciál ( $E$ ) je jednou z fyzikálně-chemických vlastností vody. Využívá se pro vyjádření schopnosti prostředí přijmout nebo poskytnout elektrony. Aerobní prostředí je charakterizováno nejvyššími hodnotami ( $E$ ), přítomný kyslík se zde nejnáze stává akceptorem elektronů (Schlesinger 1997). Oxidačně-redukční potenciál se určuje jako rovnovážný potenciál indikační elektrody z ušlechtilého kovu (Pt, Au) vztažený obvykle ke standardní vodíkové elektrodě.

Některé prvky (např. Fe, Mn, Cr, As, N, S) se vyskytují ve vodách v různém oxidačním stupni, s čímž souvisí i jejich rozdílné chemické a biologické vlastnosti a mobilita v prostředí.  $E$  slouží i k odhadu poměrného zastoupení jednotlivých oxidačních stupňů daného prvku ve vodě (Pitter 1999). Při nízkých koncentracích rozpuštěného kyslíku přestává být kyslík dominantním akceptorem elektronů a  $E$  je určován dalšími oxidačně redukčními systémy. S klesajícími hodnotami redoxního potenciálu dochází po řadě k redukci  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Mn}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , a pokud už není dostupný žádný z těchto akceptorů, dochází k redukci  $\text{CO}_2$ , resp. k methanogenezi (viz kap. 5.5., *Tabulka 8*). Hodnoty  $E$  příslušející jednotlivým dějům závisí na pH vody (v literatuře se uvádějí při pH = 7). Mezi různými autory se tyto údaje značně liší. Například pro redukci  $\text{Fe}^{\text{III}}$  uvádí Killham (1994)  $E = -180$  mV, Brümmer (1974)  $E = -50 - +150$  mV, Lovley (1995)  $E < -47$  mV, Rajchard a kol. (2002) dokonce  $E = +760$  mV. Nejvíce autorů se shoduje na rozmezí  $E = -100 - +100$  mV (Mitsch, Gosselink 2000; Vymazal 1998, Rowell 1981). Redukce železa představuje přechod od mírně aerobních k silně redukčním podmínkám (Lovley 1995).

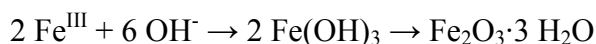
### 2.4. Železo v abiotickém prostředí

Železo je nejhojnějším prvkem v látkovém složení Země, tvoří 35 % její hmotnosti. Jako těžký prvek je nejvíce koncentrováno v jádru Země a zemská kůra obsahuje jen 6 %, čímž se železo posouvá až na 4. místo v pořadí – za kyslík, křemík a hliník

(Schlessinger 1995). Nejrozšířenější železnou rudou je pyrit  $\text{FeS}_2$ , následuje krevel  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , magnetovec  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , hnědel  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  a siderit  $\text{FeCO}_3$ . Železo je také součástí hlinitokřemičitých minerálů – např. olivínu, pyroxenu nebo biotitu.

Na rozhraní litosféry a hydrosféry dochází k látkové výměně mezi pevnou a kapalnou fází a tak je voda obohacována minerálními látkami. Formy rozpuštěného a nerozpuštěného železa ve vodách závisejí na pH, redoxním potenciálu a přítomnosti komplexotvorných látek. V přírodních vodách obsahujících rozpuštěný kyslík je  $\text{Fe}^{\text{III}}$  nejstabilnější oxidační formou. Rozpustnost železa v aerobních podmínkách je dána rozpustností hydratovaného oxidu železitého. V bezkyslíkatém redukčním prostředí podzemních vod a u dna povrchových nádrží a jezer se železo vyskytuje ve formě  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Rozpustnost  $\text{Fe}^{\text{II}}$  je limitována rozpustností  $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ,  $\text{FeCO}_3$  a  $\text{FeS}$  v závislosti na celkovém složení vody (Pitter 1981). Obsah železa v povrchových a prostých podzemních vodách je hygienicky nevýznamný. Ovlivňuje však jejich senzoričké vlastnosti (Pitter 1981). Limity pro obsah železa v pitné vodě jsou stanoveny směrnici ČSN 75 7111 z roku 1991.

Srážková, povrchová i podzemní voda se stává součástí půdy, působí zde jako rozpouštědlo řady anorganických i organických látek a vytváří tzv. půdní roztok (pórovou vodu). Vznik půdy je souborem fyzikálních, chemických a biologických vlivů narušujících matečnou horninu. Původní hornina je obvykle dostatečně velkým zásobníkem železa, které je však pro živé organismy nevyužitelné, neboť železem bohaté minerály jsou většinou nerozpustné. Navíc volné ionty železa a jiných kovů (Zn, Mn, Cu) reagují zejména při  $\text{pH} > 5$  a v aerobních podmínkách s  $\text{OH}^-$  ionty za vzniku nerozpustných hydratovaných oxidů (Šetlík a kol. 2007):



Do půdního roztoku mohou být takto vázané kovy (především Fe a Al) převedeny procesem chelatizace. Chelatační činidla jsou organické látky, které obsahují negativně nabitě karboxylové skupiny nebo nukleofilní dusíkaté skupiny v takovém prostorovém uspořádání, že mohou vytvořit s kovovým iontem koordinační komplex (Šetlík a kol. 2007). Podle původu je lze dělit do následujících skupin (Schlesinger 1997):

- exudáty rostlinných kořenů – jednoduché organické kyseliny (octová, citronová), fenolické sloučeniny, fyto siderofory

- mikrobiální produkty – fulvové a huminové kyseliny, taniny
- exudáty hub – kyselina šťavelová
- syntetická chelatační činidla – EDTA (kyselina ethylen-diamin-tetraoctová)

V kyselém prostředí probíhá chelatizace snáze. Vyšší koncentrace  $H^+$  urychluje výměnu iontů mezi půdními částicemi a chelatačními činidly, resp. ionty kovů jsou s vyšší intenzitou vytěsňovány ze svých pevných vazeb v krystalické mřížce minerálů vodíkovými ionty.

## 2.5. Železo v rostlinách

Železo je nezbytnou součástí výživy všech rostlin. Rostlina ho však potřebuje jen velmi malé množství. Obsah železa v sušině se udává 100 ppm = 100  $\mu\text{g/g}$  (Šetlík a kol. 2007). Proto je řazeno mezi mikroprvky – mikroelementy.

### 2.5.1. Úloha železa v rostlinném těle

Přestože rostlina přijímá jen stopové množství železa, hraje tento prvek v jejím metabolismu nezastupitelnou roli. Je součástí mnoha látek s důležitou funkcí v životních dějích rostliny (například energetický metabolismus, fotosyntéza, dýchací řetězec, aj.). Tyto látky lze rozdělit do následujících skupin (Marschner 1995):

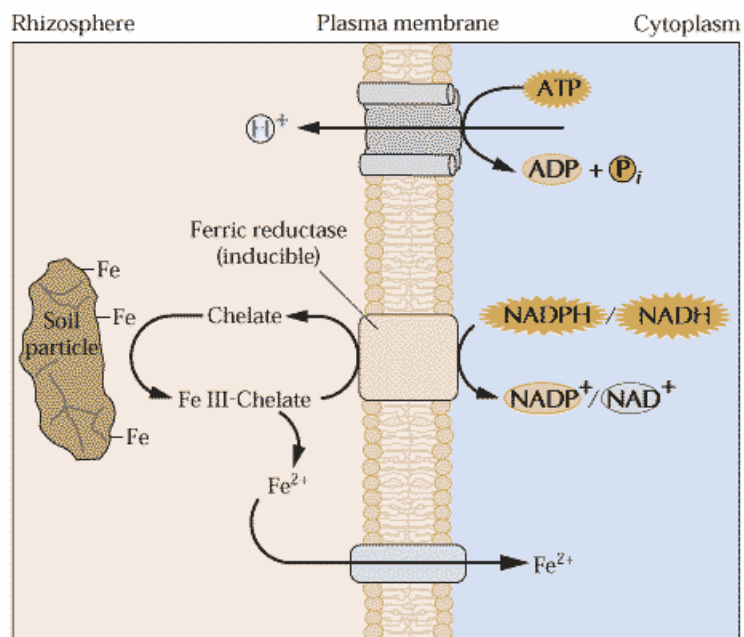
- ◇ skupina hemových proteinů (př. cytochromy – součást redoxního systému v chloroplastech a mitochondriích)
- ◇ Fe-S proteiny (př. ferredoxin – přenašeč elektronů v metabolických procesech)
- ◇ účast na syntéze chlorofylu

### 2.5.2. Způsoby příjmu Fe rostlinami

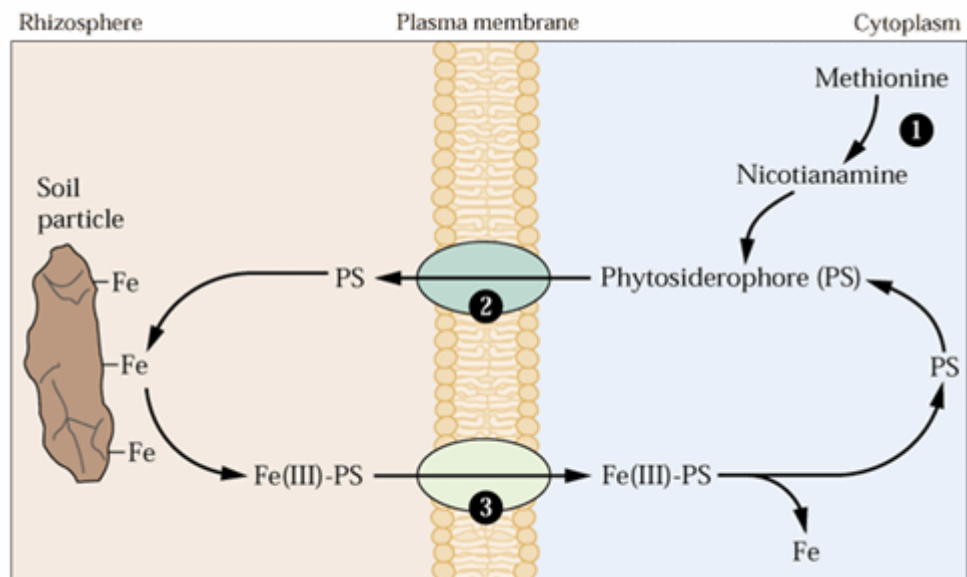
Kořeny rostlin přijímají železo přednostně ve formě  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Dále je transportováno xylémem formou  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -komplexů (Marschner 1995). Zabudování železa do makromolekul v cílové buňce potom opět předchází redukce  $\text{Fe}^{\text{III}}$  na  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (Procházka a kol. 1998).

Proto se u rostlin vyvinulo několik způsobů, jak železo uvolnit ze substrátu ve využitelné formě. Podle fyziologické odpovědi můžeme dělit rostliny do dvou kategorií (Marschner 1995, Romheld 1987).

- Strategie I je typická pro rostliny jednoděložné kromě čeledi *Graminae* (*Poaceae*) a všechny dvouděložné. Rostliny vylučují kořeny chelatační fenolické látky, které naruší pevnou vazbu  $\text{Fe}^{\text{III}}$  se substrátem a vytvoří komplex chelát- $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Tím převedou  $\text{Fe}^{\text{III}}$  do rozpustné formy. Reduktáza zabudovaná v cytoplazmatické membráně odštěpí z chelátu  $\text{Fe}^{\text{III}}$ , které je v kyselém prostředí rhizodermis (způsobeném činností ATPázy) ihned redukováno na  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Následně je tento ion přenesen proti vodíkovému gradientu transportérem nebo kanálem pro  $\text{Fe}^{\text{II}}$  přes plasmatickou membránu do cytoplasmy (Obrázek 1).
- Strategie II je spojena s čeledí *Graminae* (*Poaceae*). Tyto rostliny vylučují ze svých kořenů do rhizosféry neproteinogenní aminokyseliny, tzv. fyto siderofory (PS). Tyto látky uvolňují železo z pevného substrátu a vážou ho do vlastního komplexu ve formě  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Tyto komplexy jsou potom celé přenášeny přes membránu do cytoplasmy, kde dojde k uvolnění iontu z komplexu a následnému transportu  $\text{Fe}^{\text{III}}$  (Kraemer 2006) (Obrázek 2).



Obrázek 1: Strategie I - model zpřístupnění železa rostlinami jednoděložnými kromě čeledi *Graminae* (*Poaceae*) a dvouděložnými (převzato z Buchananana 2000).



*Obrázek 2: Strategie II - model zpřístupnění železa rostlinami z čeledi Graminae (Poaceae). 1 – syntéza PS, 2 a 3 – přenos PS a komplexu PS-Fe<sup>III</sup> přes plazmatickou membránu membránovým přenašečem (převzato z Buchanan 2000).*

### 2.5.3. Zásobní formy železa

Pokud je v okolí kořenů nadbytek volného železa, mohou se rostliny vyhnout jeho škodlivým vlivům tím, že ukládají tento prvek v zásobní formě - fytoferritinu (Stephan 2002) do stromatu plastidů (Marschner 1995). Fytoferritin se skládá z proteinového obalu a vnitřní krystalické anorganické struktury definované vzorcem  $(\text{FeO}\cdot\text{OH})_8\cdot(\text{FeO}\cdot\text{OPO}_3\text{H}_2)$ . Fytoferritin obsahuje až 23% železa v sušině, v jedné molekule může být vázáno až 5000 iontů Fe<sup>III</sup> (Seckbach 1982). Největší obsah fytoferritinu byl prokázán v etiolovaných částech rostliny a po osvětlení a zazelenání se jeho obsah rapidně snížil (Mark a kol. 1981).

### 2.5.4. Deficit železa

Nedostatečný přísun železa způsobuje v listech inhibici vývoje chloroplastů a projevuje se chlorózou (bílé či žluté listy se zelenými žilkami). Rostliny v těchto podmínkách vytváří jako fyziologickou odpověď specializované rhizodermální buňky s funkcí přenosu tohoto prvku a tím zvyšují množství přijatého železa. Tyto struktury při pomnutí nedostatku železa do dvou dnů opět zanikají (Marschner 1995).

### 2.5.5. Toxicita železa

V zatopených půdách většinou naopak rostliny čelí přebytku fyziologicky dostupného železa, což může působit toxicky. Rostliny se brání příjmu nežádoucího množství  $\text{Fe}^{\text{II}}$  prokysličením tenké vrstvy na povrchu kořenů (Armstrong 1969). Následně dochází k tvorbě zrněk sraženiny  $\text{Fe}(\text{OOH})_x$ , přičemž hlavní roli v tvorbě takového povlaku hraje mikrobiální oxidace (Trolldenier 1988). Rostliny se tím v zatopeném prostředí brání toxicitě železa způsobené jeho nadměrnou koncentrací. Weiss a kol. (2005) však na příkladu *Juncus effusus* ukazuje, že při vzniku vrstvy oxidovaného železa na povrchu kořenů je tato vrstva stejnou rychlostí redukována, tedy rychleji než v okolním roztoku mimo kořeny.

## 2.6. Enzymatické a neenzymatické přeměny železa

Přeměny železa v půdních systémech můžeme podle změny oxidačního čísla dělit na oxidaci a redukcí. Oba procesy mohou probíhat jak abiotickou (neenzymatickou), tak biotickou (enzymatickou) cestou. Za přístupu vzduchu se  $\text{Fe}^{\text{II}}$  samovolně oxiduje (Paul, Clark 1996), za anaerobních podmínek dochází k chemické redukcí  $\text{Fe}^{\text{III}}$  (Lovley 1991). Tyto děje však využívají i mikroorganismy ve svých metabolických drahách. Vyvinuly množství životních strategií jako přizpůsobení mnohdy extrémním podmínkám a přeměňují kovy za různými účely.

Mikroorganismy mohou  $\text{Fe}^{\text{II}}$  oxidovat za přístupu i nepřístupu vzduchu. Lithotrofní mikroorganismy využívají  $\text{Fe}^{\text{II}}$  jako zdroj energie. V aerobním prostředí jim slouží jako akceptor elektronů  $\text{O}_2$  (*Sulfolobus*), v anaerobním  $\text{CO}_2$  (*Gallionella sp.*). Bakterie rodů *Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Crenothrix* hromadí oxidované železo ve svých pouzdrech jako ochranu před vysokou koncentrací rozpustného železa v okolí (Paul, Clark 1996).

Redukce  $\text{Fe}^{\text{III}}$  byla možná jedním z prvních mechanismů při vývoji života na Zemi, který umožňoval rozklad složitějších organických látek za nepřítomnosti  $\text{O}_2$ . V současnosti bylo prokázáno, že enzymatická redukce  $\text{Fe}^{\text{III}}$  za účelem disimilace je zodpovědná za převažující podíl redukce  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v zatopených sedimentech. Opět existuje mnoho různých metabolických cest využívajících tohoto děje (Lovley 1991). *Escherichia coli*, *Clostridium pasteurianum*, *Lactobacillus lactis* aj. v anaerobním prostředí využívají  $\text{Fe}^{\text{III}}$  jako akceptor elektronů při fermentaci glukózy (Lovley 1991), byly však popsány i druhy využívající této cesty v aerobních podmínkách (De Castro,

Ehrlich 1970). V anaerobních podmínkách jsou využívány i další zdroje elektronů, jako například elementární síra (*Thiobacillus ferrooxidans*),  $H_2$  (*Pseudomonas sp.*, *Shewanella putrefaciens*), jednoduché organické kyseliny (*S. putrefaciens*) (Lovley 1991),  $NH_4^+$  (Clément a kol. 2005) nebo aromatické sloučeniny (*Geobacter metallireducens* kmen GS-15) (Jones a kol. 2006). Tyto reakce jsou doprovázeny okyselením prostředí, neboť jedním z produktů je vždy  $H^+$ . Okyselení následně podporuje chelatizaci (kap. 2.4.), která může být rostlinám prospěšná (při nedostatku využitelného železa – kap. 2.5.5.), či škodlivá (při vysokém obsahu přístupného železa v půdě – kap. 2.5.4.). Jiné mikroorganismy stimulují redukci  $Fe^{III}$  svými exudáty. Bakterie mohou produkovat siderofory se stejnou funkcí a podobnou strukturou jako rostlinné fytosiderofory (kap. 2.5.2.), některé vypouštějí do okolí formiát nebo  $H_2S$  (*Pseudomonas*, *Desulfovibrio*). Redukovat  $Fe^{III}$  mohou i některé houby (*Alternaria*, *Fusarium*) (Paul, Clark 1996).

