

VODOHOSPODÁŘSKÉ TECHNICKO-EKONOMICKÉ INFORMACE

VODOPRÁVNÍ PROBLEMATIKA RYBNÍKŮ – II

Věra Kladivová, Arnošt Kult

Klíčová slova

vodní zákon – rybník – povrchová voda – povolení k nakládání s vodami – nebezpečné látky

Souhrn

Článek navazuje na příspěvek, ve kterém se stejní autoři pokusili zamyslet nad vymezením pojmu rybník, v přímé vazbě na české rybníkářství. Doporučili stanovit vhodnější právní pojetí s ohledem na nutnost sjednocení základních pojmů tak, aby bylo možné definovat zcela jednoznačné a vymahatelné požadavky nezbytné k zajištění jakosti povrchové vody, která je ovlivněna chovem ryb a vodních organismů, a to včetně systému její kontroly. V tomto článku je pozornost převážně věnována otázce dodržení hodnot imisních standardů ukazatelů přípustného znečištění povrchových vod (norem environmentální kvality) ve vazbě na udělování výjimek při používání závadných látek podle § 39 vodního zákona. Jde o splnění standardů přílohy č. 3 nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb. (též s ohledem na připravovanou novelu tohoto nařízení). Dále bude nutné zlepšit stav vodních útvarů povrchové vody stojaté u rybníků s plochou nad 0,5 km² – v souladu s příslušnými ustanoveními směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000 ustavující rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky. Řada rybníků je rovněž vymezena jako povrchové vody využívané ke koupání.

Úvod

V rámci obou částí prezentovaného příspěvku jsme se věcně a právně věnovali převážně jen problematice rybníků využívaných k rybníkářství – nikoliv rybníků, které jsou zahrnovány k tzv. rybářským revírům a slouží k výkonu rybářského práva. Pojednávání téma jsme v tomto druhém článku rozdělili na dva problémové okruhy:

- a) právní vymezení nakládání s povrchovými vodami v rybnících, tj. užívání těchto vod pro chov ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů, za účelem podnikání,
- b) způsob stanovení podmínek pro použití závadných látek při nakládání s povrchovými vodami za účelem chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů (tzv. výjimek pro použití závadných látek).

V předešlém článku VTEI „Vodoprávní problematika rybníků – I“ byla provedena především věcná a právní analýza pojmu rybník. Dále jsme se v něm věnovali souvisejícím platným definicím povrchových vod, spolu s oblastí navazujících (ne zcela jednoznačných) majetkoprávních otázek. Domníváme se, že by na úvod bylo rovněž vhodné uvést zásadní, věcně související citaci ze závěrečné části prvního článku:

„Na základě provedené právní analýzy lze prohlásit, že povrchové vody, které jsou užívány při hospodaření v rybnících (při kterém bývají rybníkáři ovlivňovány), nemohou být považovány za majetek související s vlastnictvím rybníků. Jednoznačně jde v daném případě o „res extra commercium“ (věc vyjmutou z tzv. právního obchodu). Z uvedené skutečnosti následně vyplývá především veřejnoprávní charakter všech požadavků, které je nezbytné stanovit vodoprávním úřadem s ohledem na příslušné standardy jakosti povrchové vody.“

V tomto druhém příspěvku jsme se pokusili o právní analýzu ve vazbě na ustanovení § 8, § 9 a § 39 zákona č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů [6], a to především s ohledem na situaci vzniklou po vydání (účinnosti) novely

č. 150/2010 Sb. V té byla mj. věnována větší pozornost otázkám spojeným s rybníky, které lze zahrnout mezi rybníkářsky využívané (podnikatelské činnosti potřebné k zajištění produkce ryb a dalších vodních organismů). Za důležité lze označit především nové znění § 39 odst. 8. Jde o zmocnění k vydání prováděcího předpisu, který určí zásady pro stanovení podmínek použití závadných látek při udělování tzv. výjimek za předpokladu, že budou tyto látky použity ke krmení ryb, k úpravě povrchových nebo podzemních vod pro určité způsoby užívání, např. srážení anorganických živin přímo ve vodním toku, a k odstranění nežádoucí flóry nebo fauny ve vodním toku. Rovněž zde budou určeny zásady pro stanovení podmínek při nakládání s vodami za účelem chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů, ve smyslu § 8 odst. 1 písm. a) bodu 4 zákona č. 254/2001 Sb. [6]; v tomto prováděcím právním předpisu se též vymeží kategorie rybníků z hlediska rybářského hospodaření. Za další změnu lze dále označit nové ustanovení § 9 odst. 8 téhož zákona. S ohledem na připravovaný prováděcí předpis se všem těmto otázkám budeme podrobně věnovat v dalších částech tohoto příspěvku.

S problematikou rybníků přímo i nepřímo souvisí řada evropských směrnic – především směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000 ustavující rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky [20]. V návaznosti na vody určené ke koupání je zapotřebí se zmínit o směrnici Rady 76/160/EHS ze dne 8. prosince 1975 o jakosti vod ke koupání [18] a též o nové směrnici Evropského parlamentu a Rady 2006/7/ES ze dne 15. února 2006 o řízení jakosti vod ke koupání a o zrušení směrnice 76/160/EHS [21].

Povolení k nakládání s povrchovými vodami za účelem chovu ryb

Povolení k nakládání s vodami (§ 8 odst. 1 písm. a) bod 4 zákona č. 254/2001 Sb. [6]) je nutné k užívání těchto vod k chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních organismů, za účelem podnikání. Pokud fyzická nebo právnická osoba toto povolení získá, stává se osobou oprávněnou nakládat s vodami v rozsahu a k účelu po dobu uvedenou v tomto povolení. Navazující § 9 odst. 8 má toto znění:

„Při povolování nakládání s vodami za účelem chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů [§ 8 odst. 1 písm. a) bod 4 a 5], stanoví vodoprávní úřad v povolení podmínky pro použití závadných látek ke krmení ryb a k úpravě povrchových vod na nádržích určených pro chov ryb. V případě, že jsou v povolení stanoveny podmínky pro použití nebezpečných a zvlášť nebezpečných (či zvlášť nebezpečných) látek na dobu delší než 4 roky. Na oprávněného, který zachází se závadnými látkami v rozsahu podmínek podle věty první, se nevztahuje § 39 odst. 1 věta druhá.“

Oprávněná osoba může při chovu ryb následně vnášet do rybníka závadné látky – avšak jen v souladu s příslušnými ustanoveními § 39 zákona č. 254/2001 Sb. [6]. Povolení k nakládání s vodami je vystavováno pouze pro vodní nádrže (rybníky) s chovem ryb (rybníkářství) – na tocích není (na základě platné právní úpravy¹) umožněno. V tomto ustanovení je důležité rovněž to, že je přípustné vydat povolení k nakládání s vodami za účelem chovu ryb v případě použití nebezpečných (či zvlášť nebezpečných) látek nejvýše na čtyřleté období. S ohledem na tu skutečnost, že v novele zákona č. 254/2001 Sb. [6] – zákoně č. 150/2010 Sb. došlo k doplnění přílohy č. 1 o sedimentovatelné tuhé látky, které mají nepříznivý účinek na dobrý stav povrchových vod, lze konstatovat, že téměř vždy (v případě povolení k nakládání s vodami za účelem chovu ryb) bude ve správních řízeních vodoprávních úřadů aplikována jen tato kratší lhůta.

Udělování výjimek při používání závadných látek podle § 39 vodního zákona

Jakost vody v rybníce je často závislá na stavu povodí nad ním a na způsobu hospodaření v rybníce v minulých obdobích. Přítékající voda do

¹ Jde zde především o vazbu na příslušná ustanovení zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství), ve znění pozdějších předpisů [7].

rybníka je většinou dostatečně úživná, rybníky jsou eutrofní až hypertrofní. Tato voda je vodou povrchovou – platí pro ni stejná ustanovení jako pro ostatní povrchové vody. Vodoprávní úřad může k této skutečnosti přihlídnout. V praxi je poměrně běžné to, že existuje soustava rybníků², u které nejsou jednotlivé rybníky ve vlastnictví stejného majitele. V mnoha případech lze zaznamenat rovněž problémy s hospodařením na pozemcích jiných majitelů v povodí nad dotčeným rybníkem³.

V žádosti o povolení většína rybníkářů žádá nejen o povolení krmných dávek, ale i o možnost dalšího zvýšení úživnosti – k tomu dokonce i o povolení používat látky, které odstraní důsledky této nadměrné eutrofizace (algicidy či herbicidy). Vodoprávní úřad následně může (i nemusí⁴) povolit výjimku pro použití závadných látek pro krmení ryb, pro zvýšení úživnosti vody a pro odstranění nežádoucí fauny a flóry.