Schopnost bakterií redukovat  $Fe^{III}$  byla navržena jako technologie získávání železa z rud, dále byla využita k odstranění zkorodované vrstvy z povrchu ocelových objektů, k odstranění železitých nečistot z kaolinu, degradaci některých pesticidů nebo při regulaci obsahu železa na rýžových polích (Lovley 1991).

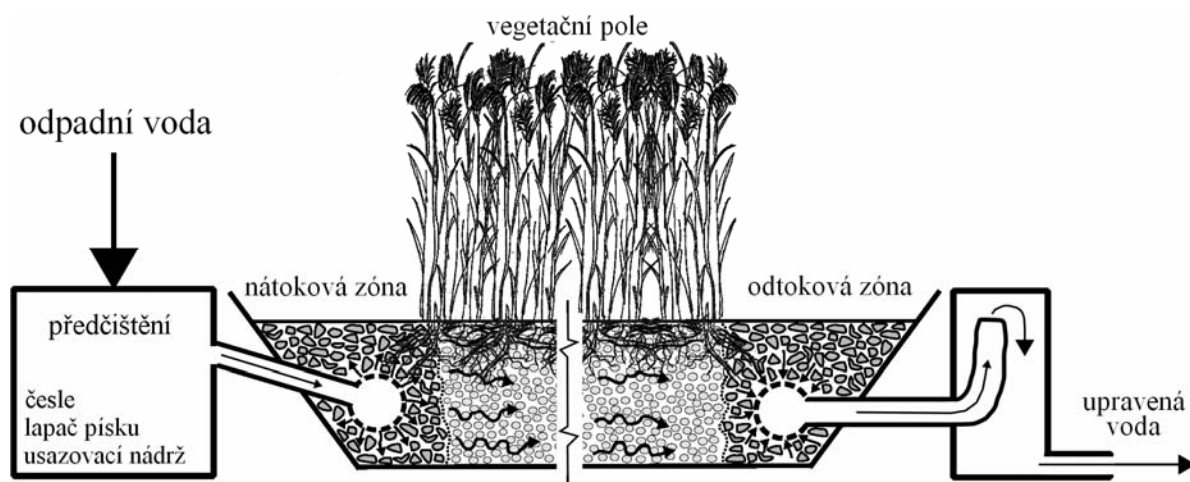
Mikroorganismy svými metabolickými ději významně zasahují do biogeochemických cyklů prvků a jsou důležitou křížovatkou na cestě živin od minerálů po zabudování do biomasy.



### 3. METODIKA

#### 3.1. Popis KČOV

Studovaným ekosystémem byl umělý mokřad s horizontálním podpovrchovým tokem nalézající se poblíž obce Slavošovice ve vzdálenosti 15 km východně od Českých Budějovic v nadmořské výšce 480 m n. m. Tato kořenová čistírna odpadních vod (dále jen KČOV) byla uvedena do provozu v létě roku 2001. Je opatřena dešťovým odlehčovacím objektem, za ním následuje předčištění ve formě česlí, horizontálního lapače písku a usazovací štěrbinové nádrže. Odtud je voda rozvedena rovnoměrně do obou vegetačních polí (Obrázek 3) a odtékající voda je odváděna do blízkého vodního toku.

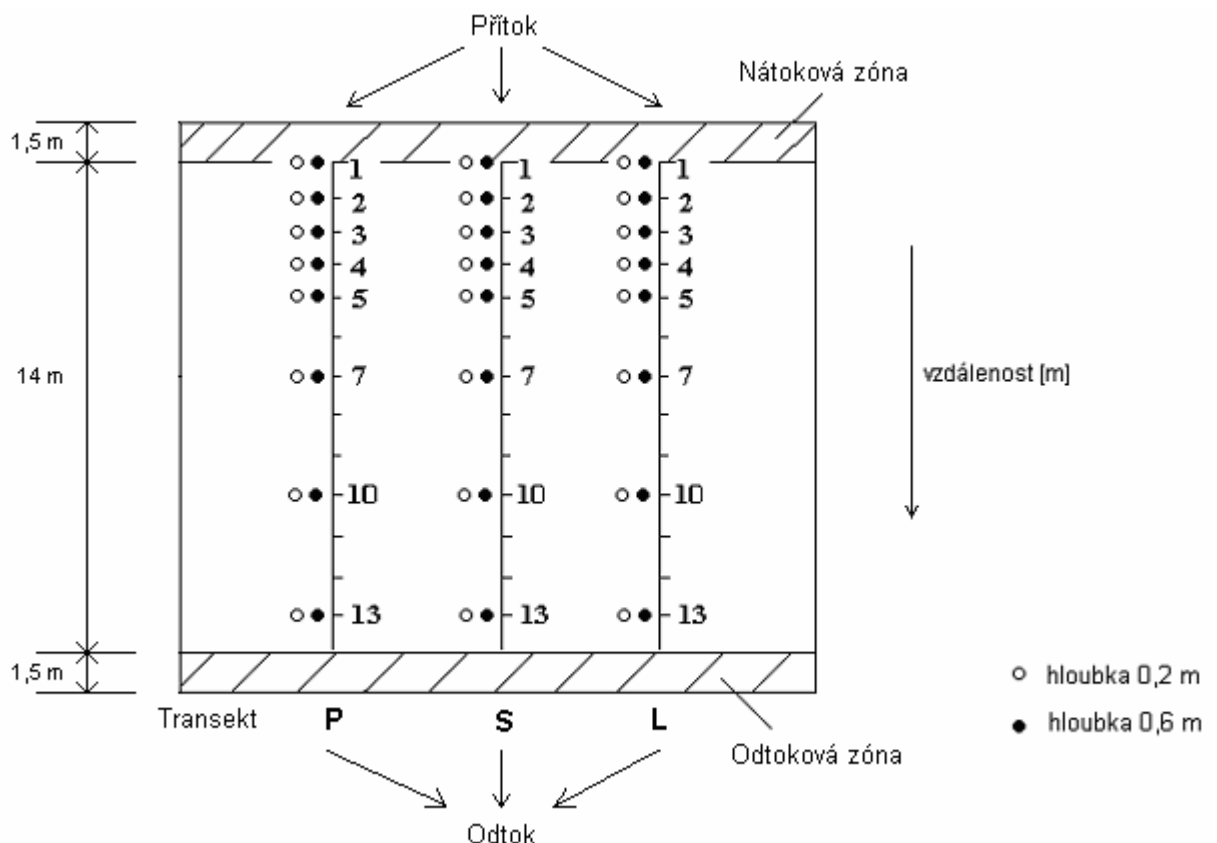


Obrázek 3: Schéma KČOV s podpovrchovým horizontálním tokem

K úpravě vody z jednotné obecní kanalizace zde dochází ve dvou paralelně řazených vegetačních polích osazených rákosem obecným (*Phragmites australis*). Délka obou vegetačních polí představuje 17 m, šířka 22 m, hloubka 0,9 m a sklon dna činí 1 %. Lože vegetačních polí je izolováno od okolí přírodní vrstvou jílu a vyplněno v nátokové a odtokové zóně hrubým kamenivem (5 - 10 cm), v hlavní části jemnějším štěrskem (1 – 2 cm). KČOV byla projektována pro 150 EO (ekvivalentních obyvatel) s plochou 5 m<sup>2</sup> na 1 EO. V současnosti se pohybuje počet skutečně připojených obyvatel přibližně v rozmezí 60-80 EO. Průměrná doba zdržení vody v umělém mokřadu (retenční čas) je 9,8 dne.

### 3.2. Odběr vzorků

Odpadní voda byla vzorkována na přítoku do KČOV (P) – před předčištěním, v nátokové zóně (NZ) – po předčištění, z vybraných míst pravého vegetačního pole a na odtoku z KČOV (ODT). Schéma odběrových míst ve vegetačním poli je znázorněno na Obrázku 4. Během roku 2005 byly vzorky odebírány z míst středního transektu ve vzdálenosti 1, 2, 3, 5 a 10 m od nátoku (místa v nátokové zóně, kde je pod povrchem vegetačního pole umístěna perforovaná trubka, která rozvádí předčištěnou odpadní vodu), a to desetkrát za sezónu – od 30.3.2005 do 15.11.2005. V roce 2006 proběhlo 8 odběrů. 13.4.2006 byly vzorky odebrány ze stejných míst jako v minulé sezóně. Při zbylých sedmi odběrech, které byly prováděny přibližně po měsíci v rozmezí 5.5. - 14.11.2006, byly odebrány vzorky z každého transektu ve vzdálenosti 1 a 10 m od nátoku. Pokaždé byly ze všech míst vegetačního pole odebrány vzorky z hloubky 20 cm a 60 cm pod povrchem šterkového lože.



*Obrázek 4: Schematické znázornění vegetačního pole s vyznačenými transektu a odběrovými místy (upraveno z originálu obrázku převzatého z magisterské práce Veroniky Holcové 2007).*

V průběhu vzorkování odpadní vody i přechovávání vzorků byl minimalizován kontakt s okolní atmosférou, aby se zabránilo případné oxidaci  $\text{Fe}^{\text{II}}$  vzdušným kyslíkem. Vzorkovaná voda byla během odběru filtrována přes analytické sítko o průměru oka 0,1 mm. Takto definovaný postup zaručoval odstranění mechanických nečistot velkých rozměrů ze vzorku (zbytky odumřelé mokřadní vegetace), avšak v analyzovaných vzorcích zůstávala přítomna jemná sraženina obsahující nerozpustné formy železa ( $\text{FeS}$ , hydratovaný  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Voda byla vzorkována do plastových lahvíček, každá byla vždy kompletně zaplněna vodou až po zátku a ihned po naplnění vzorkem důkladně uzavřena. V laboratoři byly vzorky zpracovávány co nejdříve po odběru, pokud bylo potřeba přechovávat je delší dobu, byly uloženy v mrazicím boxu.

### **3.3. Analýza vzorků**

#### **3.3.1. Přístroje, činidla a reagenty**

Pro stanovení železa byl používán spektrofotometr Jenway 6300 (Jenway Ltd., Felsted, Essex, Velká Británie) vybavený skleněnou kyvetou o optické délce 10,0 mm. Absorbance byla měřena při vlnové délce 510,0 nm. Kontrolní stanovení železa bylo provedeno pomocí voltametrického analyzátoru Eco-Tribo Polarograph (Polaro-Sensors, Praha) s visící rtuťovou kapkovou pracovní elektrodou, kalomelovou referenční elektrodou (3,0 mol/l KCl) a platinovou pomocnou elektrodou. Deionizovaná voda byla připravována pomocí zařízení Milli-Q<sup>®</sup> Gradient A 10 systém (Millipore, Billerica, USA). Při odběru byla odpadní voda filtrována přes analytické sítko o velikosti oka 0,1 mm (Retsch<sup>®</sup>, Haan, SRN). Celkové rozpuštěné železo bylo stanovováno ve vzorcích přefiltrovaných přes filtr ze skleněných mikrovláken o porozitě 0,40  $\mu\text{m}$  (Machery Nagel MN GF 5, 47 mm).

Při práci byly používány chemikálie čistoty p.a. nebo vyšší. Jako zásobní standardní roztok železa (o koncentraci 1000 mg/l) sloužil standardní roztok Certipur<sup>®</sup> (Merck, Darmstadt, SRN) připravený z  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ . Jako činidlo pro spektrofotometrická stanovení byl používán roztok monohydrátu 1,10-fenantrolinu (Lach-Ner, Neratovice) získaný rozpuštěním 0,50 g činidla v deionizované vodě okyselené 2 kapkami HCl a doplněním na 100,0 ml. Redukčním činidlem byl roztok hydroxylaminhydrochloridu (Penta, Chrudim) o koncentraci 100 g/l. HCl (Lach-Ner, Neratovice) zředěná 1:9 deionizovanou vodou byla přidávána ke vzorkům za účelem předúpravy vzorku. Octanový tlumivý roztok byl připravován z 200 g octanu amonného a 250 ml kyseliny

octové (Lach-Ner, Neratovice) doplněním na 500 ml. Při voltametrickém stanovení sloužily jako pracovní elektrolyty 0,1 mol/l roztok šřavelanu amonného (Lach-Ner, Neratovice) a 0,1 mol/l roztok  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ . Pro určení správnosti spektrofotometrické metody porovnáním s referenčním materiálem byl použit certifikovaný referenční materiál BCR-715 na bázi průmyslové odpadní vody (European commission, Joint research centre, Institute for reference materials and measurements, Geel, Belgie).

### 3.3.2. Popis metod

Pro stanovení železa a speciaci jeho oxidačních stavů byla používána modifikovaná spektrometrická metoda s 1,10-fenantrolinem. Za vzor sloužila česká norma ČSN ISO 6332 (75 7433):1995. Podstatou této metody je tvorba intenzivně oranžově až červeně zbarveného komplexu  $\text{Fe}^{\text{II}}$  s používaným činidlem. Celkové železo (rozpuštěné i nerozpustné formy) bylo stanovováno po převedení nerozpustných forem do roztoku varem se zředěnou kyselinou a následné redukci  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Pro analýzu bylo odměřeno 50,0 ml vzorku, byl přidán 1,00 ml 1,2 mol/l HCl a roztok byl odpařen na objem 10 – 20 ml. Při stanovení celkového železa byl po vychladnutí přidán 1,00 ml roztoku hydroxylaminhydrochloridu, při stanovení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  nebylo redukční činidlo přidáváno. Následně bylo pH vzorku upraveno octanovým tlumivým roztokem na hodnotu 4,5. Poté byly přidány 2,00 ml roztoku 1,10-fenantrolinu a objem byl doplněn deionizovanou vodou na 50,0 ml.

Kontrolní stanovení železa ve vybraných vzorcích bylo provedeno diferenční pulzní voltametrií s visící rtuťovou kapkovou elektrodou. Celkové železo bylo stanovováno za podmínek elektrochemicky reverzibilního děje v prostředí šřavelanového pracovního elektrolytu (0,1 mol/l) s hodnotou pH 2 nastavenou zředěnou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Speciace jednotlivých oxidačních stavů železa bylo dosaženo za podmínek elektrochemicky ireverzibilního děje v 0,1 mol/l roztoku  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (pH 10, nastaveno roztokem NaOH). Z voltamogramů získaných za použití tohoto pracovního elektrolytu byl přímo vyhodnocován obsah  $\text{Fe}^{\text{II}}$  ve vzorcích. Při stanovení diferenční pulzní voltametrií byla vždy nastavena výška potenciálového pulzu 50 mV, trvání pulzu 100 ms a rychlost polarizace 10 mV/s. Před voltametrickou analýzou byly vzorky zbaveny rozpuštěného kyslíku probubláním heliem (99,99 %) po dobu 10 min. Všechny voltamogramy byly zaznamenávány čtyřikrát. Pracovní elektrolyt nebyl v průběhu měření míchán. Pro

voltametrická stanovení bylo pipetováno 10,0 ml vzorku, k němuž bylo přidáno 10,0 ml základního elektrolytu. Pro vyhodnocení voltametrických stanovení byla využívána metoda standardního přídatku.

### 3.3.3. Charakteristiky metody podle Doškářové (2002)

**Citlivost** je takový rozdíl v koncentraci analytu, který odpovídá nejmenšímu zjistitelnému rozdílu, jenž může být zjištěn vhodnou odezvou signálu metody. Je reprezentována směrnici lineární kalibrační křivky a může být stanovena metodou nejmenších čtverců nebo experimentálně s použitím vzorků obsahujících různé koncentrace analytu.

**Mez detekce** je nejnižší množství analytu ve vzorku, které jsme schopni detekovat, ale které není nutně kvantifikovatelné jako exaktní hodnota. Je obvykle stanovována opakovanou analýzou alikvotního podílu slepého pokusu nebo opakovanou analýzou co nejnižší, ještě detekovatelné koncentrace analytu.

**Mez stanovitelnosti** je nejnižší koncentrace analytu, jež může být stanovena s přijatelnou mírou správnosti a přesnosti.

**Opakovatelnost** je typ přesnosti vztahující se k měřením provedeným za podmínek opakovatelnosti, tj. stejná metoda, stejný materiál, stejný pracovník, stejná laboratoř, krátký časový úsek.

**Správnost** metody je mírou těsnosti shody získané hodnoty a skutečné hodnoty obsahu analytu. Lze ji testovat třemi způsoby:

- analýzou certifikovaného referenčního materiálu
- testem výtěžnosti
- srovnáním s nezávislou metodou

**Lineární dynamický rozsah** se stanovuje analýzou určitého počtu vzorků s odlišnou koncentrací analytu a vypočtením regrese výsledků, obvykle použitím metody nejmenších čtverců.

**Korelační koeficient** vyjadřuje míru korelace, tzn. vzájemného vztahu mezi dvěma veličinami, pokud jedna není závislá na druhé (Lepš 1996).

### 3.4. Analýza dat

Grafy znázorňující výsledky měření byly vytvořeny v programu *Origin 7.5 Professional* a *Microsoft Office Excell 2003*. Variabilitu dat zde charakterizuje směrodatná odchylka výběru (SD – Standard Deviation).

Hypotézy formulované v úvodu byly testovány programem *Statistica 7*. K ověření rozdílu mezi nátokovou zónou a místy vzdálenými 10 m od nátoky byl použit párový t-test. Testy tvrzení týkajících se trojrozměrného systému vegetačního pole byly provedeny pomocí trojcestné analýzy variance pro opakovaná měření s hlavními efekty hloubka (20 cm a 60 cm), podélný průřez vegetačním polem od nátoky k odtoku – dále jako transekt (levý, střední, pravý) a vzdálenost od nátoky (1 m a 10 m od nátoky). Do modelu analýzy variance byly zahrnuty pouze hlavní efekty, odchylky od aditivity hlavních efektů byly použity pro odhad reziduální variability, proti které byly hlavní efekty testovány. Do modelu byly zahrnuty a testovány také interakce hlavních efektů s časem (vypovídají o tom, jak se jednotlivé efekty mění v průběhu času). Míru přesnosti určení průměru vyjadřují v grafech konfidenční intervaly (CI – confidence interval). Do statistického zpracování jsem nezahrnula datum 13.4.2006 ani 17.10.2006. Prvně uvedené proto, že vzorky byly odebrány z jiných míst než při ostatních odběrech, druhé z důvodu odlišného postupu odběru. Všechny testy byly prováděny na hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Optimalizace metody

#### 4.1.1. Parametry metody

Tradičně užívaná spektrofotometrická metoda stanovení železa s 1,10-fenantrolinem (Horáková a kol. 1986) byla optimalizována pro speciaci oxidačních forem železa v odpadní vodě protékající KČOV ve Slavošovicích.

Za účelem dosažení spolehlivých výsledků byly na reálných vzorcích experimentálně prověřeny optimální parametry metody (*Tabulka 1*). Předúprava zahrnuje filtraci hrubé odpadní vody, prováděnou přímo při odběru, rozpuštění přítomných sraženin železa před vlastním zpracováním vzorků, výběr rozpouštědla a stanovení jeho koncentrace (viz níže). Bylo vybráno vhodné redukční činidlo pro stanovení celkového železa, určena přiměřená koncentrace komplexotvorného činidla a zvolen pufrací systém.

*Tabulka 1: Experimentální parametry spektrofotometrického stanovení železa.*

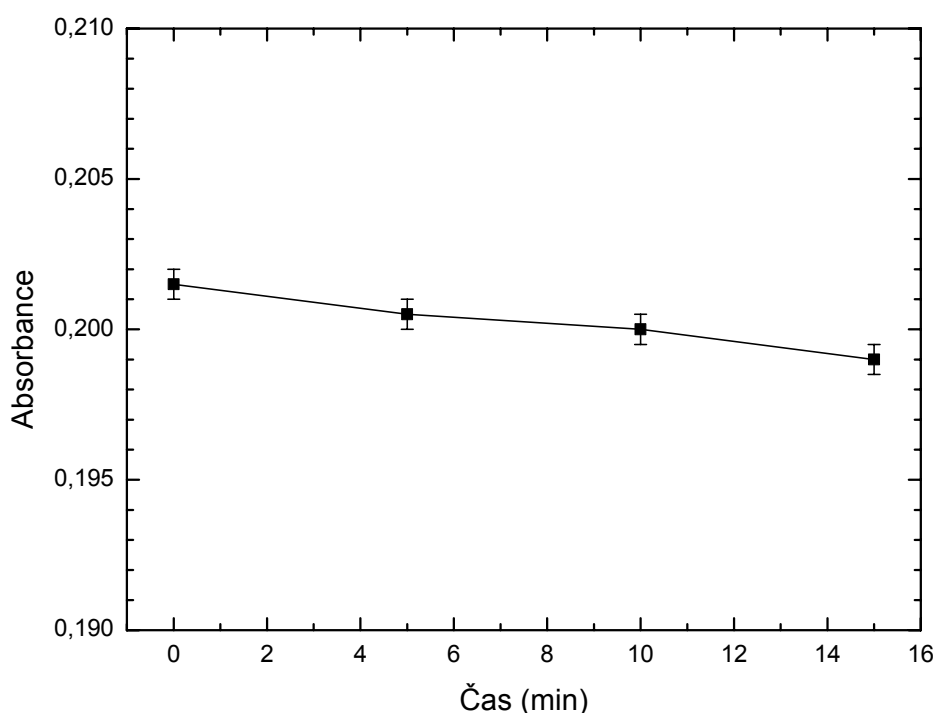
Předúprava vzorku	var s HCl (1,00 ml; 1,2 mol/l)
Redukční činidlo	hydroxylamin-hydrochlorid (1,00 ml; 100 g/l)
Spektrofotometrické činidlo	1,10-fenantrolin (2,00 ml; 5,0 g/l)
Prostředí stanovení	octanový tlumič; pH ~ 4,5
Optická délka kyvety	10,0 mm
Vlnová délka	510 nm

#### Předúprava vzorku

Účelem předúpravy je převedení sražených forem železa do roztoku. Tento krok má zásadní vliv na výsledné stanovení, proto byly testovány různé postupy – var se zředěnou HCl (1,00 ml, 1,2 M), var se zředěnou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,00 ml, 2,0 M) a var se zředěnou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,00 ml, 2,0 M) s přidávkem 5,00 ml 4,0% roztoku K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>. Měřené absorbance se nijak nelišily v závislosti na použité kyselině, stejně tak přítomnost K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> se významně neprojevila na hodnotách absorbančního signálu; za použití uvedeného oxidačního činidla absorbance zřídka prokazovala mírný pokles oproti jiným postupům (maximálně 10%). Pro potřeby této metody byl vybrán var se zředěnou HCl (1,00 ml, 1,2 M).

### Stabilita oxidačních forem železa při předúpravě vzorku

S ohledem na stanovení rozdílných oxidačních stavů železa bylo třeba ověřit stálost obou forem železa v průběhu předúpravy. Samovolná redukce  $\text{Fe}^{\text{III}}$  na  $\text{Fe}^{\text{II}}$  se při aerobních podmínkách nepředpokládá, odolnost  $\text{Fe}^{\text{II}}$  vůči oxidačním vlivům byla testována následujícím pokusem. Řada standardních roztoků  $\text{Fe}^{\text{II}}$  o koncentraci 1,0 mg/l (připravených z  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) byla podrobena popsané předúpravě. První z řady po okyselení neprošel varem, ostatní byly vařeny po řadě 5, 10 a 15 minut a dále upraveny podle popsání postupu pro stanovení redukované formy železa (kap. 3.3.2.). Z porovnání absorbančních signálů (*Obrázek 5*) je zřejmé, že var s HCl ani manipulace se vzorkem nezpůsobují významnou měrou oxidaci  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Var s HCl po dobu maximálně 15 minut byl tedy ověřen jako vhodná součást předúpravy vzorku. Stejněmu procesu byly podrobeny také kalibrační standardy.



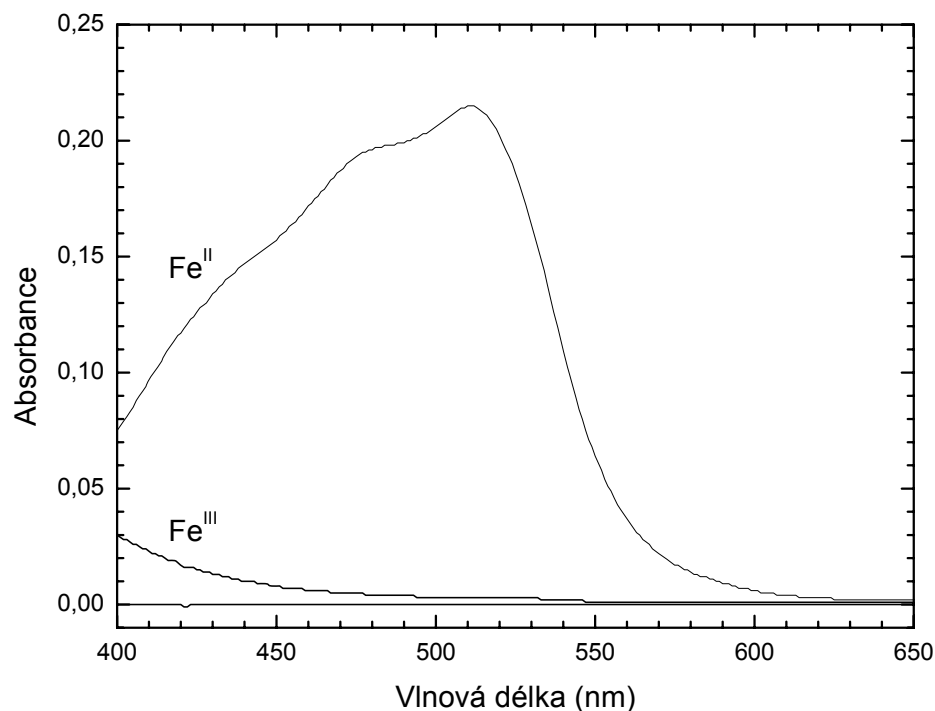
*Obrázek 5: Stálost  $\text{Fe}^{\text{II}}$  při předúpravě vzorku. Uvedené body představují průměry ze tří hodnot s vyznačenými SD.*

### Interferenční vliv $\text{Fe}^{\text{III}}$ komplexu s 1,10 – fenantrolinem

Proměření absorpčních spekter komplexu 1,10-fenantrolinu s železem v obou oxidačních stavech mělo potvrdit, že se při samotném spektrofotometrickém stanovení

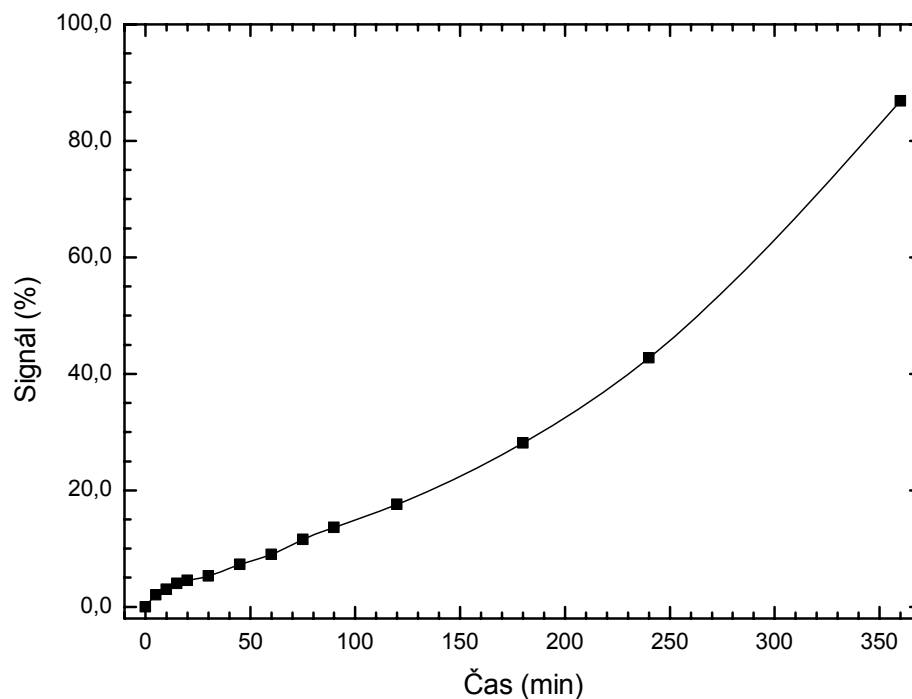


$\text{Fe}^{\text{II}}$  neuplatňuje rušivý vliv  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Spektra byla měřena odděleně pro roztoky  $\text{Fe}^{\text{II}}$  a  $\text{Fe}^{\text{III}}$  o koncentraci 1 mg/l. Z Obrázku 6 je patrné, že při vlnové délce 510 nm, kde komplex s  $\text{Fe}^{\text{II}}$  dosahuje maxima signálu, je absorbance komplexu  $\text{Fe}^{\text{III}}$  menší než 0,005. Interferenční vliv  $\text{Fe}^{\text{III}}$  tedy můžeme zanedbat.



Obrázek 6: Absorpční spektra  $\text{Fe}^{\text{II}}$  a  $\text{Fe}^{\text{III}}$  komplexu s 1,10-fenantrolinem.

V průběhu experimentu se však ukázalo, že komplex  $\text{Fe}^{\text{III}}$  s 1,10-fenantrolinem je na světle nestálý a snadno podléhá redukci na barevný komplex, ve kterém jako centrální ion vystupuje  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Tento efekt se stal významným přibližně 20 minut po přidání spektrofotometrického činidla do roztoku  $\text{Fe}^{\text{III}}$ , kdy byl vzorek ponechán na přímém světle. Rostoucí intenzita oranžového zabarvení vzorku dokumentovala probíhající děj, jehož časový průběh znázorňuje křivka v Obrázku 7. Pro používanou metodu z toho plynula zásada uchovávat vzorky po přidavku 1,10-fenantrolinu ve tmě a jejich absorbanci proměřit pokud možno co nejdříve. Na druhou stranu bylo nezbytné ponechat dostatek času pro definitivní vybarvení vzorku, tedy pro navázání veškerého  $\text{Fe}^{\text{II}}$  do komplexu. Po zohlednění obou aspektů byly vzorky po přidání spektrofotometrického činidla uloženy na 10 - 15 minut do temna a teprve poté měřeny.



*Obrázek 7: Fotochemická redukce komplexu  $Fe^{III}$  s 1,10-fenantrolinem.*

#### 4.1.2. Charakteristiky metody

Validační parametry spektrofotometrické metody s 1,10-fenantrolinem byly určeny za optimálních experimentálních podmínek. Validace zahrnuje proměření kalibrace a opakovatelnosti, stanovení meze detekce, meze stanovitelnosti, citlivosti, lineárního dynamického rozsahu, korelačního koeficientu a správnosti (*Tabulka 2*)

*Tabulka 2: Charakteristiky analytické metody.*

Citlivost (1/mg)	0,205
Mez detekce LOD (mg/l)	0,01
Mez stanovitelnosti LOQ (mg/l)	0,03
Opakovatelnost kalibračního standardu (%)	0,86
Opakovatelnost reálného vzorku (%)	3,00
Správnost (%)	98,7
Lineární dynamický rozsah (mg/l)	LOQ – 5,00
Korelační koeficient	0,99999

## Určení správnosti

Správnost spektrofotometrické metody s 1,10-fenantrolinem byla stanovena použitím dvou přístupů:

- ❖ Analýza referenčního materiálu. Postupem testované metody byl stanoven obsah železa v certifikovaném referenčním materiálu BCR-715, kde jsou v matrici odpadní vody rozpuštěny některé kovy o známé koncentraci s uvedenou nejistotou. Výrobce udává koncentraci železa  $3,00 \pm 0,27$  mg/l. Spektrofotometricky byla stanovena koncentrace  $2,96 \pm 0,04$  mg/l. Výsledek dokazuje velkou správnost použité metody.
- ❖ Srovnání s nezávislou metodou. Porovnání hodnot koncentrací železa ve vzorcích odpadní vody dosažených spektrofotometrickou metodou a diferenční pulzní voltametrií znovu potvrdilo velkou správnost testované metody. Diferenční pulzní voltametrie s visící rtuťovou kapkovou elektrodou je velice citlivá moderní metoda založená na polarizaci visící rtuťové elektrody a měření polarizačních křivek. Test byl proveden na vzorcích z přítoku, nátokové zóny a odtoku odebraných 13.1.2005. Výsledky získané oběma metodami dosáhly dobré shody. (Toto stanovení provedl vedoucí práce RNDr. Jan Šíma, Ph.D.) (Diáková a kol. 2006).

## 4.2. Výsledky terénního experimentu

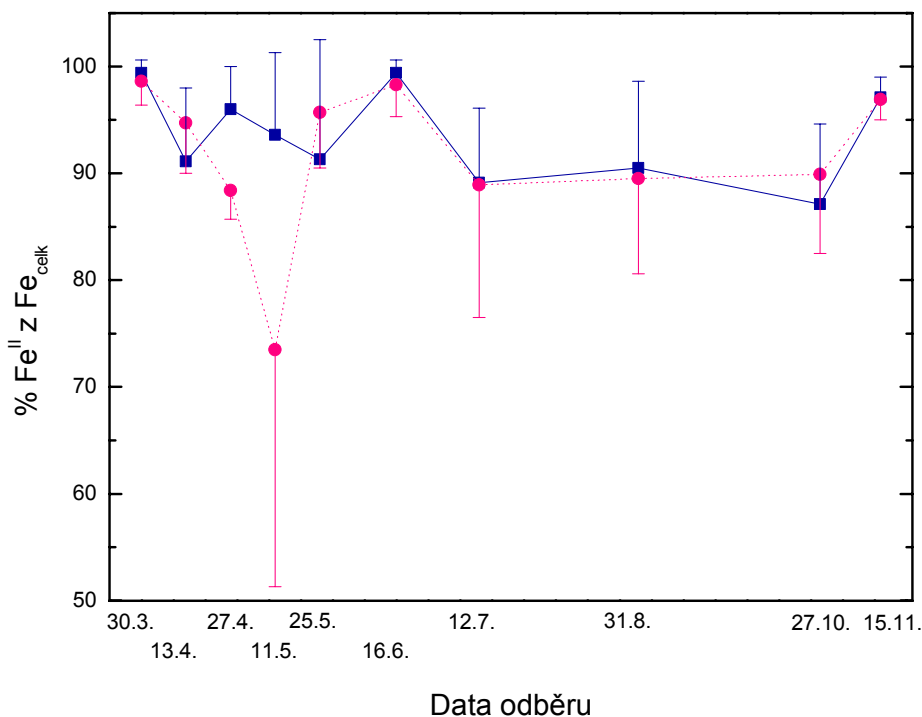
### 4.2.1. Sezónní monitorování 2005

Koncentrace obou oxidačních forem železa byly stanovovány ve vzorcích odpadní vody z KČOV Slavošovice desetkrát během období od března do listopadu. Postup odběru vzorků z jednotlivých míst (z přítoku, nátokové zóny, míst ve vegetačním poli a z odtoku) je popsán v kapitole 3.2.