Seznam závadných látek (zvláště nebezpečné a nebezpečné látky) je uveden (s ohledem na § 39 odst. 3) v příloze č. 1 zákona č. 254/2001 Sb. [6]. Jako nebezpečné látky jsou mj. jmenovány metaloidy, elementární fosfor a anorganické sloučeniny fosforu, sedimentovatelné tuhé látky, které mají nepříznivý účinek na dobrý stav povrchových vod (po novele č. 150/2010 Sb. – viz výše) – rovněž tak biocidy a jejich deriváty neuvedené v seznamu zvláště nebezpečných látek. Zahrnuta je velká část vstupů (pro chov ryb), obzvláště anorganická hnojiva s přídavkem fosfátů a všechny látky používané na odstraňování fauny a flóry (biocidy, sloučeniny mědi). Při použití přípravků na bázi mědi dochází ke kumulaci tohoto kovu v sedimentech a rybníční bahno se tak stává nebezpečným odpadem (viz § 4 zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů [5]), což působí problémy při odbahňování rybníků.

Podle zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů [1], platí, že s ohledem na základní ochranné podmínky národních parků stanovené v § 16 odst. 1 písm. a) tohoto zákona a s ohledem na základní ochranné podmínky národních rezervací podle § 29 písm. a) téhož zákona je v těchto územích zakázáno intenzivně hospodařit a používat prostředky, které mohou způsobit podstatné změny v biologické rozmanitosti, struktuře a funkci ekosystémů. Aplikace biocidů je pak podle stejného zákona zakázána na základě § 26 odst. 3 písm. a) a § 34 odst. 1 písm. b). K tomu, aby mohly být biocidy popřípadě aplikovány i v těchto případech, je nutné žádat o výjimku podle § 43 zákona č. 114/1992 Sb. [1]. Na ostatním území platí, že pokud dochází k porušování základních podmínek ochrany zvláště chráněných rostlin (§ 49 zákona č. 114/1992 Sb. [1]) nebo zvláště chráněných živočichů (§ 50), pak je nutné žádat o výjimku podle § 56 téhož zákona.

Problematika krmiv využívaných pro chov ryb je právně upravena (ryby jsou potravinou určenou pro lidskou spotřebu) zákonem č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů [2], a také zákonem č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů [8].

Při udělování výjimky by vodohospodářský úřad měl zohlednit i to, zda jde o rybník průtočný, nebo o rybník, který se po naplnění vodou zastaví a k ovlivnění toku dochází až při jeho slovení a vypouštění akumulované vody do toku. Tato skutečnost, včetně ohlašovací povinnosti správci navazujícího toku, by měla být rovněž promítnuta do znění připravované vyhlášky, která bude vydána na základě nového znění § 39 odst. 8 zákona č. 254/2001 Sb. [6] (novela č. 150/2010 Sb.).

Povrchová voda po odtoku z rybníka není vodou odpadní – proto musí v každém případě splňovat požadavky stanovené přílohou č. 3 k nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostí povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb. [9], pro tzv. imisní standardy⁵ ukazatelů přípustného znečištění povrchových vod. Pokud tyto vody nejsou vyhlášeny jako vody využívané ke koupání, vody, které jsou nebo se mají stát trvale vhodnými pro život a reprodukci původních druhů ryb, nebo jako zdroje, které jsou využívány pro vodárenské účely (mají určeny limity

také v samostatných právních předpisech), platí standardy s označením „Obecné požadavky – C₉₀⁶“.

Právní úprava rybníkářství a její důsledky

Paragraf 2 písm. b) zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství), ve znění pozdějších předpisů [7], má následující znění:

„Pro účely tohoto zákona se rozumí

b) *rybníkářstvím chov a lov ryb, popřípadě vodních organismů v rybníce nebo ve zvláštním rybochovném zařízení, uskutečňovaný k zajištění produkce ryb a rybiho masa, popřípadě produkce vodních organismů nebo produkce rybí násady pro rybníky anebo pro zarybňování rybářských revírů.*“

K rybníkářství je oprávněn vlastník rybníka nebo vlastník zvláštního rybochovného zařízení, popřípadě jejich nájemce, na základě písemně uzavřené nájemní smlouvy s vlastníkem za účelem rybníkářství. Rybníkářství nesmí být rovněž podle § 12 odst. 1 zákona č. 99/2004 Sb. [7] v rozporu se zvláštními právními předpisy.

Podle § 3 zákona č. 99/2004 Sb. [7] je rybníkář povinen vést evidenci o hospodaření a o dosaženém hospodářském výsledku při chovu a lovu ryb nebo při produkci vodních organismů a na vyžádání ji předložit příslušnému rybářskému orgánu⁷. Podrobnosti stanoví vyhláška č. 197/2004 Sb., k provedení zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské strážní, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství), ve znění pozdějších předpisů [14]. Jde o případy, kdy rybníkář vyprodukoval a uvedl na trh v kalendářním roce více než 150 ks ryb lososovitých (popřípadě lipana podhorního) nebo více než 100 kg ostatních druhů ryb nebo vodních organismů.

Hospodařící subjekt nemá předepsanou obsádku rybníka, její velikost a složení – odpovídá však za způsob hospodaření v rybníce. Výjimkou je situace, kdy je v dané lokalitě nezbytné snížit velikost požadované obsádky s ohledem na zájem ochrany přírody (viz § 48 a § 50 zákona č. 114/1992 Sb. [1] a vyhláška č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění pozdějších předpisů [12]). Obdobně je tomu při jiném využívání vodní nádrže (např. vyhláška č. 135/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, ve znění vyhlášky č. 292/2006 Sb. [13]). Podle § 12 odst. 7 zákona č. 99/2004 Sb. [7] je rybníkář rovněž povinen hospodařit tak, aby nedošlo ke zhoršení jakosti vod a k porušení právem chráněných zájmů jiných osob.

Požadavky evropských směrnic s ohledem na ochranu jakosti povrchových vod a zajištění environmentálních cílů

V předešlém článku VTEI „Vodoprávní problematika rybníků – I“ jsme v dílčí kapitole s názvem „Rybníky o vodní ploše větší než 0,5 km² a vodní útvary povrchové vody stojaté vymezené podle směrnice 2000/60/ES“ [20] objasnili, že v České republice se též nacházejí vodní útvary stojaté povrchové vody, které jsou současně označovány jako rybníky, a to:

Bezdrv, Břežský rybník, Dehtář, Hejtman, Heřmanický rybník, Hvězda, Lenešický rybník, Máchovo jezero, Ratmírovský rybník, Rožmberk, Staňkovský rybník, Svět, Vavřínecký rybník, Žehuňský rybník.

Je zřejmé, že v těchto útvarech je zapotřebí zajistit požadavky kladené na jejich ekologický a chemický stav. Zopakujeme si některé základní definice uvedené v čl. 2 směrnice 2000/60/ES [20]:

„*Stavem povrchových vod*“ se rozumí *obecné vyjádření stavu útvaru povrchové vody určené buď ekologickým, nebo chemickým stavem, podle toho, který je horší*⁸.

„*Dobrým stavem povrchových vod*“ se rozumí *takový stav útvaru povrchové vody, kdy je jeho jak ekologický, tak chemický stav přinejmenším „dobrý“*⁹.

„*Ekologickým stavem*“ se rozumí *vyjádření kvality struktury a funkce vodních ekosystémů spojených s povrchovými vodami klasifikovanými v souladu s přílohou V*¹⁰.

² Tento pojem jsme podrobně definovali v předešlém článku VTEI „Vodoprávní problematika rybníků – I“.

³ Jde mj. o problematiku zranitelných oblastí definovaných v § 33 zákona č. 254/2001 Sb. [6]. Prováděcím předpisem je nařízení vlády č. 103/2003 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a o používání a skladování hnojiv a statkových hnojiv, střídání plodin a provádění protierozních opatření v těchto oblastech, ve znění nařízení vlády č. 219/2007 Sb. a nařízení vlády č. 108/2008 Sb. [11].

⁴ Mnohdy se opomíjí ta skutečnost, že jde jen o „výjimku“. Z toho vyplývá, že není dán „automaticky“ nárok těm rybníkářům, kteří mají povolenou nakládání s (povrchovými) vodami podle § 8 odst. 1 písm. a) bod 4 a 5 zákona č. 254/2001 Sb. [6] (užívání těchto vod pro chov ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních organismů za účelem podnikání).

⁵ Jde o pojem používaný v stávajícím platném nařízení. S ohledem na uvažovanou novelu tohoto nařízení lze nyní za relevantní označit především pojem „norma environmentální kvality“ – a to v souladu s v současnosti platným § 2a zákona č. 254/2001 Sb. [8], kde je stanoveno, že „*normou environmentální kvality se rozumí koncentrace znečišťujících látek nebo skupiny látek ve vodě, sedimentech nebo živých organismech, která nesmí být překročena z důvodů ochrany lidského zdraví a životního prostředí*“.

⁶ Hodnota, která je dodržena, nebude-li roční počet vzorků nevyhovujících tomuto standardu větší než 10 % (hodnota s pravděpodobností nepřekročení 90 %). V současnosti se připravuje novela tohoto nařízení – zde bude používán již jen pojem „norma environmentální kvality“ (viz poznámky pod čarou č. 5 a 17).

⁷ Má též mj. povinnost podle § 2f, odst. 3 a 4 zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů [3], být zaevidován jako zemědělský podnikatel.

⁸ Anglické znění je následující: „*Surface water status*“ is the general expression of the status of a body of surface water, determined by the poorer of its ecological status and its chemical status.“

⁹ Anglické znění je následující: „*Good surface water status*“ means the status achieved by a surface water body when both its ecological status and its chemical status are at least “good“.

¹⁰ Anglické znění je následující: „*Ecological status*“ is an expression of the quality of the structure and functioning of aquatic ecosystems associated with surface waters, classified in accordance with Annex V.“

„Dobrým ekologickým stavem“ se rozumí stav útvaru povrchové vody klasifikovaný v souladu s přílohou V¹¹.

„Dobrým ekologickým potenciálem“ se rozumí stav silně ovlivněného nebo umělého vodního útvaru podle klasifikace v souladu s příslušnými ustanoveními přílohy V¹².

„Dobrým chemickým stavem povrchových vod“ se rozumí chemický stav nezbytný ke splnění environmentálních cílů pro povrchové vody podle čl. 4 odst. 1 písm. a), tj. takový chemický stav útvaru povrchové vody, ve kterém koncentrace znečišťujících látek nepřesahují normy environmentální kvality stanovené v příloze IX, podle čl. 16 odst. 7 a podle dalších příslušných právních předpisů Společenství, které stanoví normy environmentální kvality na úrovni Společenství¹³.

S ohledem na rozsah tohoto příspěvku se této problematice můžeme věnovat jen stručně. V souladu se směrnicí 2000/60/ES [20] jde u výše vyjmenovaných 14 rybníků o silně ovlivněné vodní útvary – posuzován bude vždy tzv. ekologický potenciál, a to podle přílohy V uvedené směrnice¹⁴. Pokud jde o chemický stav – tam musí být splněny (jako u všech ostatních povrchových vod) všechny požadavky nutné k zajištění dobrého chemického stavu¹⁵ (dodržení příslušných norem environmentální kvality).

Další požadavky (nejen u výše vyjmenovaných velkých rybníků) bude zapotřebí splnit u těch povrchových vod, které jsou využívány ke koupání¹⁶. Základní požadavky na jakost vod ke koupání stanovila Směrnice Rady 76/160/EHS [18] – ta je v platnosti pouze do 31. 12. 2014. Následně bude plně nahrazena směrnicí 2006/7/ES [21]. Transpozice požadavků této nové směrnice bude provedena jak novelou nařízení vlády č. 61/2003 Sb. (ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb.¹⁷) [9], tak novelou zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů [4] (s následnou novelizací vyhlášky č. 135/2004 Sb. [13]).

Nezbytné požadavky, které bude nutné vymezit v nové vyhlášce vydané na základě § 39 odst. 8 vodního zákona

Doposud byl při rozhodování vodoprávních úřadů používán pouze metodický pokyn pro posuzování žádostí o výjimku z ustanovení § 39 odst. 1 zákona č. 254/2001 Sb., pro použití závadných látek ke krmení ryb a k úpravě povrchových vod na nádržích určených pro chov ryb [17]. Podle dílky tohoto pokynu bylo možné „pro zabezpečení hospodaření v jednotlivých kategoriích obhospodařování rybníků“ aplikovat krmiva, anorganická (průmyslová) hnojiva či organická hnojiva. Dávky uvedené v tomto metodickém pokynu závisely pouze na tom, zda byl daný rybník pojímán jako tzv. polointenzifikační či intenzifikační. V mnoha případech však docházelo k výraznému překročení hodnot stanovených v příloze č. 3 k nařízení vlády č. 61/2003 Sb., [9] (tzv. imisních standardů ukazatelů příпустného znečištění povrchových vod). Tento pokyn se zabýval všemi vstupy (při chovu ryb) – krmením ryb, hnojením rybníků a okrajově obsádkou. Chápal rybníkářství jen jako zemědělské odvětví. Vliv hospodaření na jakost vody byl značně opomíjen. Novelizace metodického pokynu byla zastavena – právní úprava má být obsažena ve vyhlášce vydané na základě nového zmocnění uvedeného v § 39 odst. 8 zákona č. 254/2001 Sb. [6]:

¹¹ Anglické znění je následující: „*“Good ecological status“ is the status of a body of surface water, so classified in accordance with Annex V.*“

¹² Anglické znění je následující: „*“Good ecological potential“ is the status of a heavily modified or an artificial body of water, so classified in accordance with the relevant provisions of Annex V.*“

¹³ Anglické znění je následující: „*“Good surface water chemical status“ means the chemical status required to meet the environmental objectives for surface waters established in Article 4(1)(a), that is the chemical status achieved by a body of surface water in which concentrations of pollutants do not exceed the environmental quality standards established in Annex IX and under Article 16(7), and under other relevant Community legislation setting environmental quality standards at Community level.*“

¹⁴ Konkrétně podle tabulky 1.2.5 – „Definice maximálního, dobrého a středního ekologického potenciálu silně ovlivněných nebo umělých vodních útvarů“.

¹⁵ Tento požadavek na dosažení dobrého chemického stavu povrchových vod a obdobně i na dosažení dobrého ekologického potenciálu byl již zohledněn v prvních zpracovaných plánech oblastí povodí. Další upřesnění lze předpokládat také v navazujících plánech, které budou pravidelně zpracovávány vždy po šesti letech (jde celkem o tři plány a období, která budou věnována jejich sestavování, schvalování a posouzení splnění navrhovaných programů opatření).

¹⁶ Příslušný imisní standard platí i pro povodí nad daným koupacím místem (oblast koupání).

¹⁷ Autoři v době zpracovávání tohoto článku měli k dispozici pouze předběžný (neoficiální) materiál zasláný do mezirezortního řízení. Laskavý čtenář necht promíne, pokud mezitím dojde k oficiálnímu vydání ve Sbírce zákonů. Na základě novely zákona č. 254/2001 Sb. vydané pod č. 150/2010 Sb. byl zaveden do českého právního řádu pojem „norma environmentální kvality“ – ten předpokládá novela vládního nařízení (podle dostupných informací) použije, navíc pak bude provedena podrobná specifikace u jednotlivých ukazatelů (v nové příloze č. 3) – a to nejen obecně, ale i s ohledem na tzv. požadavky pro užívání vody. Ve sloupci tabulky nadepsaném „koupání (§ 34 zákona)“ se např. předpokládá pro celkový fosfor hodnota 0,05 mg/l (ta se nemění, bude stejná jako v NV 229/2007 Sb.). Jde zde o tzv. zprůhledněný požadavek, který by měl platit v daném povodí nad nádrží, která je (bude) využívána ke koupání. Uvedená hodnota je zcela oprávněná, a to s ohledem na velmi často se vyskytující neuměrné ohrožení jakosti těchto vod ve vegetačním období (výskyt sinic).

„Zásady pro stanovení podmínek pro použití závadných látek v případě výjimek podle odstavce 7 písmena b), d) a e) a při nakládání s vodami za účelem chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů a vymezení kategorií rybníků z hlediska rybníkářského hospodaření stanoví Ministerstvo životního prostředí a Ministerstvo zemědělství vyhláškou.“

Vzhledem k dosavadnímu právně nejednoznačně vymezenému vztahu rybníkářství k jakosti navazujících povrchových vod by se tato nová vyhláška měla udevenou problematikou prioritně zabývat. Stav povrchových vod je věcí jednou, výsledek hospodaření pro rybníkáře věcí druhou – vždy však platí, že v žádném případě nesmí docházet k nepřipustnému zvýšení obsahu živin v povrchové vodě pod výpustmi rybníků. Navrhovaný prováděcí právní předpis by měl především směřovat k zajištění udeveného environmentálního požadavku. Aplikace krmiv, anorganických průmyslových hnojiv či organických hnojiv by mohla být povolena (jde o výjimku, nikoliv o předem daný nárok⁴) pouze tehdy, pokud nedojde k překročení požadavků stanovených v příloze č. 3 nařízení vlády č. 61/2003 Sb. [9]. V případě jejich nedodržení (s výjimkou prokazatelně nevyhovující kvality přítékající povrchové vody do rybníka či rybníční soustavy) by se následně mohlo jednat i o správní delikt podle § 125g zákona č. 254/2001 Sb. [6].