### Sezónní změny

Zastoupení oxidačních forem železa ve vegetačním poli v průběhu sezóny 2005 znázorňuje Obrázek 8. V jednotlivých datech jsou znázorněny zvláště obě hloubky. V hloubce 20 cm byl častěji zaznamenán nižší podíl  $\text{Fe}^{\text{II}}$  než v hloubce 60 cm, nebylo to však pravidlem. Procentuální zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  prokazuje znatelný sezónní pokles pouze ve třech po sobě jdoucích termínech – 12.7., 31.8. a 27.10. Intervaly mezi těmito daty jsou dost dlouhé, je tedy pravděpodobné, že se mezi zmíněnými odběry mohly také

objevit výkyvy, které nebyly zaznamenány. Během období, kdy byly vzorky odebírány častěji, je znát velká rozkolísanost.



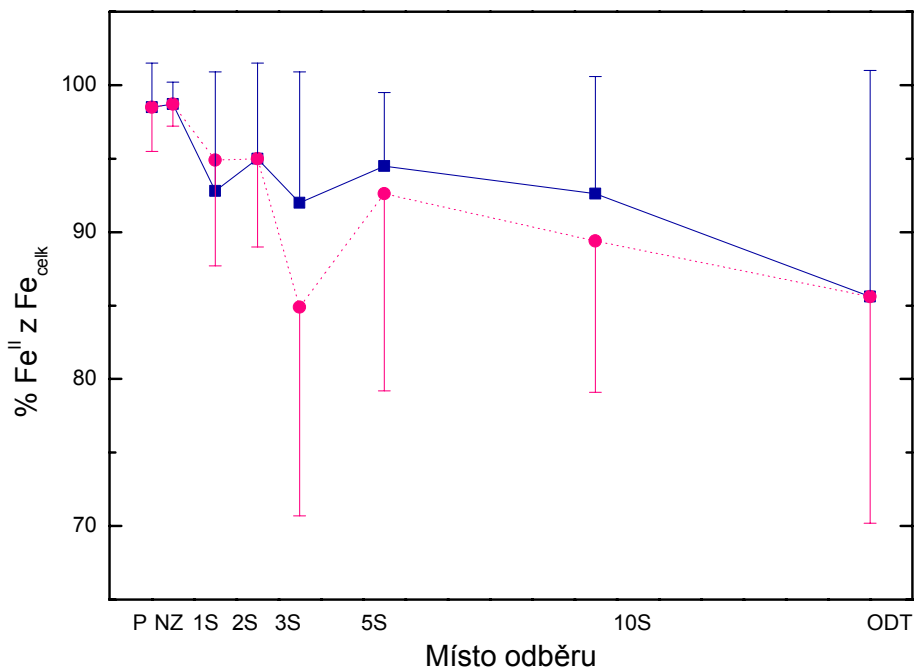
*Obrázek 8: Sezónní monitorování zastoupení Fe<sup>II</sup> v KČOV v roce 2005. (v %; ● hloubka 20 cm, ■ hloubka 60 cm; každý bod je průměrem odběrových míst středního transektu ve vegetačním poli (1 m, 2 m, 3 m, 5 m a 10 m od nátoky) v dané hloubce v příslušném dni, tedy průměrem 5 hodnot s vyznačenými SD)*

### Změny při průtoku KČOV

Monitorování sezóny 2005 podává bližší informace o změnách poměru koncentrací Fe<sup>II</sup> a Fe<sup>III</sup> při průtoku vody vegetačním polem, postihuje však pouze chování středního transektu. Nicméně v cílech práce byl stanoven předpoklad, že podélné řezy vegetačním polem se svými vlastnostmi neliší. Této problematice byla věnována pozornost v sezóně 2006 (kap. 4.2.2.).

Ve vodě protékající umělým mokřadem převládá forma Fe<sup>II</sup>. V přitékající vodě je téměř veškeré železo redukováno, voda odebraná z vegetačního pole a voda z odtoku obsahuje i formu Fe<sup>III</sup>. Vyšší koncentrace Fe<sup>III</sup> byly stanoveny ve vzorcích z hloubky 20 cm v místech vzdálených 3 m, 5 m a 10 m od nátokové zóny. Blíže k nátoky není tento trend zřejmý. Současně podíl Fe<sup>III</sup> zjevně roste se vzdáleností od nátoky. Největší podíl

$\text{Fe}^{\text{III}}$  byl zaznamenán na odtoku. Výsledky vyjádřené procenty  $\text{Fe}^{\text{II}}$  jsou shrnuty v Obrázku 9, hodnoty pro jednotlivé hloubky jsou opět vyneseny v grafu odděleně.

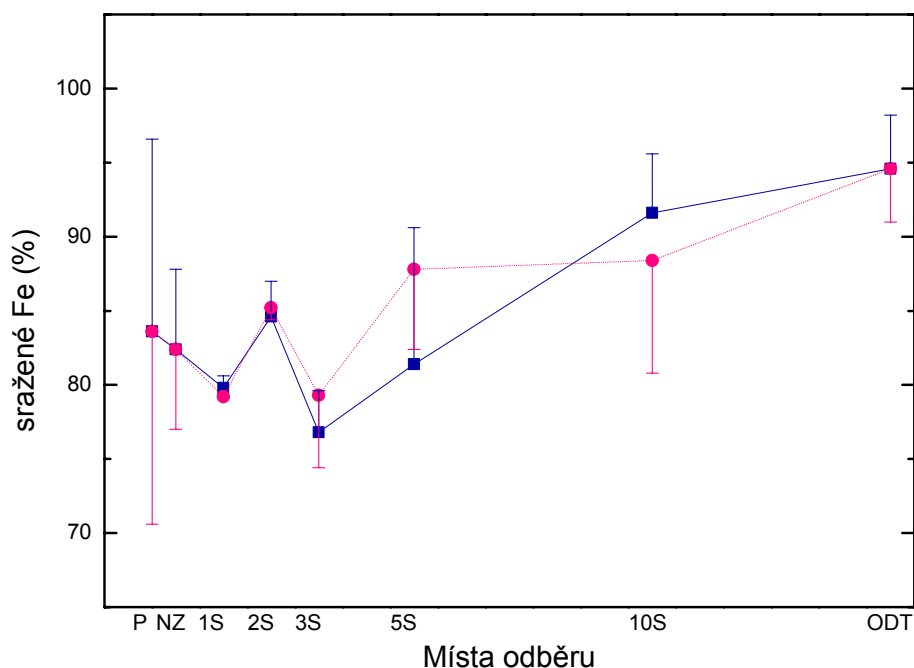


Obrázek 9: Zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v jednotlivých odběrových místech KČOV v roce 2005. (v %; ● hloubka 20 cm, ■ hloubka 60 cm, každý bod je průměrem 10 měření během sezóny 2005 s vyznačenými SD; P – přítok, NZ – nátoková zóna, S – střední transekt, čísla před S – vzdálenost od nátok, ODT - odtok)

### Rozpuštěné a sražené formy železa

Za účelem zjištění průměrného obsahu sraženého železa v odebrané odpadní vodě byly 3 sady vzorků z různých odběrů přefiltrovány přes filtr ze skleněných mikrovláken o porozitě 0,40  $\mu\text{m}$  (Machery Nagel MN GF 5, 47 mm). Výsledky ukázaly, že 75 – 95% celkového železa bylo přítomno ve formě sraženiny (Obrázek 10). Podíl nerozpustných forem z celkového množství železa ve vzorku není podle obrázku závislý na hloubce. Je však patrné, že v přitékající odpadní vodě je rozpuštěna větší část celkového železa než v odtékající vodě.

S ohledem na dominanci  $\text{Fe}^{\text{II}}$  nad  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v celém systému umělého mokřadu lze vyvodit, že železo je zde přítomno především jako  $\text{FeS}$ . To odpovídá pozorování jemné černé sraženiny suspendované v některých vzorcích. Přítomnost sulfidů ve vzorcích byla potvrzena také spektrofotometrickou metodou se 4-amino-*N,N*-dimethylanilinem (*N,N*-dimethylbenzen-1,4-diamin, *N,N*-dimethyl-*p*-fenylendiamin).



*Obrázek 10: Množství železa vyskytujícího se ve sraženině v jednotlivých místech KČOV v roce 2005. (v %; ● hloubka 20 cm, ■ hloubka 60 cm, každý bod je průměrem ze tří stanovení s vyznačenými SD; P – přítok, NZ – nátoková zóna, S – střední transekt, čísla před S – vzdálenost od nátoků, ODT - odtok)*

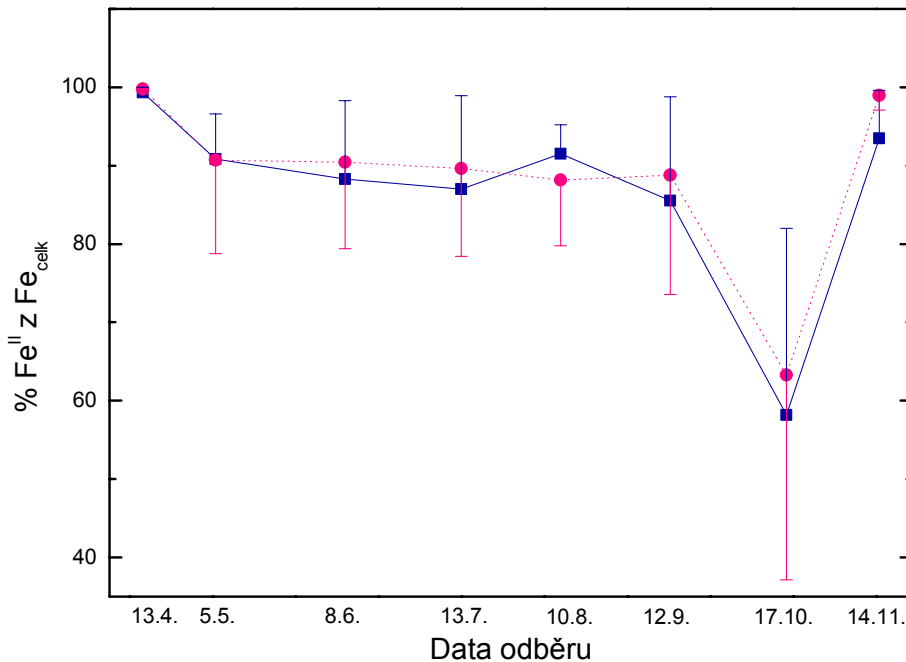
#### 4.2.2. Sezónní monitorování 2006

Stanovení koncentrace obou oxidačních forem a absolutní koncentrace železa bylo provedeno osmkrát za období od dubna do listopadu přibližně po měsíci. Bližší postup a výčet odběrových míst je uveden v kapitole 3.2.

##### Sezónní změny

Zastoupení oxidačních forem železa v průběh roku 2006 je zaznamenáno v Obrázku 11. Pokles procentuálního zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  17.10.2006 byl způsoben technickou závadou při odběru. Vzorky při odběru nebyly filtrovány, čímž došlo k jejich znečištění hrubou sraženinou. Hodnoty z tohoto odběru proto nebyly zahrnuty do grafu v Obrázku 13 ani do statistického zpracování výsledků. Po vyloučení zmíněného odběru vykazuje spojnice bodů jistou sezónnost. V nejméně chladnějších měsících bylo zjištěno nejnižší průměrné zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Oproti předešlému roku bylo ve většině

případů procentuálně více  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v hloubce 60 cm než v hloubce 20 cm. Rozdíl v zastoupení oxidačních forem Fe pro obě hloubky byl však velmi malý, nepřesahoval variabilitu dat.

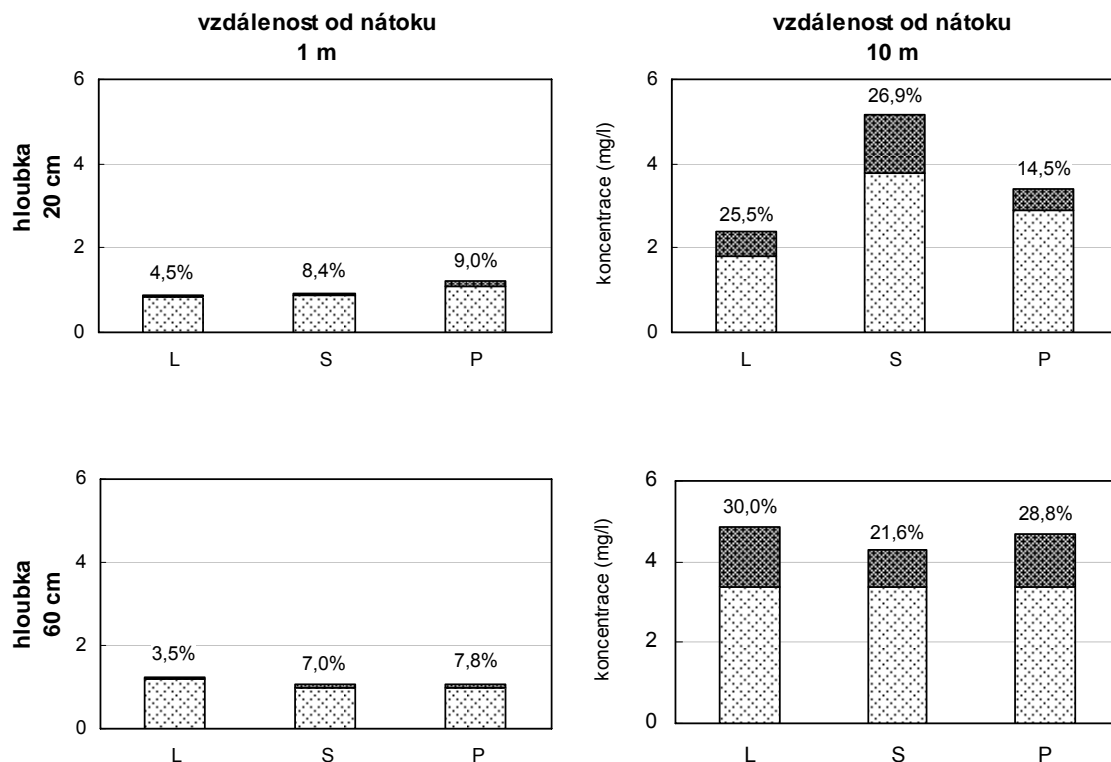


*Obrázek 11: Sezónní monitorování zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v KČOV v roce 2006. (v %; ● hloubka 20 cm, ■ hloubka 60 cm; každý bod je průměrem odběrových míst ve vegetačním poli (1 m a 10 m od nátoky, v každé vzdálenosti pravý, střední a levý transekt) v dané hloubce v příslušném dni, tedy průměrem 6 hodnot s vyznačenými SD).*

### Změny ve vegetačním poli

Obrázek 12 ukazuje, že procentuální zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$  stoupá se vzdáleností od nátoky. V příčném průřezu vedeném 1 m od nátoky byly určeny průměrné hodnoty za sezónu maximálně 8,6%  $\text{Fe}^{\text{III}}$  z celkové koncentrace železa, naproti tomu v 10 m od nátoky vzrostlo zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$  až k 25,9%. V prvně jmenovaném příčném průřezu se jednotlivé hloubky jednotlivých transektů v procentuálním zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$  téměř neliší. Rozdíly jsou patrné až v druhém zmíněném příčném průřezu vzdáleném 10 m od nátoky, kde se hloubky v jednotlivých transektech významněji rozrůžňují. Zatímco střední transekt podle očekávání vykazuje vyšší procento  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v hloubce 20 cm než v hloubce 60 cm, ostatní dva naznačují opak. Průkaznost rozdílů byla statisticky testována (kap. 4.2.3.). Trend ve středním transektu se shoduje s tendencí zaznamenanou v předešlé sezóně v tomtéž transektu.

Z Obrázku 12 je dále patrné, že koncentrace celkového železa při průtoku vegetačním polem stoupá, tzn. železo se uvolňuje přímo z vegetačního pole, nejspíš z jílového podloží. V kapitole 5.6.2. jsou tyto výsledky porovnány s provedeným laboratorním pokusem, který uvolňování železa z podložní vrstvy dokazuje. Největší koncentrace celkového železa byla opakovaně měřena v odběrových místech středního transektu ve vzdálenosti 10 m od nátoků.



Obrázek 12: Koncentrace celkového železa s vyznačením poměru zastoupení obou jeho oxidačních forem v různých místech vegetačního pole. Hodnoty jsou průměrem měření během celé sezóny 2006. Na osách y jsou vyneseny koncentrace v mg/l. Popisky os x L, S, P značí po řadě levý, střední a pravý transekt. Výška sloupce znázorňuje koncentraci celkového železa v daném odběrovém místě. Sloupec je barevně rozdělen na dvě části vystihující poměrné zastoupení Fe<sup>II</sup> a Fe<sup>III</sup>. Čísla nad sloupci jsou procenta zastoupení Fe<sup>III</sup> ve vzorcích.