Závěry a doporučení

Autoři obou (včetně navazujících) odborných příspěvků ve VTEI, které byly věnovány vodoprávní problematice rybníků, se pokusili nejen o právní analýzu pojmu rybník (spolu s oblastí navazujících ne zcela jednoznačných majetkoprávních otázek), ale také o vymezení ochrany jakosti povrchových vod v souvislosti s nakládáním s povrchovými vodami v rybnících (tj. užíváním těchto vod pro chov ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů, za účelem podnikání).

Ze závěru uvedeného v prvním článku vyplývá především ta skutečnost, že povrchové vody, které jsou užívány při hospodaření v rybnících, nemohou být v žádném případě považovány za majetek související s vlastnictvím rybníků. V daném případě jde jednoznačně o „res extra commercium“ (věc vyjmutou z tzv. právního obchodu). Souhrnně lze konstatovat, že charakter povrchových vod (s výjimkou obecného nakládání s povrchovými vodami) je především veřejnoprávní. Tyto vody jsou fyzickým a právnickým osobám podnikajícím v oblasti chovu ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů, státem (v roli garanta veřejného zájmu) pouze „poskytnuty“ (a to zcela bezplatně na rozdíl od odebírané povrchové či podzemní vody). Proto následně nesmí být jakoukoliv podnikatelskou činností znehodnoceny nato-lik, aby tím byla poškozen veřejný zájem (viz § 1 zákona č. 254/2001 Sb. [6]), tj. ochrana povrchových a podzemních vod).

S ohledem na druhý příspěvek lze dojít k závěru, že vody, které jsou „vypouštěny“¹⁸ z rybníků, musí (ve všech případech) splňovat požadavky kladené na povrchové vody stanovené v příloze č. 3 nařízení vlády č. 61/2003 Sb.¹⁹ [9]. Připravená vyhláška vydaná na základě § 39 odst. 8 zákona č. 254/2001 Sb. [6] by měla být navržena tak, aby v rámci povolení k užívání povrchových vod pro chov ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů (v souvislosti s udělováním výjimek k použití závadných látek podle § 39 odst. 7 zákona č. 254/2001 Sb. [6]), případně nedocházelo k možnému nesouladu s požadavky uvedeného (novelizovaného) vládního nařízení¹⁹. Rovněž by měly být vždy splněny příslušné požadavky komunitárního práva – především směrnice 2000/60/ES [20].

Potřeba chystané legislativní změny souvisí s nezbytným zlepšením stavu některých nevyhovujících povrchových vod v České republice. Jejich jakost negativně ovlivňují bodové zdroje znečištění a tzv. plošné znečištění – v nemalé míře však též užívání povrchových vod pro chov ryb nebo vodní drůbeže, popřípadě jiných vodních živočichů. Tato skutečnost byla např. doložena ve Zprávě o stavu vodního hospodářství České republiky v roce 2009 – nevyhovující kvalita vody v Lužnici (Sezimovo Ústí–Třeboň) odpovídá dokonce nejhorší V. třídě jakosti (podle ČSN 75 7221 Jakost vod – Klasifikace jakosti povrchových vod).

Literatura

- [1] Zákon č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění zákonného opatření Předsednictva České národní rady č. 347/1992 Sb., zákona č. 289/1995 Sb., nálezu Ústavního soudu České republiky vyhlášeného pod č. 3/1997 Sb., zákona č. 16/1997 Sb., zákona č. 123/1998 Sb., zákona č. 161/1999 Sb., zákona č. 238/1999 Sb., zákona č. 132/2000 Sb., zákona č. 76/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 100/2004 Sb., zákona č. 168/2004 Sb., zákona č. 218/2004 Sb., zákona č. 387/2005 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 186/2006 Sb., zákona č. 222/2006 Sb., zákona č. 267/2006 Sb., zákona č. 124/2008 Sb., zákona č. 167/2008 Sb., zákona č. 312/2008 Sb., zákona č. 223/2009 Sb., zákona č. 227/2009 Sb., zákona č. 281/2009 Sb., zákona č. 291/2009 Sb., zákona č. 349/2009 Sb. a zákona č. 381/2009 Sb. (úplné znění 18/2010 Sb.).
- [2] Zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění zákona č. 244/2000 Sb., zákona č. 147/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 21/2004 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 553/2005 Sb., zákona č. 214/2007 Sb. a zákona č. 227/2009 Sb.

¹⁸ Uvádíme úmyslně v uvozovkách. V daném případě nejde o odpadní vody, ale vždy o povrchové vody. Ty se vyskytují (s ohledem na definice uvedenou v § 2 zákona č. 254/2001 Sb. [6]) jak v daném rybníce, tak ve vodním toku pod ním.

¹⁹ V době zpracovávání tohoto článku byl k dispozici pouze předběžný návrh zasláný do mezirezortního řízení.

- [3] Zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění zákona č. 62/2000 Sb., zákona č. 307/2000 Sb., zákona č. 128/2003 Sb., zákona č. 85/2004 Sb., zákona č. 317/2004 Sb., zákona č. 94/2005 Sb., zákona č. 441/2005 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 230/2006 Sb., zákona č. 267/2006 Sb., nález Ústavního soudu vyhlášeného pod č. 409/2006 Sb., zákona č. 35/2008 Sb., zákona č. 95/2009 Sb., zákona č. 109/2009 Sb., zákona č. 227/2009 Sb. a zákona č. 291/2009 Sb. (úplné znění 385/2009 Sb.).
- [4] Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 254/2001 Sb., zákona č. 274/2001 Sb., zákona č. 13/2002 Sb., zákona č. 76/2002 Sb., zákona č. 86/2002 Sb., zákona č. 120/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 274/2003 Sb., zákona č. 356/2003 Sb., zákona č. 167/2004 Sb., zákona č. 326/2004 Sb., zákona č. 562/2004 Sb., zákona č. 125/2005 Sb., zákona č. 253/2005 Sb., zákona č. 381/2005 Sb., zákona č. 392/2005 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 59/2006 Sb., zákona č. 74/2006 Sb., zákona č. 186/2006 Sb., zákona č. 189/2006 Sb., zákona č. 222/2006 Sb., zákona č. 342/2006 Sb., zákona č. 264/2006 Sb., zákona č. 110/2007 Sb., zákona č. 296/2007 Sb., zákona č. 378/2007 Sb., zákona č. 124/2008 Sb., zákona č. 130/2008 Sb., zákona č. 274/2008 Sb., zákona č. 227/2009 Sb. a zákona č. 301/2009 Sb.
- [5] Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů, ve znění zákona č. 477/2001 Sb., zákona č. 76/2002 Sb., zákona č. 275/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 356/2003 Sb., zákona č. 167/2004 Sb., zákona č. 188/2004 Sb., zákona č. 317/2004 Sb., zákona č. 7/2005 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 186/2006 Sb., zákona č. 222/2006 Sb., zákona č. 314/2006 Sb., zákona č. 296/2007 Sb., zákona č. 25/2008 Sb., zákona č. 34/2008 Sb., zákona č. 383/2008 Sb., zákona č. 9/2009 Sb., zákona č. 157/2009 Sb., zákona č. 223/2009 Sb., zákona č. 227/2009 Sb., zákona č. 281/2009 Sb., zákona č. 291/2009 Sb., zákona č. 297/2009 Sb., zákona č. 326/2009 Sb. a zákona č. 154/2010 Sb.
- [6] Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění zákona č. 76/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 274/2003 Sb., zákona č. 20/2004 Sb., zákona č. 413/2005 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 186/2006 Sb., zákona č. 222/2006 Sb., zákona č. 342/2006 Sb., zákona č. 25/2008 Sb., zákona č. 167/2008 Sb., zákona č. 181/2008 Sb., zákona č. 157/2009 Sb., zákona č. 227/2009 Sb., zákona č. 281/2009 Sb. a zákona č. 150/2010 Sb.
- [7] Zákon č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské stráž, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství), ve znění zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 124/2008 Sb., zákona č. 41/2009 Sb. a zákona č. 227/2009 Sb.
- [8] Zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů, ve znění zákona č. 124/2008 Sb., zákona č. 296/2008 Sb., zákona č. 141/2009 Sb. a zákona č. 291/2009 Sb.
- [9] Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb.
- [10] Nařízení vlády č. 71/2003 Sb., o stanovení povrchových vod vhodných pro život a reprodukci původních druhů ryb a dalších vodních živočichů a o zjišťování a hodnocení stavu jakosti těchto vod, ve znění nařízení vlády č. 169/2006 Sb.
- [11] Nařízení vlády č. 103/2003 Sb., o stanovení zranitelných oblastí a o používání a skladování hnojiv a statkových hnojiv, střídání plodin a provádění protierozních opatření v těchto oblastech, ve znění nařízení vlády č. 219/2007 Sb. a nařízení vlády č. 108/2008 Sb.
- [12] Vyhláška č. 395/1992 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, ve znění vyhlášky č. 105/1997 Sb., vyhlášky č. 200/1999 Sb., vyhlášky č. 85/2000 Sb., vyhlášky č. 190/2000 Sb., vyhlášky č. 116/2004 Sb., vyhlášky č. 381/2004 Sb., vyhlášky č. 573/2004 Sb., vyhlášky č. 574/2004 Sb., vyhlášky č. 452/2005 Sb., vyhlášky č. 175/2006 Sb., vyhlášky č. 425/2006 Sb., vyhlášky č. 96/2007 Sb., vyhlášky č. 141/2007 Sb., vyhlášky č. 267/2007 Sb., vyhlášky č. 60/2008 Sb., vyhlášky č. 75/2008 Sb., vyhlášky č. 30/2009 Sb., vyhlášky č. 262/2009 Sb. a vyhlášky č. 189/2010 Sb.
- [13] Vyhláška č. 135/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch, ve znění vyhlášky č. 292/2006 Sb.
- [14] Vyhláška č. 197/2004 Sb., k provedení zákona č. 99/2004 Sb., o rybníkářství, výkonu rybářského práva, rybářské stráž, ochraně mořských rybolovných zdrojů a o změně některých zákonů (zákon o rybářství), ve znění vyhlášky č. 239/2006 Sb., vyhlášky č. 20/2010 Sb. a vyhlášky č. 122/2010 Sb.
- [15] Vyhláška č. 450/2005 Sb., o náležitostech nakládání se závadnými látkami a náležitostech havarijního plánu, způsobu a rozsahu hlášení havárií, jejich zneškodňování a odstraňování jejich škodlivých následků.
- [16] Vyhláška č. 3/2008 Sb., o provedení některých ustanovení zákona č. 151/1997 Sb., o oceňování majetku a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, ve znění vyhlášky č. 456/2008 Sb. a vyhlášky č. 460/2009 Sb.
- [17] Metodický pokyn pro posuzování žádostí o výjimku z ustanovení § 39 odst. 1 zákona č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů pro použití závadných látek ke krmení ryb [§ 39 odst. 7 písm. b) vodního zákona] a k úpravě povrchových vod na nádržích určených pro chov ryb [§ 39 odst. 7 písm. d) vodního zákona] (Ministerstvo životního prostředí, Č.j. 800/418/02, Ministerstvo zemědělství, Č.j. 35508/2002-6000) z 28. 11. 2002.
- [18] Směrnice Rady 76/160/EHS ze dne 8. prosince 1975 o jakosti vod ke koupání.
- [19] Směrnice Rady 91/271/EHS ze dne 21. května 1991 o čištění městských odpadních vod.
- [20] Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/60/ES ze dne 23. října 2000 ustavující rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky.
- [21] Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2006/7/ES ze dne 15. února 2006 o řízení jakosti vod ke koupání a o zrušení směrnice 76/160/EHS.

Zpracováno s podporou výzkumného záměru MZP0002071101.

Ing. Věra Kladivová, Ing. Arnošt Kult
VÚV TGM, v.v.i., Praha
vera_kladivova@vuv.cz, arnost_kult@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.

Water rights issues of fishponds – II (Kladivová, V.; Kult, A.)

Key words

Water Act – fishpond – surface water – permission for water use – hazardous substances

Article builds on the previous paper, in which the same authors attempted to consider the specification of the pond in the relation to the Czech fish farming. The authors recommended to determine appropriate legal concept with regard to the need of unification of the basic concepts, so that it will be possible to define unambiguous and enforceable requirements to ensure the quality of surface water that is affected by fish and aquatic organisms, including the control system. The attention in this second article is mainly addressed to respecting the values of acceptable pollution quality standards of surface water (environmental quality standards) in relation to the granting of exceptions to the use of harmful substances according to § 39 of the Water Act. The standards of Annex 3 of Government Regulation No. 61/2003 Coll. on the indicators and values of permissible pollution of surface water and wastewater, permit requirements for wastewater discharge into surface water and into sewerage systems and on sensitive areas, as amended by Government Regulation No. 229/2007 Coll. (also with regard to the forthcoming amendment of the regulation) must be met. It will be also necessary to improve the status of water bodies of standing surface water in ponds with an area of 0.5 square kilometers – in accordance with the relevant provisions of the Directive 2000/60/EC of the European Parliament and Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. Many ponds are also defined as surface water used for bathing.

Souhrn

Článek se zabývá stanovením vybrané skupiny léčiv metodou kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí a prekoncentrací analytů extrakcí na pevné fázi v on-line a off-line uspořádání. Uvedeny jsou výsledky analýz reálných vzorků povrchové a odpadní vody.

Úvod

Léčiva patří do skupiny látek označovaných jako PPCP – Pharmaceutical and Personal Care Products (léčiva a výrobky osobní potřeby), kterým je v současné době věnována velká pozornost. Spotřeba léků rychle stoupá. Neustále se objevují nové přípravky a zvyšuje se počet léků, které je možno získat bez předpisu. Farmaceutický průmysl je nejrychleji se rozvíjícím průmyslovým odvětvím [16].

Farmaceutické látky jsou uvolňovány do životního prostředí jako odpad z výroby léků, likvidací nepoužitých nebo prošlých produktů a výkaly [2, 9, 11].

STANOVENÍ LÉČIV V POVRCHOVÝCH A ODPADNÍCH VODÁCH METODOU KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE S HMOTNOSTNÍ DETEKČÍ

Danica Pospíchalová, Pavla Martinková, Roman Jobánek, Miroslav Váňa

Klíčová slova

stanovení hormonů a jiných léčiv – kapalinová chromatografie – hmotnostní detekce – extrakce tuhou fází – povrchová a odpadní voda

Jsou uvolňovány kontinuálně, a proto nemusí být perzistentní, aby způsobily negativní účinky. Vzhledem k nízkým koncentracím léčiv v životním prostředí může být toxický účinek spíše chronický než akutní.

Do životního prostředí pronikají hlavně městskými odpadními vodami, je proto potřebné znát jejich chování v biologických čistírnách odpadních vod včetně dopadu na recipienty. Z toho vyplývá zvyšující se zájem o monitoring farmakologických přípravků v životním prostředí. Byla již publikována řada prací uvádějících koncentrační hladiny léčiv v hydrosféře v různých zemích [2, 3, 5, 8].

V České republice je tato problematika studována poměrně krátce. Z tohoto důvodu existuje zatím málo informací o rozšíření výše uvedených látek v životním prostředí.

Výběr látek pro naše analýzy vycházel ze znalosti o distribuovaném množství farmakologicky účinných individuál a jejich případném vlivu na vodní prostředí. Vybrány byly tyto látky: ibuprofen jako nesteroidní protizánětlivé léčivo, kyselina salicylová (metabolit kyseliny acetylsalicylové), diklofenak (antirevmatikum), karbamazepin (antiepileptikum), kyselina klofibrová (regulátor lipidů v krvi, metabolit fibrátů). Dále pak látky s negativními estrogenními účinky (přirozeně se vyskytující estrogenní hormony) estron (E1), 17 β -estradiol (E2) a syntetický analog E2 – 17 α -ethynylestradiol (EE2) používaný jako součást hormonálních léčiv, např. antikoncepčních přípravků nebo léčiv pro hormonální substituční terapii.

Možnosti stanovení

K analýze reziduí léčiv se nejčastěji používá plynová chromatografie (GC/MS) nebo kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC/MS). Protože jsou tyto látky většinou málo těkavé, je nutno je před GC/MS stanovením derivatizací převést na těkavější sloučeniny [15–17]. Z tohoto důvodu je výhodné použít ke stanovení kapalinovou chromatografii. V naší předchozí práci [1] byla využívána detekce v UV oblasti, která byla ale málo citlivá. Nové přístrojové vybavení umožnilo zavést metodu LC/MS [2–14].

Vzhledem k nízkým koncentracím látek, které je třeba stanovit, je nutné analyty před LC/MS analýzou prekoncentrovat [12].