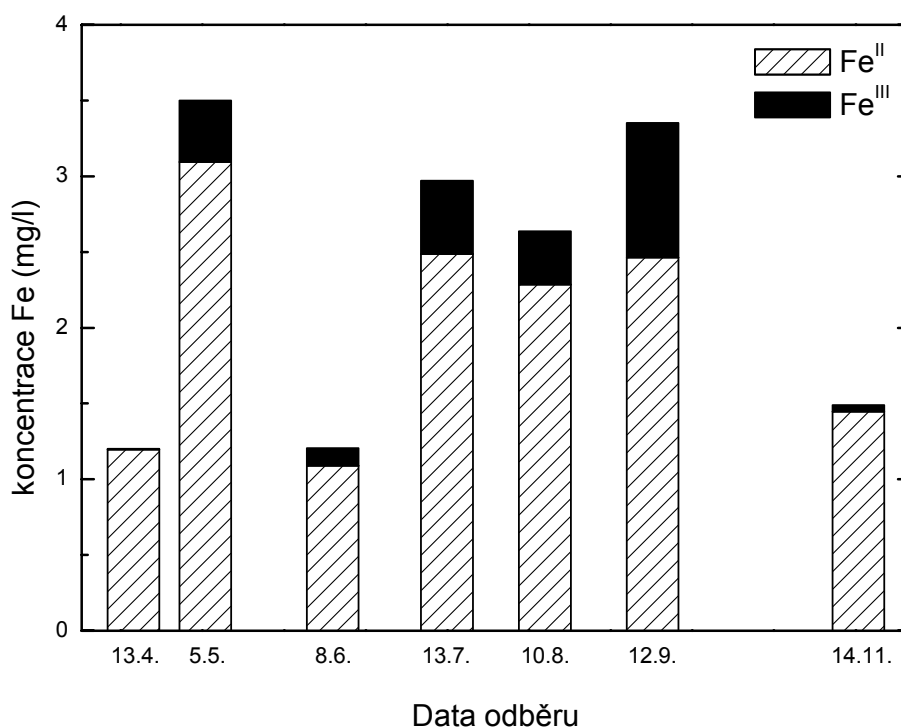
Pro přehlednost byly porovnány hodnoty celkové koncentrace železa ve vzorcích z přítoku za česlemi, z nátokové zóny (po předčištění v lapáku písku) a z odtoku z vegetačního pole. Z Tabulky 3 vyplývá, že železo je skutečně ze systému zkoumané KČOV vyplavováno. Vyšší koncentrace celkového železa na odtoku mohou být také částečně způsobeny evapotranspirací vegetačního pole. Díky odparu vody se roztok odpadní vody protékající vegetačním polem stává koncentrovanějším.



*Tabulka 3: Hodnoty koncentrací celkového železa před a po procesu čištění odpadní vody v KČOV Slavošovice. Výsledky jsou průměrem hodnot změřených osmkrát během sezóny 2006 v příslušných místech.*

Přítok (mg/l)	Nátoková zóna (mg/l)	Odtok (mg/l)
0,91	0,73	5,26

Průměrné koncentrace celkového železa a podíly obou jeho oxidačních forem byly shrnuty do přehledného grafu (*Obrázek 13*). V nejchladnějších měsících byly zaznamenány nejnižší hodnoty koncentrací celkového železa, k poklesu však došlo i 8.6.2006. Koncentrace  $\text{Fe}^{\text{III}}$  (mg/l) byla rovněž nejnižší v nejchladnějších měsících, což by se dalo vysvětlit obdobím vegetačního klidu přítomných rostlin jako důležitých faktorů při zavádění kyslíku do mokřadního systému přibližně od května do října.



*Obrázek 13: Koncentrace celkového železa s vyznačením poměru zastoupení obou jeho oxidačních forem v průběhu roku 2006. Jednotlivé sloupce představují průměry hodnot z přítoku, nátokové zóny, míst ve vegetačním poli a z odtoku.*

### 4.2.3. Testování hypotéz

1. Prokazatelně menší zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v %) je v místech vzdálených 10 m od nátoky než v nátokové zóně (Příloha 1). Průkazný je i rozdíl mezi příčnými průřezy ve vzdálenosti 1 m a 10 m od nátoky, zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v %) ve vzdálenějších bodech od nátoky je nižší než v jeho blízkosti (Příloha 2). To dokazuje, že při průtoku odpadní vody vegetačním polem dochází k oxidaci rozpuštěných látek a suspendovaných částic v ní obsažených.
2. Nepodařilo se prokázat statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými transekty (Příloha 3).
3. Rozdíly mezi hloubkami 20 cm a 60 cm byly neprůkazné, pokud test zahrnoval data z míst ve vzdálenostech 1 m i 10 m od nátoky (Příloha 4). Předpokládám, že ve vzdálenosti 1 m od nátoky se voda v mokřadu pohybuje příliš krátce na to, aby se její vlastnosti ve vertikálním profilu stačily diverzifikovat. Při testování míst pouze ve vzdálenosti 10 m od nátoky jsou již rozdíly mezi oběma hloubkami očekávány. Nepodařilo se je však prokázat díky velké variabilitě dat (Příloha 5). V pravém a levém transektu je ale znát tendence vyššího zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v hloubce 60 cm než v hloubce 20 cm. Opačná je tendence středního transektu, což splňuje očekávání, rozdíly se však pohybují v rámci variability dat. V sezóně 2005 byly odebírány vzorky pouze z míst ve středním transektu. Z Obrázku 9 je patrné, že v roce 2005 bylo zastoupení  $\text{Fe}^{\text{III}}$  (v %) skutečně vyšší v hloubce 20 cm než 60 cm, tedy podobně, jako ve středním transektu v roce 2006.
4. Pomocí trojcestné ANOVY byly testovány závislosti hlavních efektů na čase. Hodnoty pravděpodobností jednotlivých interakcí jsou zahrnuty v Tabulce 4. Závislosti změn procentuálního zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v místech vzdálených 1 m a 10 m od nátoky, v transektech i v hloubkách na čase jsou neprůkazné. (V přílohách je uvedena jen interakce času a průřezu – Příloha 6. Graf časové závislosti rozdílů mezi oběma hloubkami je velmi podobný Obrázku 11, graf časové závislosti rozdílů mezi transekty je nepřehledný).

*Tabulka 4: Výsledky celkové analýzy variance pro hlavní efekty (průřez, transekt, hloubka) pro opakovaná měření. V modelu nejsou zahrnuty interakce hlavních efektů. Model užívá dvě hladiny chybové variability (Error), jednu pro hlavní efekty, druhou pro opakovaná měření (čas) a jeho interakce.*

	SS	DF	MS	F	p
<b>průřez</b>	<b>1696,2</b>	<b>1</b>	<b>1696,2</b>	<b>28,229</b>	<b>0,001107</b>
transekt	155,0	2	77,5	1,290	0,333570
hloubka	50,5	1	50,5	0,840	0,389978
Error	420,6	7	60,1		
čas	603,2	5	120,6	1,840	0,130559
čas*průřez	740,9	5	148,2	2,260	0,069907
čas*transekt	684,2	10	68,4	1,043	0,429600
čas*hloubka	140,4	5	28,1	0,428	0,825760
Error	2295,3	35	65,6		

*SS* – součet čtverců (*Sum of Squares*)

*DF* – příslušné stupně volnosti (*Degrees of Freedom*)

*MS* – průměrný čtverec (*Mean Square*)

*F* - test rozdílu variancí (*Fischer's test*)

*p* – dosažená hladina významnosti (*Probability*)

**Tučně** zvýrazněn řádek efektu, jehož vliv je průkazný

Z výše uvedených výsledků vyplývá, že oxidační schopnosti vegetačního pole nejsou prokazatelně závislé na čase. Jediným prokazatelným vlivem na podíl Fe<sup>II</sup> v odpadní vodě je vzdálenost od nátoky, což dokazuje, že v při průtoku vegetačním polem dochází k okysličování odpadní vody. Kořenová čistírna tedy plní svoji funkci i v chladnějších měsících.

## 5. DISKUSE

### 5.1. Optimalizace metody

Vybraná metoda byla zvolena po uvážení vhodnosti několika postupů. Elektrochemický přístup reprezentuje například nestacionární metoda pulzní polarografie (voltametrie). V porovnání s klasickou polarografií má vyšší citlivost a rozlišovací schopnost (Kalvoda 1987). Diferenční pulzní voltametrie s visící rtuťovou kapkovou elektrodou však nedosahuje takové robustnosti jako spektrofotometrie, navíc její opakovatelnost obvykle není tak příznivá jako pro spektrometrická stanovení. Umožňuje sice odlišit různé oxidační stavy detekované látky, stanovení je však pracné, časově náročné a přístrojové vybavení relativně nákladné. V rámci této studie však byla použita jako referenční metoda k určení správnosti výsledků získaných spektrofotometrickou metodou (srovnání s nezávislou metodou). Jiné moderní analytické metody charakterizované vysokou citlivostí, např. atomová spektrometrie, nepodávají potřebnou informaci o zastoupení různých oxidačních forem a přístrojové vybavení je finančně vysoce nákladné.

Metoda spektrofotometrického stanovení železa s 1,10-fenantrolinem je ve srovnání s dříve zmíněnými přístupy vhodná pro stanovení oxidačních stavů železa v odpadní vodě. Je velmi citlivá a poskytuje správné i přesné výsledky. Malát (1973) uvádí, že tímto postupem je možné stanovit koncentrace železa 0,8 - 4,0 mg/l. Při optimalizaci metody v rámci této práce byl však prokázán širší lineární dynamický rozsah, a to 0,03 – 5,00 mg/l. Toto stanovení je v běžné chemické laboratoři snadno proveditelné bez speciálního, finančně náročnějšího přístrojového vybavení. Je jednoduché na provedení a přitom velmi robustní. Rušivé vlivy při stanovení byly popsány v malé míře jen u několika prvků – Co, Ni, Cu, Hg<sup>I</sup>, Mo<sup>VI</sup> a W (Malát 1973). Jejich přítomnost v odpadní vodě, odtékající z malé obce, se však neočekává. Interference komplexu Fe<sup>III</sup> s 1,10-fenantrolinem při stanovení Fe<sup>II</sup> byla experimentálně shledána nevýznamnou. K dosažení správných výsledků při speciaci oxidačních stavů Fe je však potřeba minimalizovat fotochemickou redukci tohoto komplexu uchováním vzorků v temnu. Díky velmi příznivým charakteristikám byla spektrofotometrická metoda zvolena jako nejvhodnější pro potřeby této práce.

## 5.2. Oxidační a redukční schopnosti umělého mokřadu

Výsledky monitorování zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  a  $\text{Fe}^{\text{III}}$  přinesly informace o oxidačně redukčních vlastnostech umělého mokřadu. Tyto vlastnosti způsobené aerací zaplaveného systému kořeny mokřadních rostlin, a tedy tvorbou gradientů oxidačně redukčního potenciálu ( $E$ ), byly již mnohokrát prokázány prostřednictvím různých ukazatelů.

Přímo oxidaci železa v aerovaných zónách okolo oddenků suchopýru úzkolistého (*Eriophorum angustifolium*) v zaplavené půdě popsali již Armstrong a Boatman (1967).

V úzké souvislosti se sledováním oxidačních forem železa bylo prováděno i monitorování různých oxidačních forem síry přímo na KČOV Slavošovice. V hloubce 20 cm byly zaznamenány vyšší koncentrace  $(\text{SO}_4)^{2-}$ , tedy oxidované formy síry, než v hloubce 60 cm (Šíma a kol. 2006). V jiném mokřadu byl zaznamenán vzestup  $(\text{SO}_4)^{2-}$  na počátku vegetační sezóny a naopak pokles v období vegetačního klidu rostlin (Choi a kol. 2006). Pokud je v mikrobiálních procesech v blízkosti kořenů spotřebováván nejdříve přítomný kyslík jako akceptor elektronů, nedochází k poklesu redoxního potenciálu až k redukci síranů (*Tabulka 8*), narozdíl od větší hloubky, kam molekuly kyslíku stěží difundují. Přítomnost sulfidů naopak dokumentuje silně redukční podmínky v místech, kam kořeny rostlin neprorostou. Batty a kol. (2006) ve své práci uvádí, že přítomnost vegetace zvyšuje na jaře a v létě koncentraci kovů (Fe, Mn) v povrchové i pórové vodě, neboť v přímém kontaktu s kořeny a v jejich těsné blízkosti dochází k oxidaci sulfidů, v nichž jsou kovy vázány. Popisuje rovněž bakteriální redukci  $(\text{SO}_4)^{2-}$  ve větších hloubkách.

Z důvodu popisu oxidačně redukčních dějů byly v jiných pracích sledovány i koncentrace  $\text{O}_2$  rozpuštěného ve vodě a redoxní potenciál. Yu a kol. (2006) potvrdili vzájemnou korelaci obou faktorů a jejich sezónní závislost.

V současnosti je již dobře zpracována metodika měření radiálních ztrát kyslíku v okolí podzemních částí mokřadních rostlin - radial oxygen loss – ROL (Matsui, Tsuchiya 2006). Armstrong a kol. 2006 srovnávali ROL oddenků 4 druhů mokřadních rostlin. V blízkosti oddenků rákosu byly v porovnání s ostatními změřeny nejvyšší hodnoty redoxního potenciálu (až +400 mV). Rákos je tedy vhodná rostlina k osazování vegetačních polí KČOV.

### 5.3. Vliv roční doby

Během jarních, letních a ranně podzimních měsíců obou sezón byly většinou zaznamenány větší podíly  $\text{Fe}^{\text{III}}$  než v chladných měsících, ve kterých bylo měření prováděno. Hodnoty z obou let však nelze porovnávat na stejné úrovni, neboť pokaždé byla data získána průměrem jiných odběrových míst. Zatímco v roce 2005 zahrnují pouze místa středního transektu v celém průběhu vegetačního pole, body v grafu ze sezóny 2006 byly získány zprůměrováním výsledků ze všech tří transektů na začátku a na konci vegetačního pole; kromě odběru 13.4.2006 (kap. 3.2.), který byl do Obrázku 11 zahrnut pro dokreslení celé sezóny. Každá informace je tedy komplexní v jiném směru, proto nelze zobrazit obě sezóny v jednom grafu.

#### 5.3.1. Srážky, průtoky a teploty v průběhu sezón

V roce 2005 byl během jara (odběrové dny 13.4.2005 – 25.5.2005) znatelný vzestup  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v hloubce 20 cm, tedy v zakořeněné zóně. V tomto období docházelo k nejintenzivnější tvorbě nadzemní biomasy rákosu. To předpokládalo další rozvoj kořenového systému, a tedy i čerpání kyslíku do kořenů proti směru transportu  $\text{CO}_2$  v rostlině - tzv. konvektivní tok (Vymazal a kol. 1998). 11.5.2005 byl detekován neobvykle velký rozdíl mezi oběma hloubkami. V hloubce 20 cm bylo téměř 30% železa oxidováno. Byl stanoven předpoklad, že srážky podporují vyšší koncentraci kyslíku ve dvou směrech.

- Prokysličená dešťová voda dopadá přímo na plochu umělého mokřadu a míchá se v horních vrstvách vegetačního pole s odpadní vodou.
- Srážková voda z pozemních komunikací a zpevněných ploch je svedena do kanalizace a mísí se s odpadní vodou v kanalizačním potrubí.

V týdnu před tímto odběrem spadlo nejvíc srážek z vybraných termínů. Je však možné, že srážky spadly na začátku sedmidenního sumarizovaného období, a proto se výrazněji neprojeví ve výši průtoků v daném dni (Tabulka 9). V březnu a v listopadu bylo téměř veškeré železo zredukováno, protože rostliny už nevykazují vegetační aktivitu. V předjaří proto, že suchá stébla byla posekána a nová ještě nevyrostla, v pozdním podzimu naopak nadzemní část rostlin usychá a už netranspiruje (souvislost s teplotou viz dále).

V roce 2006 bylo ještě v dubnu téměř veškeré železo v celém mokřadu redukováno (*Obrázek 11*), neboť v tom roce vládly nízké teploty až do konce čtvrtého měsíce v roce. Teplota vody v hloubce 20 cm a 60 cm byla měřena kontinuálně přímo na místě a hodnoty byly zaznamenávány pomocí dataloggeru (*Tabulka 5*). Změny teploty vody jsou reakcí na dlouhodobější kolísání teploty okolního vzduchu. V dubnu a v listopadu byly zaznamenány nejnižší hodnoty, což je jednou z příčin nízké vegetační aktivity rostlin.

*Tabulka 5: Teploty vody (°C) měřené ve dvou hloubkách ve vegetačním poli v roce 2006.*

datum odběru	13.4.	5.5.	8.6.	13.7.	10.8.	12.9.	17.10.	14.11.
hloubka 20 cm	4,6	10,1	10,6	17,3	15,3	12,7	8,8	6,9
hloubka 60 cm	5,0	9,2	10,5	17,1	15,5	12,4	7,2	6,1

Není však vyloučeno, že k aeraci zaplaveného systému prostřednictvím kořenů dochází i v chladném období vegetačního klidu rostlin. Vymazal a kol. (1998) popisuje pasivní transport kyslíku zlomenými mrtvými stébly, tzv. Venturiho indukovanou konvekci. Navíc rozpustnost kyslíku ve vodě stoupá s klesající teplotou (Pitter 1981). Skutečně i v chladných měsících bylo, byť jen minimální množství, Fe<sup>III</sup> zaznamenáno. V teplejších měsících (*Tabulka 5*) jsou výsledky zastoupení Fe<sup>III</sup> až překvapivě vyrovnané (*Obrázek 11*), pokud pomineme odběr 17.10., kdy byly vzorky odebrány jiným postupem a nelze je tedy s ostatními výsledky srovnávat. Datu 10.8.2006 přísluší nejvyšší týdenní srážkový úhrn, následně byl zjištěn vyšší poměr Fe<sup>III</sup> v hloubce 20 cm než v 60 cm. Rozdíl je však nepatrný a průměrná hodnota zastoupení Fe<sup>III</sup> zůstává srovnatelná s jinými odběry.

Zdá se tedy, že uvedené srážky a následně průtok vody vegetačním polem nemají na míru oxidace velký vliv. Znatelnější jsou rozdíly mezi chladnými a teplými obdobími. Holcová (2007) ve své magisterské práci píše, že doba zdržení ve vegetačním poli KČOV Slavošovice je v letních měsících 14 dní, naproti tomu v zimních měsících jen 8 dní, tedy téměř o polovinu kratší. Uvádí to do souvislosti s evapotranspirací rostlin. Pokud tedy přichází odpadní voda delší dobu do kontaktu s kořeny rostlin, je i déle vystavena působení jejich oxidačních vlivů. To může rovněž vysvětlovat vyšší procentuální zastoupení Fe<sup>III</sup> v teplejším období.

Časová závislost nebyla prokázána použitou statistickou metodou. Do testu totiž nebyly zahrnuty výsledky z 13.4.2006 (kap. 4.2.3.), které představují doznívající

chladné období na počátku sezóny a v Obrázku 11 právě pomáhají dokreslit sezónnost změn.

Weiss a kol. (2005) ve své práci potvrdili, že se rovnováha mezi oxidací  $\text{Fe}^{\text{II}}$  a redukcí  $\text{Fe}^{\text{III}}$  v průběhu sezóny mění v závislosti na vegetační aktivitě rostlin.

### 5.3.2. Redoxní potenciál

Redoxní potenciál ( $E$ ) byl ve vegetačním poli měřen každých 20 minut dataloggerem (M4216 Fiedler, ČR) od konce července 2006, aby mohly být porovnány přímo měřené hodnoty  $E$  s výsledky speciace oxidačních forem železa. Datalogger zaznamenával hodnoty redoxního potenciálu  $E$  měřené ve spojení s indikačními Pt-elektrodami a referenční argentchloridovou elektrodou v místech středního transektu vzdálených 1 m, 5 m a 10 m od nátoky, pokaždé v hloubce 20 cm i 60 cm. Toto měření podává bodovou informaci, tzn. hodnoty redoxního potenciálu v těsné blízkosti elektrody. Mokřad je však velmi různorodý systém, kde se v malém objemu díky prokořenění či přítomnosti mikroorganismů střídají zóny s oxidačními a redukčními účinky (Mitsch, Gosselink 2000). Proto bylo v této práci přistoupeno ke komplexnějšímu popisu oxidačně redukčních podmínek v mokřadu, a to monitorování indikátorového systému  $\text{Fe}^{\text{III}} / \text{Fe}^{\text{II}}$ . Navazující studie se v rámci stejného grantového projektu zabývají indikátorovými systémy  $\text{Mn}^{\text{IV}} / \text{Mn}^{\text{II}}$  a  $\text{SO}_4^{2-} / \text{S}^{2-}$  v KČOV Slavošovice. Hodnoty naměřené dataloggerem byly cenné při porovnání.

Obecné předpoklady:

- Čím větší míra anoxie panuje v prostředí okolo indikační elektrody, tím je naměřen nižší redoxní potenciál.
- Čím více redukční podmínky, tím větší procento zredukovaného železa.

Ve vzdálenosti 10 m od nátoky opravdu odpovídaly nižší hodnoty  $E$  měřené dataloggerem vyššímu procentuálnímu zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  z obou hloubek (Tabulka 6, Tabulka 7), a to v hloubce 60 cm, kde se předpokládá menší prokořenění substrátu, omezený přístup prokysličené dešťové vody, a tedy vyšší míra redukce. Nebylo tomu tak ve vzdálenosti 1 m od nátoky. Hodnoty redoxního potenciálu byly vždy nižší v hloubce 60 cm než 20 cm, avšak zredukované formy železa bylo zaznamenáno více (v %) v hloubce 20 cm. Tento jev byl pozorován i v předešlé sezóně 2005 (Obrázek 9). Ve



vzdálenosti 1 m od nátoku byly poměry v zastoupení oxidačních forem Fe v obou hloubkách velmi podobné a nebyl pozorován statisticky významný rozdíl ve výsledcích získaných pro obě hloubky.

*Tabulka 6: Procentuální zastoupení Fe<sup>II</sup> v souvislosti s měřeným redoxním potenciálem E ve vzdálenosti 1 m od nátoku.*

datum	%Fe <sup>II</sup>		E (mV)	
	1H	1D	1H	1D
10.8.2006	94,1	22	<b>95,0</b>	<b>-52</b>
12.9.2006	<b>98,0</b>	-8	95,4	<b>-69</b>
17.10.2006	<b>86,6</b>	169	77,6	<b>-147</b>
14.11.2006	<b>99,4</b>	383	92,2	<b>-149</b>

*H* – hloubka 20 cm (horní)

*D* – hloubka 60 cm (dolní)

*čísla před těmito písmeny* - vzdálenost od nátoku v metrech

*E* měřen ve středním transektu; čísla představují průměr z celého dne; hodnoty přepočteny na referenční standardní vodíkovou elektrodu

*%Fe<sup>II</sup>* rovněž jen v odběrových místech středního transektu

**Tučně** vyznačena pokaždé ta hodnota z dvojice čísel (z hloubky 20 cm a z hloubky 60 cm, odpovídající sloupce označené písmenky H – D), která značí vyšší míru redukci (U redoxního potenciálu jsou to tedy nižší hodnoty, u zastoupení Fe<sup>II</sup> naopak vyšší procentuální hodnoty.)

*Tabulka 7: Procentuální zastoupení Fe<sup>II</sup> v souvislosti s měřeným redoxním potenciálem E ve vzdálenosti 10 m od nátoku.*

datum	%Fe <sup>II</sup>		E (mV)	
	10H	10D	10H	10D
10.8.2006	71,6	148	<b>89,3</b>	<b>-120</b>
12.9.2006	62,2	132	<b>77,1</b>	<b>-76</b>
17.10.2006	29,6	274	<b>38,4</b>	<b>90</b>
14.11.2006	95,3	343	<b>100,0</b>	<b>147</b>

vysvětlení k tabulce stejné jako pro *Tabulku 6*

## 5.4. Změny ve vegetačním poli

Horní vrstva profilu zaplaveného systému je hustě prokořeněna. Okolo kořenů vzniká tenká vrstva, kde vládou aerobní podmínky a může zde docházet k reoxidaci

Fe<sup>II</sup> (kap. 5.2.). Dokazuje to *Obrázek 9*, který znázorňuje změny procentuálního zastoupení Fe<sup>II</sup> při průtoku odpadní vody středním transektem. Ve vzdálenějších bodech středního transektu od nátoky bylo v hloubce 20 cm zastoupeno Fe<sup>III</sup> větší měrou než v hloubce 60 cm, což je připisováno aeraci prostřednictvím kořenů rostlin a může zde tedy docházet k reoxidaci Fe<sup>II</sup>.

Ve vegetačním poli však byly zjištěny nerovnoměrnosti toku (Holcová 2007). Každým transektem protéká voda jinou rychlostí, což je způsobeno hustším či řidším prokořeněním v horních vrstvách a nerovným povrchem jílového podloží ve spodních vrstvách vegetačního pole. To se projevilo i ve výsledcích této studie (*Obrázek 12*). Střední transekt, stejně jako v roce 2005, prokazuje ve vzdálenosti 10 m od nátoky podle předpokladu vyšší míru reoxidace Fe<sup>II</sup> v hloubce 20 cm než v hloubce 60 cm. Jinak je tomu v pravém a levém transektu. Rozdíly mezi výsledky získanými pro obě hloubky však nebyly statisticky významné (Příloha 5).

Na odtoku dochází k provzdušnění vytékající vody kontaktem s atmosférou. Proto byl ve vzorcích z odtoku zaznamenán vždy nejvyšší podíl Fe<sup>III</sup> (v sezóně 2005 i 2006 při každém odběru).

## 5.5. Sražené formy železa

Naměřené hodnoty redoxního potenciálu (*Tabulka 6, Tabulka 7*) v porovnání s literaturou (*Tabulka 8*) dokazují, že v některých místech vegetačního pole dochází i k redukci síranů. Štěpánek (2007) v rámci své magisterské práce naměřil ve vegetačním poli KČOV Slavošovice dokonce emise methanu (10krát vyšší emise byly zjištěny v neosázené nátokové zóně než v ostatních částech vegetačního pole). Ionty S<sup>2-</sup> reagují s ionty kovů, především Fe a Mn, za vzniku nerozpustných sulfidů FeS, MnS. Proto se vyskytuje většina přítomného, za těchto anaerobních podmínek převážně redukováného, železa ve sraženině (Šíma a kol. 2006, Diáková a kol. 2006).

*Tabulka 8: Akceptory elektronů seřazené sestupně podle redoxního potenciálu E, při němž dochází k redukci oxidované formy příslušného akceptoru (Vymazal a kol. 1998).*

probíhající děj	schéma změny	E (mV)
denitrifikace	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	> 300
redukce manganu	Mn <sup>4+</sup> → Mn <sup>2+</sup>	100 až 300
redukce železa	Fe <sup>3+</sup> → Fe <sup>2+</sup>	-100 až 100
redukce síranu	(SO <sub>4</sub> ) <sup>2-</sup> → S <sup>2-</sup>	-200 až -100
methanogeneze	CO <sub>2</sub> → CH <sub>4</sub>	< -200

Z Obrázku 10 je patrné, že procento sraženého železa v pórové vodě rostlo při průtoku vegetačním polem a nejvyšší hodnoty byly zaznamenány na odtoku. To může být způsobeno dvěma faktory:

1. Při kontaktu vody s atmosférou a oxidačními zónami okolo kořenů rostlin dochází k reoxidaci dvojjazného železa. Vylučuje se hydratovaný  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , který sedimentuje a přitom strhává další podíly železa v koloidní formě (Pitter 1981).

2. Železo uvolňované z podloží se dostává do roztoku na rozhraní sedimentu a vody, tedy ve velkých hloubkách, kde byly měřeny nejnižší hodnoty redoxního potenciálu. Zde  $\text{Fe}^{2+}$  ionty reagují s  $\text{S}^{2-}$  a dochází k vysrážení  $\text{FeS}$  (Pitter 1981).

Na povrchu i při dně vegetačního pole jsou tedy příhodné podmínky pro vysrážení nerozpustných forem železa. Následkem delší doby zdržení vody v systému a unášení drobných pevných částic ve směru proudu toku se potom ve vzdálenějších místech od nátoky sraženiny hromadí. První vysvětlení navíc podporuje fakt, že na odtoku bylo zaznamenáno nejvyšší procento sraženého železa a zároveň vždy zjištěny nejvyšší podíly  $\text{Fe}^{\text{III}}$ .

## 5.6. Celkové železo

Kromě zastoupení oxidačních forem železa byla věnována pozornost i koncentraci celkového železa, důvodům jejího kolísání v čase a porovnáním hodnot v různých místech KČOV byla utvořena představa o vstupech a výstupech železa v rámci sledovaného systému.

### 5.6.1. Srážky, průtoky

Byla hledána souvislost mezi množstvím srážek vztaženým k odběrovým datům, resp. mezi průtoky vody v jednotlivých dnech, a koncentrací celkového železa ve vzorcích z přítoku do vegetačního pole a odtoku z vegetačního pole (Tabulka 9, Tabulka 10). Informace o srážkách byly získány z nejbližší meteorologické stanice v Ledenicích (obec vzdálená 4 km od Slavošovic), průtoky byly kontinuálně měřeny na přítoku a odtoku a výsledky zaznamenávány dataloggerem. Vyšší hodnoty koncentrace železa zhruba korelují s nižšími průtoky, neboť větším přísunem srážek dochází ke zředění přitékající odpadní vody i vody odtékající z vegetačního pole (zmíněno již v kapitole

5.3.1.). V datu 10.8.2006 byla tato závislost reprezentativní. Velké srážky v předešlém týdnu zapříčinily vyšší průtoky, což znamenalo zředění vody na přítoku i odtoku. Tomu odpovídaly i nižší stanovené hodnoty koncentrace celkového železa v porovnání s nejbližšími odběry (předešlý a následující měsíc). 14.11.2006 nezpůsobily velký průtok vody kořenovou čistírnou velké srážky, ale příčinou bylo vypuštění návesního rybníku, přičemž voda byla svedena do kanalizace.

*Tabulka 9: Koncentrace celkového železa v přítékající a odtékající vodě KČOV v jednotlivých odběrových dnech roku 2005 v souvislosti s průtoky v příslušných místech a dnech. Současně jsou uvedeny týdenní srážkové úhrny k jednotlivým datům.*

datum	celkové Fe (mg/l)		průtok (l/s)		týdenní srážkový úhrn (mm)
	přítok	odtok	přítok	odtok	
30.3.	0,82	1,64	0,34	0,31	0,5
13.4.	0,68	2,00	0,18	0,16	20,4
11.5.	0,73	2,81	0,20	0,06	24,4
16.6.	0,88	10,20	0,11	0,05	11,7
31.8.	0,82	3,72	0,25	0,12	0,6
15.11.	1,29	4,91	0,13	0,05	0,4

*Tabulka 10: Koncentrace celkového železa v přítékající a odtékající vodě KČOV v jednotlivých odběrových dnech roku 2006 v souvislosti s průtoky v příslušných místech a dnech. Současně jsou uvedeny týdenní srážkové úhrny k jednotlivým datům.*

datum	celkové Fe (mg/l)		průtok (l/s)		týdenní srážkový úhrn (mm)
	přítok	odtok	přítok	odtok	
13.4.	0,79	2,36	0,97	0,43	14,7
5.5.	0,80	5,50	0,25	0,11	3,6
8.6.	0,84	3,87	0,18	0,16	6,9
13.7.	1,12	4,48	0,36	0,12	8,9
10.8.	0,73	2,98	0,56	0,17	77,8
12.9.	1,28	9,51	0,26	0,11	1,8
17.10.	0,96	5,70	-	-	-
14.11.	0,68	4,76	0,92	-	-

29.6.2006 byl přímo na KČOV Slavošovice zprovozněn automatický srážkoměr. Průměrné měsíční srážky ukazuje v porovnání s hodnotami koncentrace celkového železa *Tabulka 11*. Tyto údaje naměřené přímo v místě umělého mokřadu daleko lépe vysvětlují sezónní kolísání koncentrace celkového železa (*Obrázek 13*) než týdenní srážkové úhrny získané z dat meteorologické stanice v Ledenicích. Nejvíce srážek bylo zaznamenáno koncem června (29.6. - 30.6.2006), ve dvou dnech spadlo 229,6 mm srážek. Tento měsíc byl celkově velmi deštivý. Moje pozorování potvrzují, že i

červnovému odběru (8.6.2006) předcházely velké deště. Červenec byl oproti tomu sušším měsícem, v srpnu spadlo však opět více srážek než v předchozím i následujícím měsíci.

*Tabulka 11: Průměrné měsíční srážky (mm) a jejich srovnání s hodnotami koncentrace železa (mg/l) v jednotlivých datech odběru. Hodnoty koncentrace železa byly získány průměrem všech měření v daném dni a odpovídají výšce sloupců v Obrázku 13.*

měsíc	datum odběru	koncentrace Fe (mg/l)	průměrné měsíční srážky (mm)
duben	13.4.	1,20	-
květen	5.5.	3,50	-
červen	8.6.	1,20	114,8*
červenec	13.7.	2,97	48
srpen	10.8.	2,64	132,4
září	12.9.	3,35	16,4
říjen	17.10.	3,06	12,2
listopad	14.11.	1,49	36,6

\* 29.6. - 30.6.2006

### 5.6.2. Vymývání železa ze systému

Štěrkové lože KČOV je vždy nutné zabezpečit proti průsakům do spodních vod. K izolaci bývá užívána buď fólie z PVC nebo polyethylenu v kombinaci s geotextílií, nebo dobře udusaná jílová vrstva (Vymazal a kol. 1998). Protože na lokalitě ve Slavošovicích se jíl vyskytuje v přirozeném podloží, bylo při konstrukci této KČOV využito druhé možnosti. Pravidelně stanovované vyšší koncentrace železa na odtoku z KČOV než na přítoku vedly k úsudku, že se železo uvolňuje z jílové vrstvy na dně vegetačního pole. Byl proto proveden následující laboratorní pokus, v němž bylo sledováno uvolňování železa z jílu do roztoku.

Z izolační vrstvy byl odebrán reprezentativní vzorek jílu. Už vzhled substrátu nasvědčoval svou rezavou, místy až červenou barvou přítomnosti trojvalného železa. Tento materiál byl za nepřístupu vzduchu a zamezení vysychání převezen do laboratoře. Jíl byl zhomogenizován pomocí síta o velikosti oka 4 mm a navážen do skleněných lahvíček s možností vodotěsného i vzduchotěsného uzavření o objemu 250 ml. Navážka jílu činila vždy 38 g a byla doplněna 200 ml vody. Pro jednu polovinu vzorků byla použita destilovaná voda (D), pro druhou polovinu odpadní voda přítékající po předčištění do vegetačního pole odebraná obvyklým postupem (O). Po uzavření lahvíček byl obsah protřepán, aby unikly bublinky vzduchu z roztoku, a poté prostor

nad hladinou 3 minuty profoukáván heliem za účelem odstranění vzduchu a nastolení anaerobních podmínek. 1. sada byla vyhodnocena ještě ten den po usazení rozptýlených částic – po 4 hodinách, kdy se většina částic usadila a vrchní vrstva roztoku zůstala čirá. Ostatní vzorky byly uloženy do klimaboxu s nastavenou teplotou 10 °C. Taková teplota byla stanovena přibližným průměrem z měřených teplot vody ve vegetačním poli (*Tabulka 5*). Polovina vzorků s destilovanou vodou a polovina s odpadní vodou byla navíc upevněna do třepačky, aby byl sediment v neustálém kontaktu s roztokem a bylo dosaženo maximální míry uvolnění železa z pevné fáze do roztoku. Druhá polovina z obou variant byla ponechána v klidu. Po 5, 10 a 20 dnech byly vyhodnoceny 2., 3. a 4. sada o 4 vzorcích: s destilovanou vodou netřepaná (D) i třepaná varianta (DT) a s odpadní vodou netřepaná (O) i třepaná varianta (OT). Každá třepaná lahvička byla před samotným stanovením ponechána 4 hodiny v klidu, až potom bylo z horní číré vrstvy roztoku odebráno potřebné množství vzorku pro stanovení Fe<sup>II</sup> i celkového železa. Vzorek byl dále zpracován podle obvyklého metodického postupu, filtrací přes analytické sítko o průměru oka 0,1 mm počínaje (kap. 3.3.2.).