Extrakce tuhou fází (solid phase extraction – SPE) již prakticky nahradila klasickou extrakci kapalinou–kapalina, protože má řadu výhod [10, 12]: větší výtěžnosti, lepší selektivitu, přesnost, reprodukovatelnost, nižší spotřeba rozpouštědel, kratší dobu práce a umožňuje automatizaci. K SPE se používají kolony nebo disky s polymerními sorbenty, nejčastěji jsou uváděny kolony Oasis HLB (Waters) [6, 7, 8, 9, 11, 12] nebo Strata X (Phenomenex) [4, 5, 7, 8, 12] či Lichrolute ENV+ [8, 12]. Vzhledem k nutnosti zpracovávat velký objem vzorku (až 1–2 l) je výhodné pracovat s disky, které spojují funkci filtrační membrány a sorbentu a filtrace na nich je mnohem rychlejší [7]. Nejčastěji jsou léčiva eluována ze SPE materiálů methanolem [5, 7, 8, 9], acetonem [7, 8, 11], ethylacetátem [12], acetonitrilem [4] nebo směsí rozpouštědel: methanol/MTBE [13], aceton/ethylacetát [8].

Separace analytů LC se výhradně provádí v reverzní fázi [1–12, 13], nejčastěji mobilní fází je methanol [3, 5, 8, 9, 11] nebo acetonitril [9, 6, 13] s vodou a příměsí pufrů nebo kyseliny mravenčí, popř. kyseliny octové [3, 5, 6].

Vzhledem k velkým maticovým efektům (zejména u vzorků odpadních vod) se doporučuje kalibrovat metodou vnitřního standardu [3, 6, 7].

Experimentální část

Vybraná skupina léčiv byla v laboratoři VÚV TGM, v.v.i., analyzována metodou LC/MS, prekoncentrace analytů byla prováděna extrakcí tuhou fází (SPE).

Multireziduální stanovení této skupiny analytů se neosvědčilo vzhledem k jejich velmi odlišným chemickým vlastnostem a koncentračním hladinám jejich výskytu. Z tohoto důvodu bylo stanovení rozděleno do dvou separačních postupů.

Příprava standardů

Pro vývoj metod a jejich validaci byly používány standardy v pevném stavu od firmy Dr. Ehrenstorfer. Z dodaných pevných látek byly připravovány základní roztoky jednotlivých analytů v methanolu, ze kterého byl připravován směsný zásobní kalibrační roztok o koncentraci 1 mg/ml jednotlivých analytů. Ředěním zásobního kalibračního roztoku byl připraven pracovní kalibrační roztok o koncentraci 2 μ g/ml jednotlivých farmaků v methanolu, který byl používán pro kalibraci a průběžnou kontrolu účinnosti chromatografické separace.

Pro přípravu modelových vzorků byl použit methanolvý roztok o koncentraci 2 μ g/ml E1, E2, EE2 a 20 μ g/ml ibuprofenu, diklofenaku, karbamazepinu, kyseliny klofibrové a salicylové. 30 μ l tohoto roztoku bylo spikováno do 1 l vzorku povrchové nebo odpadní vody.

Do jednotlivých roztoků byly přidávány vnitřní deuteriované standardy čistoty 98 % nebo vyšší. Byly používány tyto standardy: estron D4 (E1-D4), 17 β -estradiol D5 (E2-D5), 17 α -ethynylestradiol D4 (EE2-D4), diklofenak D4 (DCF-D4), ibuprofen D3 (IBP-D3), karbamazepin D10, kyselina klofibrová D4 od firmy CDN Isotopes, kyselina salicylová D4 od firmy CIL.

Z těchto standardů byl připraven směsný pracovní roztok vnitřních standardů (ISTD) o koncentraci 5 ng/ μ l E1-D4, DCF-D4, IBP-D3, karbama-

zepinu D10, kyseliny klofibrové D4, kyseliny salicylové D4 a 10 ng/ μ l E2-D5 a EE2-D4. 10 μ l směsného roztoku ISTD bylo pipetováno ke vzorku před analýzou.

K přípravě modelových vzorků a mobilní fáze byla použita ultračistá voda (UHQ) a organická rozpouštědla pro LC/MS firmy Merck.

Vzorkování a příprava vzorků pro stanovení steroidních látek

Odběr reálných vzorků byl prováděn do skleněných vzorkovnic, vzorky byly konzervovány okyselením kyselinou chlorovodíkovou (pH 2).

Vzorky byly po přidavku směsného roztoku vnitřních standardů a úpravě pH na hodnotu 7,8 filtrovány na vakuovém filtračním zařízení Sartorius přes filtr ze skleněných vláken GFC Whatman o porozitě cca 1 μ m.

Známý objem filtrátu (1,0 l) byl extrahován pomocí extrakce tuhou fází (SPE) za laboratorní teploty s použitím disků BakerBond Speedisk Hydrophobic DVB 8068-06 (J. T. Baker). Před vlastní extrakcí byly SPE disky kondicionovány. Kondicionace byla prováděna 5 ml hexanu, 5 ml ethylacetátu, 10 ml methanolu a 10 ml vody (pH 7,8).

Přes takto připravené disky se rychlostí 15 ml/min filtruje vzorek vody. Po promytí disku 30% vodným roztokem methanolu (MeOH), 50% MeOH okyseleným kyselinou octovou a vysušení tlakovým dusíkem se zachycené analyty eluují acetonitrilem. Zachycený eluát se v proudu dusíku odpaří právě do sucha. Odparek se rozpustí ve směsi hexan : dichlormethan (DCM) (3 : 1) a přečistí na kolonce naplněné florisilem. Analyty se z kolony eluují 5% roztokem acetonu v DCM, zkoncentrují proudem dusíku a převedou do 1 ml roztoku kompatibilního s následnou LC/MS analýzou.

Vzorkování a příprava vzorků pro stanovení nesteroidních látek

Odběr reálných vzorků byl prováděn do skleněných vzorkovnic, vzorky byly konzervovány okyselením kyselinou octovou (5 ml/250 ml vzorku).

Vzorky byly filtrovány přes membránové filtry z recyklované celulózy (0,45 μ m) a po přidavku směsného roztoku vnitřních standardů bylo 5 ml vzorku prekoncentrováno on-line SPE na kolonkách Hypersil Gold 20 x 2,1 mm. Odpadní vody se před on-line SPE ředily desetkrát.

Instrumentální podmínky

LC/MS analýza byla prováděna na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 RR s binárním a isokratickým čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplrem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems 4000 Q Trap s trojitým kvadrupolem.

Vzhledem k rozdílné povaze sledovaných látek se používají dvě odlišné LC/MS metody:

- Ke stanovení steroidů byla používána kapalinová chromatografie na koloně Synergi Hydro-RP, 150 x 2,00 mm, 4 μ m s mobilní fází acetonitril/voda v gradientové eluci. Hmotnostní detekce elektrospřejem v negativním modu (ESI⁻). Nástřík 10 μ l vzorku.
- Ke stanovení kyseliny salicylové, klofibrové, ibuprofenu, diklofenaku a karbamazepinu byla používána LC kolona Zorbax XDB, 50 x 4,6 mm, 4 μ m, mobilní fáze methanol/voda okyselená 0,2 % kyseliny octové v gradientové eluci. Hmotnostní detekce elektrospřejem v negativním modu (ESI⁻) a pozitivním modu (ESI⁺). K nástříku na on-line SPE (objem vzorku 5 ml) bylo použito přístroje Aspect GX–271 firmy Gilson. Použití přechody k hmotnostní detekci v MRM (multiple reaction monitoring) modu uvádí *tabulka 1*.

Tabulka 1. Přechody pro MRM detekci

Analyt	Q1	Q3
Kyselina salicylová	136,9	92,8
	136,9	64,9
Karbamazepin	236,9	194,1
	236,9	193,1
Kyselina klofibrová	212,9	126,7
	212,9	84,8
Diklofenak	293,7	249,8
	293,7	213,7
Ibuprofen	204,9	161,0
	204,9	159,0
Estron (E1)	268,9	144,8
	268,9	142,7
17 β -estradiol (E2)	270,9	144,8
	270,9	182,9
17 α -ethynylestradiol (EE2)	295,0	144,8
	295,0	158,8

Výsledky

Jednotlivé látky se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů a shodností intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v kalibračním roztoku. Kvantifikace se provádí na základě hodnot vypočtených pomocí kalibračních křivek metodou kalibrace s vnitřními standardy (deuteriované standardy sledovaných farmaků).

Jako nezbytné se při stanovení farmak v povrchové a odpadní vodě metodou LC/MS jeví použití vnitřních standardů. Matrice silně ovlivňuje ionizaci, bylo pozorováno potlačení nebo naopak zvýšení ionizace vlivem látek přítomných ve vzorku. Navíc je tento vliv u každého vzorku jiný. Ukázka ovlivnění signálu detektoru složením matrice analyzovaného vzorku je na obr. 1 a 2. Na obr. 1 je chromatogram standardu kyseliny klofibrové (600 ng/l) v UHQ vodě, obr. 2 zobrazuje chromatogram standardního přídávku kyseliny klofibrové (600 ng/l) do odpadní vody, ve které nebyla kyselina klofibrová metodou LC/MS detekována.