Výsledky pokusu byly shrnuty do *Tabulky 12*. V odpadní vodě bylo ještě před kontaktem s jílem přítomno 0,63 mg/l železa, v destilované vodě samozřejmě žádné železo naměřeno nebylo. Po protřepání s jílem a 4 hodinách stání se do destilované vody uvolnilo 0,22 mg/l železa, kdežto koncentrace v odpadní vodě vzrostla o 0,58 mg/l. Do odpadní vody se tedy železo uvolňovalo snáze. Vliv mikroorganismů, přítomných v odpadní vodě a částečně i v jílu, v této chvíli ještě nebyl předpokládán. Ve vodě byl totiž ještě přítomen dostatek rozpuštěného kyslíku, který sloužil jako akceptor elektronů v jejich metabolismu, takže železo jimi nebylo využíváno (*Tabulka 8*). Po 5 dnech byl v „D“ a „DT“ zaznamenán pokles koncentrace železa. Za nepřítomnosti či jen velmi malé početnosti mikroorganismů v těchto vzorcích (pouze přeživší v jílu) se železo z roztoku částečně adsorbovalo zpět na jílové částice. V průběhu experimentu došlo ve variantě „D“ k úplnému opětovnému navázání veškerého železa adsorpcí na jílové částice, po 20 dnech nebylo stanoveno v tomto vzorku žádné železo. Ve třepané variantě „DT“ se díky stálému kontaktu jílových částic s roztokem ustavila rovnováha mezi rychlostí adsorpce a uvolňování železa do roztoku a koncentrace zůstala konstantní až do konce pokusu. (Ve variantě „DT“ nemohla být po deseti dnech, tedy ve 3. sadě, stanovena koncentrace železa, neboť na třepačce došlo nedopatřením k rozbití lahvičky právě s tímto vzorkem. Výsledky po 5 a po 20 dnech však dobře ilustrují situaci.) Po 5 dnech byly ve vzorcích „O“ a „OT“ stanoveny překvapivě nízké

koncentrace železa, nižší než v 1. sadě. V tomto intervalu zřejmě i u těchto vzorků převládla adsorpce Fe na částice jílu. Zdá se tedy, že až dosud převažovaly mikroorganismy spotřebovávající zbytky rozpuštěného kyslíku nad anaerobními, které by železo ze substrátu využívaly, tzn. redukovaly a uvolňovaly do roztoku. Poté, co byl kyslík spotřebován, mohlo dojít k aktivizaci anaerobních mikroorganismů. Po 10 dnech bylo v „O“ i „OT“ přítomno opět množství železa srovnatelné s 1. sadou, po 20 dnech vzrostlo v „O“ na pětinasobek koncentrace v 1. sadě, v „OT“ dokonce na desetinásobek. Ve třepané variantě byly zřejmě jílové částice pro mikroorganismy dostupnější.

*Tabulka 12: Koncentrace celkového železa (mg/l) v jednotlivých vzorcích během pokusu.*

sada	varianta				
	D	DT	O	OT	
0. matrice bez jílu	0,00	0,00	0,63	0,63	
s jílem	1. po 4 hodinách	0,22	-	1,21	-
	2. po 5 dnech	0,04	0,03	0,05	0,23
	3. po 10 dnech	0,01	-	0,79	1,32
	4. po 20 dnech	0,00	0,03	6,19	12,11

*D – s destilovanou vodou*

*DT - s destilovanou vodou, třepáno*

*O – s odpadní vodou*

*OT - s odpadní vodou, třepáno*

Výsledky pokusu prokázaly, že železo je ve studovaném systému díky mikroorganismům přítomným v odpadní vodě uvolňováno z jílu do roztoku.

Zkušenosti s vyplavováním či zadržováním železa jinými umělými mokřady se liší. Někteří autoři píšou o poklesu koncentrace železa na odtoku. Mokřady tedy mohou za určitých podmínek účinně odstraňovat z upravované vody železo. Příkladem je čištění odpadní vody z elektrárny spalující uhlí, kde jsou ve vegetační čistírně za nízkého pH odstraňovány kovy a popel. Železo a jiné kovy se ukládají do sedimentu ve vegetačních polích (Ye a kol. 2001). Wiesner a kol. (2006) dokonce prokázali účast rostlin na odstraňování železa z kyselé vody čerpané z dolů. V mnohých případech je však z umělých mokřadů vymýváno (Vymazal 2005). Jiní autoři dokonce uvádějí, že od jara do podzimu jsou rozpuštěné formy železa v umělém mokřadu sráženy a zadržovány, naopak v zimě z vegetačního pole ve větší míře odtékají (Goulet, Pick 2001).

Vyšší koncentrace železa na odtoku ve srovnání s přítokem však není způsobena pouze vyplavováním železa z podloží. Dílem jistě přispívá i transpirace rostlin a odpar z povrchu vegetačního pole, čímž se roztok pórové vody stává koncentrovanějším.



## 6. ZÁVĚR

Výsledky získané v rámci této práce je možné shrnout do následujících bodů:

- ✧ Byly nalezeny optimální parametry spektrofotometrické metody s 1,10-fenantrolinem pro stanovení koncentrace železa v odpadní vodě.
- ✧ V přitékající odpadní vodě je téměř veškeré železo zredukováno (90 – 100%). Díky aeraci zatopeného systému prostřednictvím kořenů rostlin dochází k oxidaci určité frakce železa (10 – 30%). Přítomnost  $\text{Fe}^{\text{III}}$  ve vzorcích prokazuje fakt, že ve vegetačním poli existují gradienty redoxního potenciálu žádoucí pro účel čištění odpadní vody.
- ✧ Koncentrace celkového železa v přitékající odpadní vodě se obvykle pohybují v rozmezí 0,4 – 1,5 mg/l, na odtoku většinou mezi 1,1 – 10,2 mg/l. Železo se do pórové vody uvolňuje z jílového podloží a současně je jeho koncentrace zvyšována odparem vody a evapotranspirací rostlin.
- ✧ V průběhu sezóny vykazuje procentuální zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  i koncentrace celkového železa velkou variabilitu, která je způsobena kolísáním meteorologických podmínek a následně změnami rychlosti životních dějů v rostlinách i mikrobiální aktivity.
- ✧ Významný podíl železa v odpadní vodě je přítomen ve sražené formě (75 – 95%). Vzhledem k převaze oxidačního stavu  $\text{Fe}^{\text{II}}$  je sraženina tvořena především  $\text{FeS}$ , který způsobuje černý zákal.
- ✧ Pomocí statistických metod se podařilo prokázat rozdíl v procentuálním zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v přitékající odpadní vodě a v pórové vodě na konci vegetačního pole. Neprůkazné však byly rozdíly mezi oběma sledovanými hloubkami, změny v průběhu sledovaných měsíců a odlišnosti mezi transekty. Podmínky pro dobré čisticí vlastnosti poskytuje tedy umělý mokřad celoročně a ve všech svých částech.

Práce zahrnující tyto výsledky byly opublikovány v časopisech Chemické listy (Šíma a kol. 2006) a Chemistry & Biodiversity (Diáková a kol. 2006). Na semináři „Přírodní způsoby čištění odpadních vod IV“ (9.11.2005 v Brně) jsem formou přednášky prezentovala výsledky ze sezóny 2005 a na konferenci „Linking Wetland Science and Scientists from Eastern and Western Europe“, pořádané SWS Europe 30.5. – 3.6.2007 v Třeboni, budou formou posteru představeny výsledky v rozsahu celé této bakalářské práce.

## 7. POUŽITÁ LITERATURA

- Armstrong J., Jones R.E., Armstrong W. (2006):** Rhizome phyllosphere oxygenation in Phragmites and other species in relation to redox potencial, convective gas flow, submergence and aeration pathways. *New phytologist*. 172 (4). 719-731
- Armstrong W., Boatman D.J. (1967):** Some field observations relating the growth of bog plants to conditions of soil aeration. *Journal of ecology*. 55. 101–110
- Armstrong W. (1969):** Rhizosphere oxidation in rice: an analysis of intervarietal differences in oxygen flux from roots. *Physiologia plantarum*. 22. 296-303
- Armstrong W., Armstrong J., Beckett P.M. (1990):** *Constructed Wetlands in Water Pollution Control*. Pergamon Press, Oxford, 41 s.
- Armstrong W., Armstrong J., Beckett P.M., Justin S.H.F.W. (1991):** *Plant Life under Oxygen Deprivation*. SPB Academic Publishing, Hauge, 283 s.
- Batty L.C., Baker A.J.M., Wheeler B.D. (2006):** The effect of vegetation on porewater composition in a natural wetland receiving acid mine drainage. *Wetlands*. 26 (1). 40-48
- Brix H. (1993):** *Constructed Wetlands for Water Quality Improvement*. CRC Press. Boca Raton. 391 s.
- Brümmer G. (1974):** Redoxpotentiale und Redoxprozesse von Mangan-, Eisen- und Schwefelverbindungen in hydromorphen Böden und Sedimenten. *Geoderma*. 12. 207-222
- Buchanan B.B., Grissem W., Jones R.L. (2000):** *Biochemistry and molecular biology of plants*. American society of plant physiologists. Rockville. 1367 s.
- Clément J.C., Shrestha J., Ehrenfeld J.G., Jaffe P.R. (2005):** Ammonium oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron under anaerobic conditions in wetland soils. *Soil biology & biochemistry*. 37 (12). 2323-2328
- ČSN ISO 6332 (75 7433):1995** Jakost vod. Stanovení železa. Fotometrická metoda s 1,10-fenantrolinem.
- De Castro A.F., Ehrlich H.L. (1970):** Reduction of iron oxide minerals by marine bacillus. *Antoine van Leeuwenhoek*. 36. 317-327
- Diáková K., Holcová V., Šíma J., Dušek J. (2006):** The distribution of iron oxidation states in a constructed wetland as an indicator of its redox properties. *Chemistry & Biodiversity*. 3. 1288-1300
- Doškářová Š. (2002):** Validace metod v laboratořích OHS Karviná. Ve sborníku Zajištění kvality analytických výsledků. 2 Theta. Český Těšín.
- Finlayson M., Moser M. (1991):** *Wetlands. Facts on file*, Oxford , UK. 224 s.

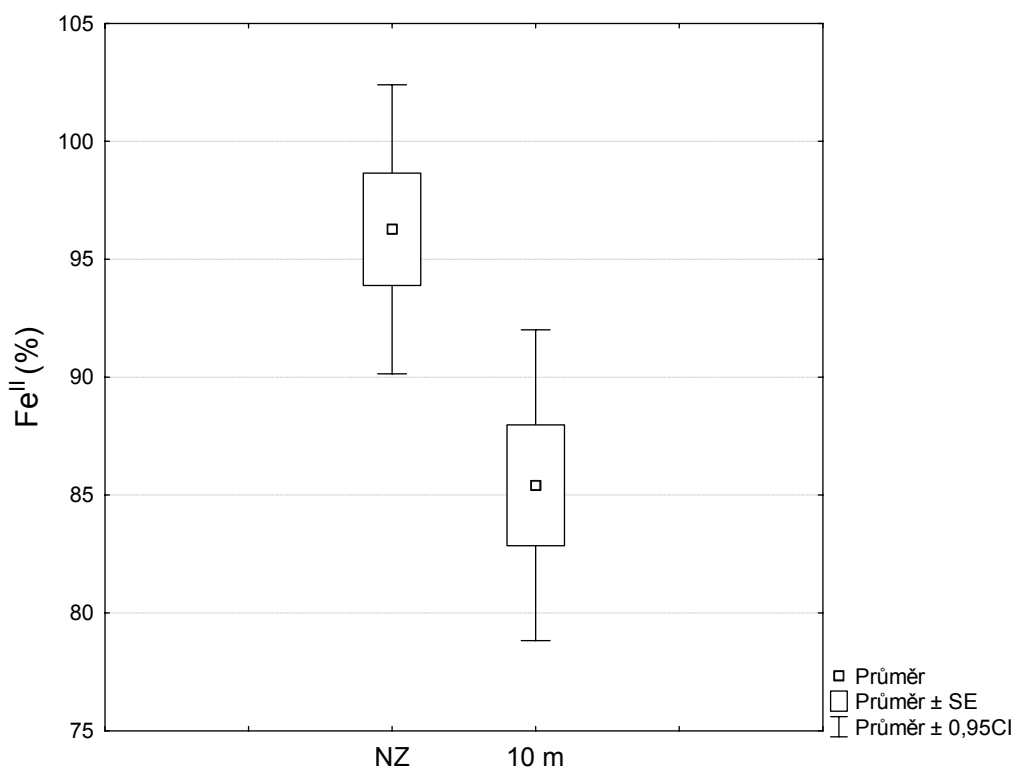
- Gopal B., Květ J., Löffler H., Masing V., Patten B.C. (1990):** Definition and classification. Ve sborníku Wetlands and shallow continental water bodies. SPB Academic publishing by The Hague. The Netherlands. 1. 9-15
- Goulet R.R., Pick F.R. (2001):** Changes in dissolved and total Fe and Mn in young constructed wetland: Implication for retention performance. Ecological engineering. 17. 373-384
- Hammer D.A., Bastian R.K. (1989):** Wetland ecosystems: natural water purifiers? Ve sborníku konference Constructed wetlands for wastewater treatment. Lewis publishers. Chelsea, Michigan.
- Holcová V. (2007):** Stanovení doby zdržení vody v umělém mokřadu v souvislosti s vlivem vegetačního pokryvu. Biologická fakulta, Jihočeská univerzita ČB, magisterská diplomová práce. 53 s.
- Horáková M., Lischke P., Grünwald A. (1986):** Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL. Praha. 389 s.
- Choi J.H., Park S.S., Jaffe P.R. (2006):** Simulating the dynamics of sulfur species and zinc in wetland sediments. Ecological modelling. 199 (3). 315-323
- Jones E.J.P., Nadeau T.L., Voytek M.A., Landa E.R. (2006):** Role of microbial iron reduction in the dissolution of iron hydroxysulfate minerals. Journal of geophysical research-biochemistrysciences. 111 (G1). Art. No. G01012
- Kadlec R.H., Knight R. L. (1996):** Treatment Wetlands. Lewis Publisher USA. 893 s.
- Kalvoda R. (1987):** Electroanalytical methods in chemical and environmental analysis. Plenum Press. New York. 237 s.
- Killham K., Foster R. (1994):** Soil ecology. Cambridge University Press. Cambridge. 242 s.
- Kraemer S.M., Crowley D.E., Kretzschmar R. (2006):** Geochemical aspects of phytosiderophore-promoted iron acquisition by plants. Advances in agronomy. 91. 1-46
- Lepš J. (1996):** Biostatistika. Biologická fakulta Jihočeské univerzity. České Budějovice
- Lovley D.R. (1991):** Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. Microbiological reviews. 55. 259-287
- Lovley D.R. (1995):** Microbial reduction of iron, manganese, and other metals. Advances in agronomy. 54. 175-231
- Malát M. (1973):** Absorbční anorganická fotometrie. Academia. Praha. 896 s.
- Mark F. van der, Lange T. de, Bienfait H.F. (1981):** The role of ferritin in developing primary bean leaves under various light conditions. Planta. 153 (4). 338-342
- Marschner H. (1995):** Mineral nutrition of higher plants. Academic press. London. 889 s.
- Matsui T., Tsuchiya T. (2006):** A method to estimate practical radial oxygen loss of wetland plant roots. Plant and soil. 279 (1-2). 119-128
- Mitch W.J., Gosselink J.G. (2000):** Wetlands. John Wiley & Sons, Inc. Ohio, USA. 920 s.
- Pitter P. (1981):** Hydrochemie. SNTL. Praha. 376 s.

- Pitter P. (1999):** Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT. Praha. 568 s.
- Procházka S., Macháčková I. Krekule J., Šebánek J. a kol. (1998):** Fyziologie rostlin. Academia. Praha. 484 s.
- Rajchard J., Balounová Z., Květ J., Šantrůčková H., Vysloužil D. (2002):** Ekologie. Díl 3, Struktura a funkce ekosystému, produkční ekologie, biogeochemické cykly, chemické faktory prostředí, základy ekologie půdy, ekologie vodního prostředí, aktuální celosvětové ekologické problémy. Knopp. České Budějovice. 197 s.
- Reed S.C. (1993):** Subsurface flow constructed wetlands for wastewater treatment. A technology assessment. U.S. EPA Office of Water, EPA 832-R-93-008
- Romheld V.(1987):** Different strategies for iron acquisition in higher plants. *Physiologia Plantarum*. 70. 231-234
- Rowell D.L. (1981):** The chemistry of soil processes. Wiley. Toronto. 401 s.
- Scott D.A, Jones T.A (1995):** Classification and inventory of wetlands: A global overview. *Plant ecology*. 118 (1-2). 3-16
- Seckbach J. (1982):** Ferreting out the secrets of plant ferritin – a review. *Journal of Plant Nutrition*. 5. 369-394
- Schlesinger W.H. (1997):** Biogeochemistry: an analysis of global change. Academic press. Amsterdam. 588 s.
- Stowell R., Ludwig R., Colt J., Tchobanoglous G. (1981):** Concepts in aquatic treatment system design. *Journal of the environmental engineering division ASCE*. 107 (5). 919-940
- Šetlík I., Seidlová F., Šantrůček J.:** Studijní texty pro předmět Fyziologie rostlin on-line. Katedra fyziologie a anatomie rostlin, Biologická fakulta, Jihočeská univerzita ČB. Dostupné z URL: <<http://kfr.strita-net.com/?act=2/>> [cit. 25.4.2007]
- Šíma J., Holcová V., Dušek J., Diáková K. (2006):** Analytické přístupy ke studiu redoxních vlastností umělého mokřadu. *Chemické listy*. 100. 911-918
- Štěpánek J. (2007):** Plynné produkty mikrobiálního rozkladu v umělém mokřadu využívaném k čištění odpadní vody. Biologická fakulta, Jihočeská univerzita ČB, magisterská diplomová práce. 69 s.
- Trolldenier G. (1988):** Visualisation of oxidizing power of rice roots and of possible participation of bacteria in iron deposition. *Zeitschrift für Pflanzenernahrung und Bodenkunde*. 151 (2). 117-121
- Vymazal J. (1995):** Čištění odpadních vod v kořenových čistírnách. ENVI s.r.o. Třeboň. 147 s.
- Vymazal J. (2005):** Removal of heavy metals in horizontal sub-surface flow constructed wetland. *Journal of environmental science and health part a toxic/hazardous substances & environmental engineering*. 40 (6-7). 1369-1379
- Vymazal J., Cooper P.F., Green M.B., Haberl R. (1998):** Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe. Backhuys Publisher, Leiden. 366 pp

- Weiss J.V., Emerson D., Megonigal J.P. (2005):** Rhizosphere iron(III) deposition and reduction in *Juncus effesus* L.-dominated wetland. Soil science society of America journal. 69 (6). 1861-1870
- Wiessner A., Kuschik P., Buddhawong S., Stottmeister U., Mattusch J., Kaestner M. (2006):** Effectiveness of various small-scale constructed wetland designs for the removal of iron and zinc from acid mine drainage under field conditions. Engineering in life sciences. 6. 584-592
- Ye Z.H., Whiting S.N., Lin Z.-Q., Lytle C.M., Qian J.H. and Terry N. (2001):** Removal and distribution of iron, manganese, cobalt and nickel within a Pennsylvania constructed wetland treating coal combustion by-product leachate. Journal of environmental quality. 30 (4). 1474-1473
- Yu K.W., Faulkner S.P., Tao R. (2006):** Noncontinuous development of reducing conditions in wetland soils. Communications in soil science and plant analysis. 37 (11-12). 1775-1781
- Zemanová K. (2005):** Mikrobiální přeměny uhlíku, dusíku a fosforu v substrátu umělého mokřadu. Biologická fakulta, Jihočeská univerzita ČB, magisterská diplomová práce. 72 s.

## PŘÍLOHA 1:

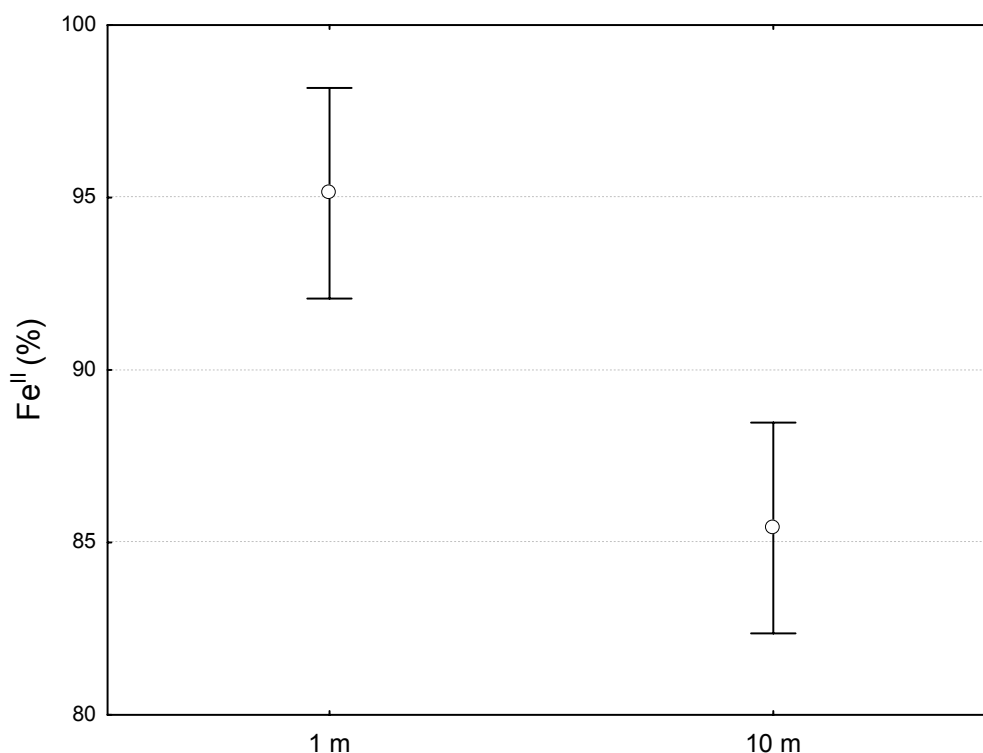
**Rozdíl procentuálního zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  mezi nátokovou zónou a místy vzdálenými 10 m od nátoků.**



Krabicový diagram (Box&Whisker Plot). Procentuální zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  (v %) v nátokové zóně (NZ) a 10 m od nátoků. Rozdíl mezi těmito odběrovými místy je průkazný (párový t-test,  $t = 2,823$ ,  $p < 0,05$ ). SE – střední chyba průměru (Standard Error), CI – konfidenční interval (Confidence Interval).

## PŘÍLOHA 2:

**Rozdíl procentuálního zastoupení Fe<sup>II</sup> ve vegetačním poli v místech vzdálených 1 m a 10 m od nátoky.**

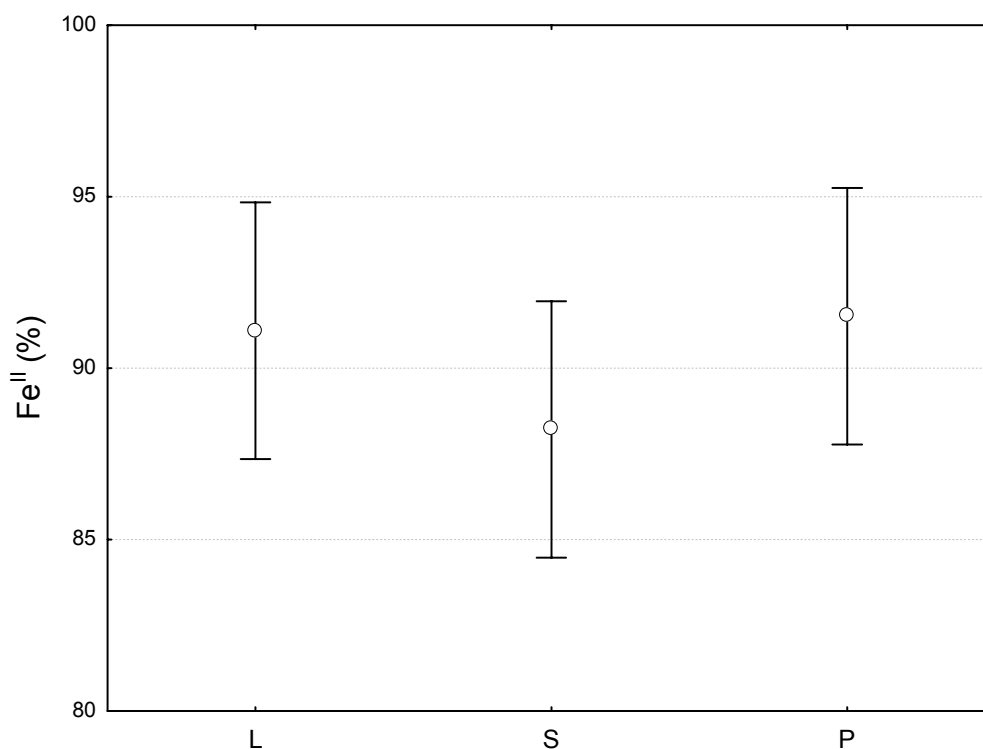


Zastoupení Fe<sup>II</sup> ve vzdálenosti 1 m a 10 m od nátoky (v %; ○ střed diagramu - průměr všech měření, tzn. levý, střední i pravý transekt, hloubka 20 cm i 60 cm, 6 odběrových termínů; ± 95% konfidenční intervaly). Rozdíl mezi příčnými průřezy vegetačním polem ve vzdálenostech 1 m a 10 m od nátoky je průkazný (trojcestná ANOVA;  $F(1,7) = 28,229$ ;  $p < 0,05$ ).



### PŘÍLOHA 3:

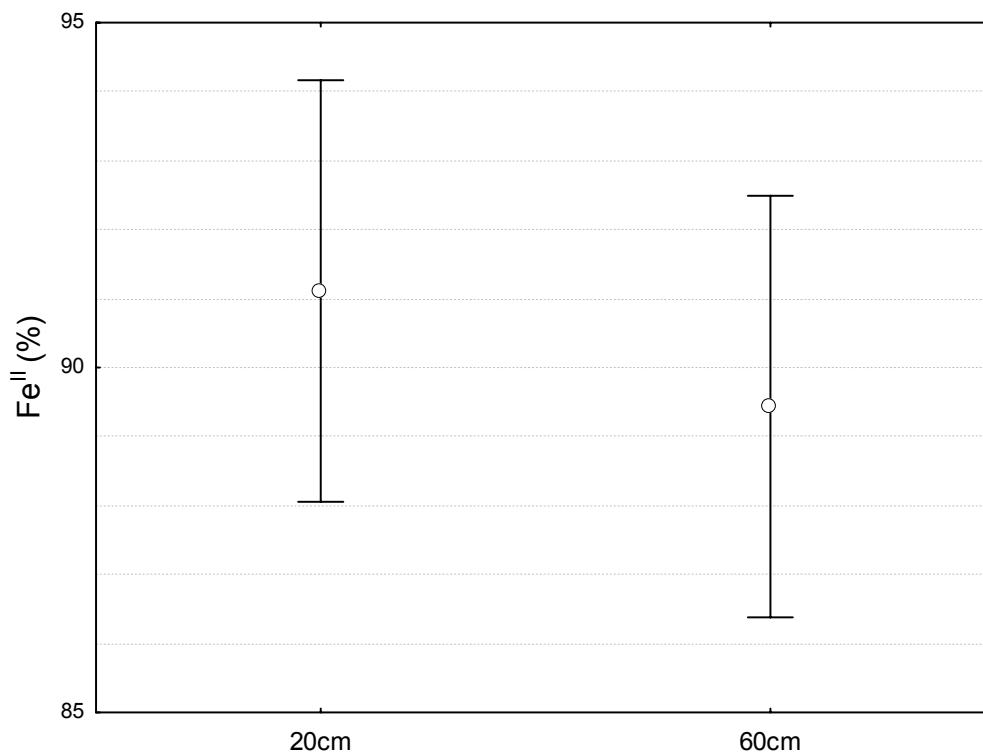
#### **Rozdíly v procentuálním zastoupení Fe<sup>II</sup> v jednotlivých transektech.**



Zastoupení Fe<sup>II</sup> v levém, středním a pravém transektu (v %; ○ střed diagramu - průměr všech měření, tzn. odběrová místa ve vzdálenostech 1 m i 10 m od nátoků, hloubky 20 cm i 60 cm, 6 odběrových termínů; ⊥ 95% konfidenční intervaly). Rozdíl mezi jednotlivými transektami je neprůkazný (trojcestná ANOVA;  $F(2,7) = 1,2896$ ;  $p > 0,05$ ).

## PŘÍLOHA 4:

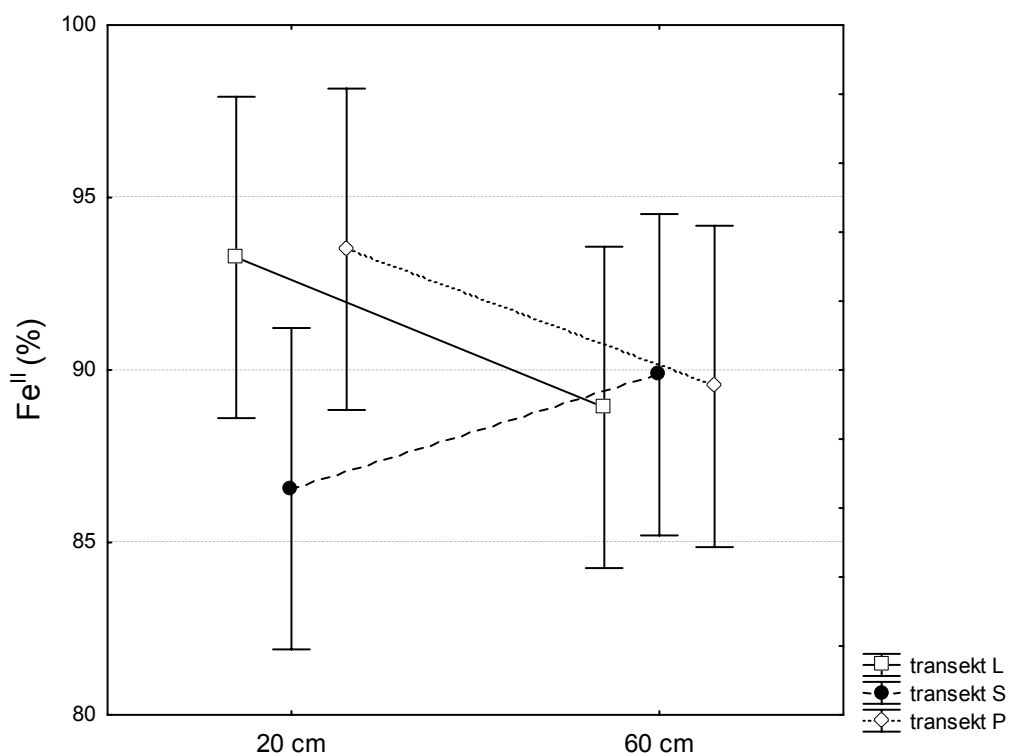
**Rozdíly v procentuálním zastoupení Fe<sup>II</sup> mezi hloubkami 20 cm a 60 cm.**



Zastoupení Fe<sup>II</sup> v hloubce 20 cm a 60 cm (v %; ○ střed diagramu - průměr všech měření, tzn. levý, střední i pravý transekt, odběrová místa ve vzdálenostech 1 m i 10 m od nátok, 6 odběrových termínů; ⊥ 95% konfidenční intervaly). Rozdíl mezi oběma hloubkami je neprůkazný (trojcestná ANOVA;  $F(1,7) = 0,83963$ ;  $p > 0,05$ ). Tento test zahrnuje výsledky ze všech částí vegetačního pole, tedy z míst vzdálených 1 m a 10 m od nátok. Pro přesnější informaci o stavu oxidačních forem železa u konce vegetačního pole byl vytvořen následující graf (PŘÍLOHA 5), který znázorňuje rozdíly v hloubkách jednotlivých transektů pouze v místech vegetačního pole ve vzdálenosti 10 m od nátok.

## PŘÍLOHA 5:

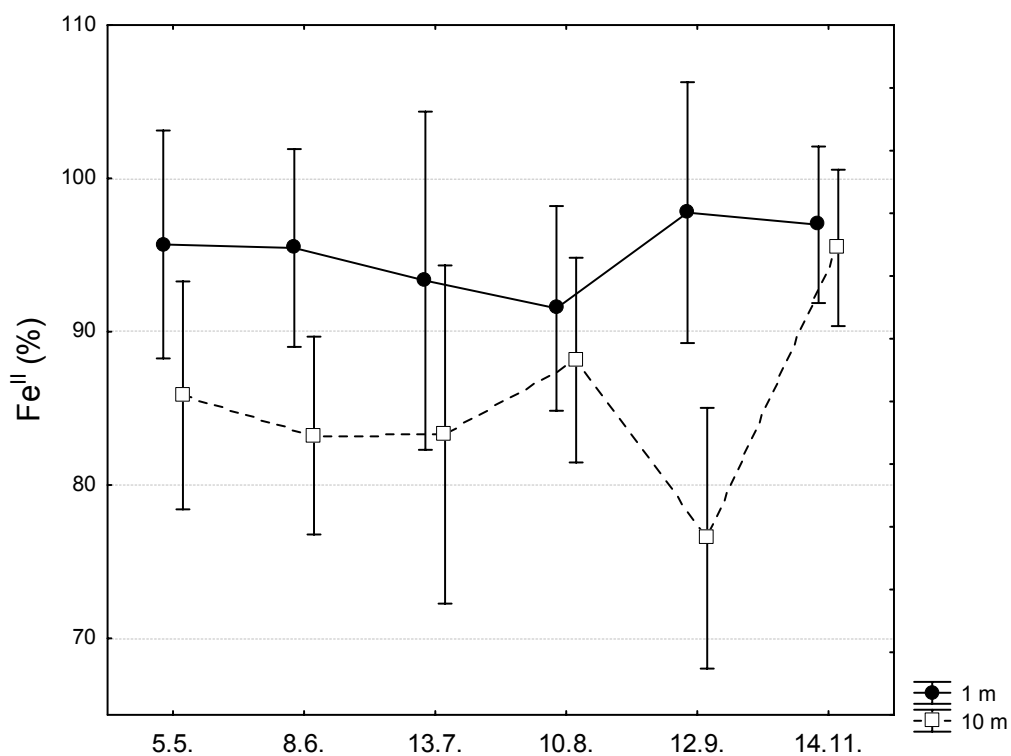
Rozdíly procentuálního zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v obou hloubkách odběrových míst vzdálených 10 m od nátoku, znázorněné zvlášť pro každý transekt.



Zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v příčném průřezu vegetačním polem vedeném ve vzdálenosti 10 m od nátoku (v %,  $\square \bullet \diamond$  střed diagramu - průměr všech měření během sezóny 2006,  $\perp$  95% konfidenční intervaly). Graf ukazuje rozdíly mezi hloubkami 20 cm a 60 cm v jednotlivých transektech. Nejsou však průkazné (interakce hlavních efektů transekt \* hloubka; dvojcenná ANOVA;  $F(2,5) = 2,836$ ;  $p > 0,05$ ).

## PŘÍLOHA 6:

**Rozdíl procentuálního zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  ve vegetačním poli v místech vzdálených 1 m a 10 m od nátoky zobrazené v čase.**



Zastoupení  $\text{Fe}^{\text{II}}$  v odběrových místech vzdálených 1 m a 10 m od nátoky zobrazené v průběhu sezóny 2006 (v %; ●□ střed diagramu - průměr měření všech míst příslušné vzdálenosti od nátoky v 20- i 60-cm hloubce v daném datu; ⊥ 95% konfidenční intervaly).