Změnou postupu v přípravě vzorku pro stanovení steroidních látek, tj. SPE při neutrálním pH (7,8) a následným dočištěním extraktu florisilem, se podařilo významně potlačit maticové vlivy, jak je vidět na obr. 3 a 4. Na obr. 3 je chromatogram standardu estronu (60 ng/l) v UHQ vodě, obr. 4 zobrazuje chromatogram standardního přídávku estronu (60 ng/l) do odpadní vody, ve které nebyl estron metodou LC/MS detekován.

Při vývoji metody byly analyzovány vzorky se standardním přídávkem sledovaných farmak do povrchové nebo odpadní vody. Standardní přídavek byl 20 ng/l E1, E2 a EE2; karbamazepin, kyselina klofibrová a salicylová, ibuprofen a diklofenak v koncentraci 200 ng/l. Průměrné výtěžnosti SPE se pohybovaly v intervalu 78,2 až 112,2 % a variační koeficienty (CV) 8,5–16,2 %. Průměrné výtěžnosti a CV pro jednotlivé látky v povrchové a odpadní vodě jsou uvedeny v tabulce 2.

Meze stanovitelnosti metody byly určeny na základě vyhodnocení poměru signál/šum, tj. k poměru signál/šum 10 byla přiřazena odpovídající koncentrace jednotlivých analytů. Meze stanovitelnosti pro jednotlivé analyty v povrchové a odpadní vodě jsou uvedeny v tabulce 3.

Popsanou metodou byly zpracovány vzorky z městských čistíren odpadních vod v České republice. Vzorky byly odebírány na přítoku na ČOV, odtoku z ČOV a z povrchových vod v místech nad a za výpustí příslušných ČOV. Informativní přehled výsledků analýz je uveden v tabulce 4.

Závěr

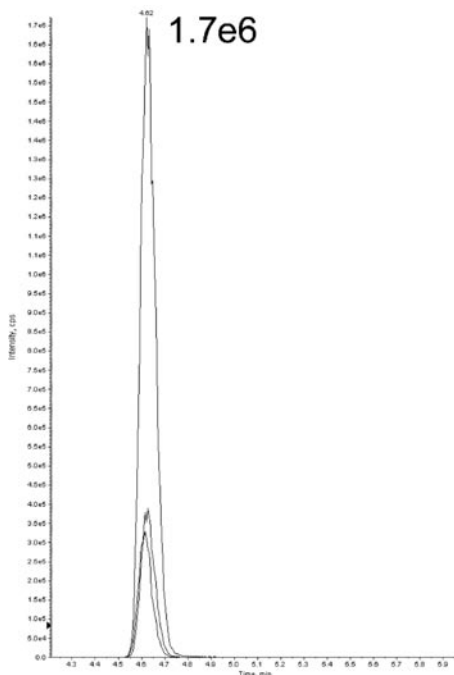
Cílem práce bylo vypracovat metodiku stanovení vybraných osmi farmak (kyselina salicylová, klofibrová, karbamazepin, diklofenak, ibuprofen, estron, 17 β -estradiol a 17 α -ethynylestradiol) v povrchové a odpadní vodě.

Stanovení bylo prováděno kapalinovou chromatografií s hmotností detekcí po zkoncentrování analytů extrakcí tuhou fází (SPE) v on-line a off-line uspořádání.

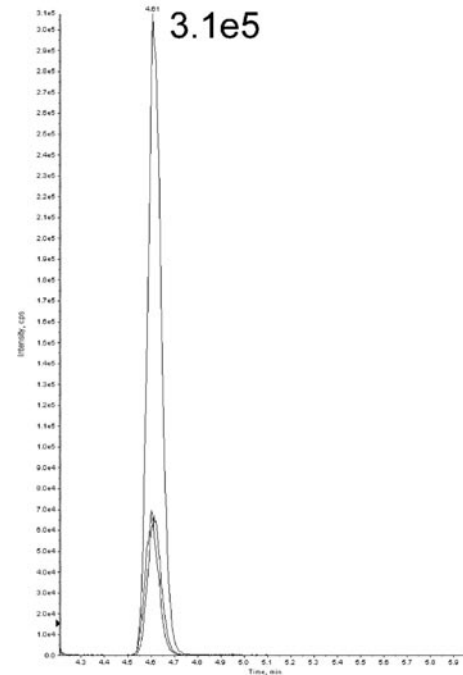
Metodou byly zpracovány vzorky povrchových vod a odpadních vod z městských čistíren odpadních vod v České republice. Byly zjištěny velmi vysoké koncentrace kyseliny salicylové, ibuprofenu, karbamazepinu a diklofenaku.

Tabulka 2. Průměrné výtěžnosti SPE [%] analytů a CV [%] 20 měření v povrchové a odpadní vodě (koncentrace E1, E2 a EE2 20 ng/l, ostatní látky 200 ng/l)

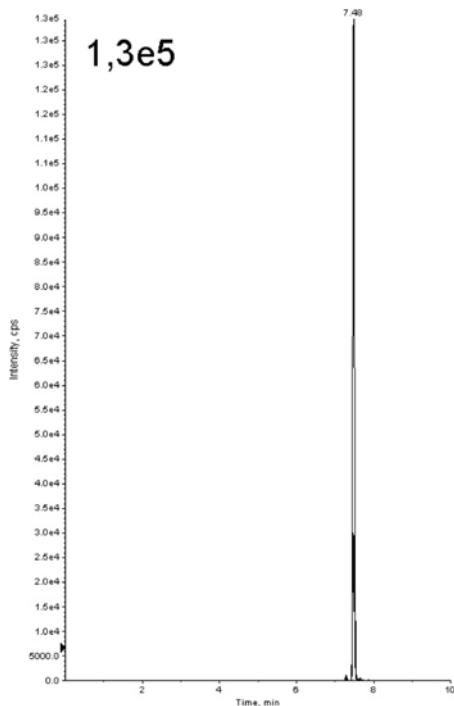
Analyt	Celkový průměr výtěžností	CV
Kyselina salicylová	78,2	16,1
Karbamazepin	112,2	12,1
Kyselina klofibrová	104,0	16,1
Diklofenak	110,6	13,2
Ibuprofen	100,4	8,5
Estron (E1)	98,4	10,2
17 β -estradiol (E2)	111,1	16,2
17 α -ethynylestradiol (EE2)	99,4	9,9



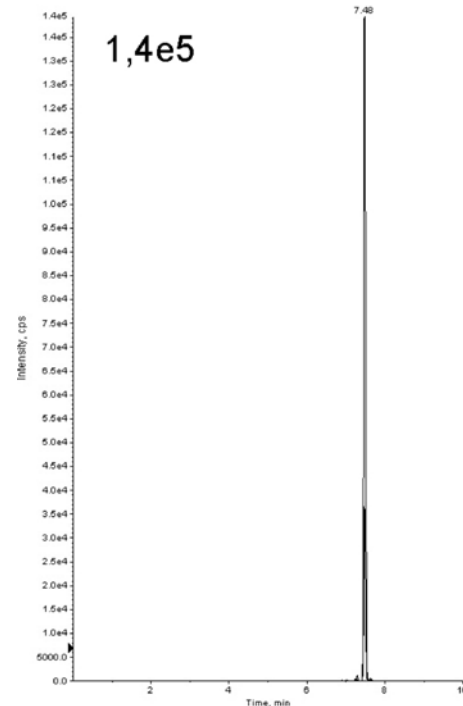
Obr. 1. Chromatogram kyseliny klofibrové v UHQ vodě



Obr. 2. Chromatogram kyseliny klofibrové v odpadní vodě



Obr. 3. Chromatogram estronu v UHQ vodě



Obr. 4. Chromatogram estronu v odpadní vodě

Tabulka 3. Meze stanovitelnosti metody pro jednotlivé analyty v povrchové a odpadní vodě

Analyt	Povrchová voda [ng/l]	Odpadní voda [ng/l]
Kyselina salicylová	100	100
Karbamazepin	1	10
Kyselina klofibrová	1	10
Diklofenak	1	10
Ibuprofen	1	10
Estron (E1)	0,5	2,0
17 β -estradiol (E2)	2,0	6,0
17 α -ethynylestradiol (EE2)	4,0	10,0

Tabulka 4. Nálezy farmak v povrchových a odpadních vodách [ng/l]

Analyt	Povrchová voda	Odpadní voda	
		Přítok na ČOV	Odtok z ČOV
Kyselina salicylová	122–1 450	11 000–67 000	384–3 900
Karbamazepin	6,6–58,2	184–1 270	277–932
Kyselina klofibrová	< 1	< 10–19,6	< 10–18,3
Diklofenak	7,5–41,5	187–995	246–893
Ibuprofen	11,4–216	4 670–21 900	46–634
Estron (E1)	< 0,5–2,4	26,7–88,9	< 2–9,8
17β-estradiol (E2)	< 2	10,0–31,7	< 6
17α-ethynylestradiol (EE2)	< 4	< 10	< 10

Poděkování: Příspěvek byl zpracován s podporou výzkumného záměru MZP0002071101.

Literatura

- [1] Pospíchalová, D. (2009) Stanovení vybraných farmak v povrchové a odpadní vodě kapalinovou chromatografií s UV detekcí. *Vodní hospodářství*, 59, 3, příl. *Čistírenské listy*.
- [2] Ternes, TA. (1998) Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Wat. Res.*, 32, 11, p. 3245–3260.
- [3] Petrović, M., Hernando, MD., Diaz-Cruz, MS., and Barceló, D. (2005) Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J. of Chromatogr. A*, 1067, p. 1–14.
- [4] Borton, CH., Ghobarch, H., and Olson, L. (2007) Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals and personal care products in river water. Application Note, Applied Biosystems.
- [5] Hilton, MJ. and Thomas, KV. (2003) Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. *J. of Chromatogr. A*, 1015, p. 129–141.
- [6] Isobe, T., Shiraishi, H., Yasuda, M., et al. (2003) Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. of Chromatogr. A*, 984, p. 195–202.
- [7] Gabet, V., Miege, C., Bados, P., and Conquery, M. (2007) Analysis of estrogens in environmental matrix. *Trends Anal. Chem.*, 26, 11, p. 1113–1131.
- [8] Radjenović, M., Petrović, M., and Barceló, D. (2007) Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *Trends Anal. Chem.*, 26, 11, p. 1132–1144.
- [9] Bing Shao, Dong Chen, et al. (2009) Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography–tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater. *J. Chromatogr. A*, 1216, p. 8312–8318.

- [10] Calliman, FA. and Gavrilescu, M. (2009) Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment – a Review. *Clean soil, air, water*, 37, 4–5, p. 985–991.
- [11] Hernando, MD., Heath, E., Petrović, M., and Barceló, D. (2006) Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. *Anal. Bioanal. Chem.*, 385, p. 985–991.
- [12] Mutavdžić Pavlović, D., Babić, S., et al. (2007) Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *Trends Anal. Chem.*, 26, 11, p. 1062–1077.
- [13] Vanderford, BJ., Pearson, RA., Rexing, DJ., et al. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (2003). *Anal. Chem.*, 75, p. 6265–6274.
- [14] Radjenović, M., Petrović, M., and Barceló, D. (2005) Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: A review. *J. Chromatogr. A*, 1067, p. 1–14.
- [15] Weigel, S., Kallenborn, R., and Hühnerfuss, H. (2004) Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1023, p. 183–195.
- [16] Verenitch, S., Lowe, CHJ., and Mazumder, A. (2006) Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1116, p. 193–203.
- [17] Gibson, R., Becerril-Bravo, E., Silva-Castro, V., and Jiménez B. (2007) Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1169, p. 31–39.

**Ing. Danica Pospíchalová, Ing. Pavla Martinková,
Ing. Roman Jobánek, Ing. Miroslav Váňa
VÚV TGM, v.v.i., Praha
danica_pospichalova@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.**

Determination of pharmaceuticals in surface and waste waters by liquid chromatography–mass spectrometric detection (Pospíchalová, D.; Martinková, P.; Jobánek, R.; Váňa, M.)

Key words

determination of hormones and other pharmaceuticals – liquid chromatography–mass spectrometric detection – solid phase extraction – surface and waste water

Liquid chromatography–mass spectrometric detection (LC/MS) method for determination of selected pharmaceuticals (salicylic acid, clofibric acid, carbamazepine, diclofenac, ibuprofen, estrone, ethinylestradiol and estradiol) is described. For the sample preparation solid phase extraction is used. Results of the analysis of the samples of surface and municipal waste waters are presented.

STANOVENÍ PARAQUATU A DIQUATU-DIBROMIDU VE VODÁCH METODOU ITP-CZE

David Chrastina

Klíčová slova

paraquat – diquat – bipyridylové herbicidy – ITP-CZE

Souhrn

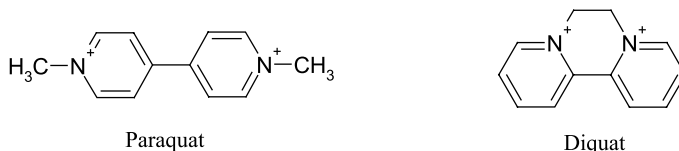
Bipyridylové herbicidy patří k hojně používaným přípravkům na ochranu rostlin. Hlavními zástupci této skupiny herbicidů jsou paraquat a diquat dibromid. Z hlediska toxických účinků těchto látek je nutné jejich častější sledování v hydrosféře. Pro stanovení paraquatu a diquatu ve vodách byla zavedena metoda online spojení kapilární izotachografie a kapilární zónové elektroforézy po předchozí úpravě vzorku pomocí extrakce na tuhé fázi.

Úvod

Řada pesticidních přípravků používaných v zemědělství na ochranu rostlin není v hydrosféře pravidelně sledována. Používání pesticidů může mít přitom negativní vliv na životní prostředí i zdraví člověka. Při aplikacích dochází ke smyvům pesticidů do povrchových vod, čímž mohou být ohroženy vodní organismy. Perzistentní pesticidy zůstávají dlouhou dobu v půdě a mohou kontaminovat spodní vody.

Paraquat (N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichlorid) a diquat (1,1'-ethylen-2,2'-bipyridyldiylm dibromid) (viz obr. 1) patří mezi vysoce účinné

neselektivní kontaktní herbicidy. Působí pouze na nadzemní části rostlin, kde dochází během fotosyntézy ke vzniku reaktivních kyslíkových radikálů, které ničí buněčnou membránu. Při styku s půdou jsou tyto herbicidy rychle deaktivovány a nezanechávají rezidua [1]. Paraquat, známý pod obchodním názvem Gramoxone, je vysoce toxická látka, která při vyšších dávkách vážně poškozuje plíce, srdce, ledviny i játra. Od roku 2007 je jeho používání jakožto účinného herbicidu zakázáno Evropskou unií. Diquat dibromid je znám pod obchodním názvem Reglone. Kromě desikace (vysušení) polních plodin a zelenin se používá k hubení plevelů v ovocných sadech, lesních školkách a také k ničení řas a nežádoucích rostlin v nádržích, rybnících a vodních tocích.



Obr. 1. Strukturní vzorce paraquatu a diquatu

Analýza těchto látek ve vodách bývá obtížná. Jsou to látky ve vodě dobře rozpustné, stabilní v kyselém a neutrálním prostředí. V silně alkalickém prostředí hydrolyzují. Značným problémem při analýze bývá zejména jejich adsorpce na skleněné povrchy a také citlivost na světlo. K uchování vzorků se doporučuje používat buď tmavé skleněné lahve, jejichž povrch je před použitím upraven silnicí, anebo tmavé plastové lahve. Ke stanovení quatu je nejčastěji využívána metoda vysokoučinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí [2, 3], pro zvýšení citlivosti často ve spojení s hmotnostní spektrometrií [4, 5, 6]. Pro kationtový charakter molekul

je vhodnou technikou také kapilární zónová elektroforéza s UV detekcí [7], detektor diodového pole (DAD) [8, 9] nebo ve spojení s hmotnostní spektrometrií [10]. Popsána byla také metoda plynové chromatografie [11], kapilární izotachofózy [12], metoda amperometrická [13]. Velmi účinné je rovněž spojení kapilární izotachofózy s kapilární zónovou elektroforézou (ITP-CZE) [14]. Kapilární izotachofóza zde plní funkci prekoncentrační techniky a zároveň slouží k oddělení majoritních složek (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ a K^+).

Pro stanovení paraquat a diquat v vodách byla zvolena metoda ITP-CZE [14] s předúpravou vzorku pomocí extrakce na tuhé fázi [15]. Analyzovaný vzorek je nastříknut mezi vedoucí elektrolyt LE (s vyšší pohyblivostí iontů než kterýkoliv ion ve vzorku) a koncový elektrolyt TE (s nižší pohyblivostí iontů než kterýkoliv ion ve vzorku). V předseparační koloně jsou po vložení elektrického proudu složky děleny podle svých iontových pohyblivostí. Zároveň dochází k zakoncentrování jednotlivých složek směsi, jak popisuje Kohlrauschova regulační funkce [16]. Analytická kolona je naplněna nosným elektrolytem ZE, který má v celé kapiláře stejné složení i koncentraci. Ionty jsou separovány podle svých iontových pohyblivostí (závisí na velikosti náboje a velikosti molekuly) a následně detekovány UV detektorem.

Metodika

Chemikálie, roztoky

Hydroxid sodný p.a., hydroxid draselný p.a. (Lach-Ner, ČR), kyselina citronová monohydrát p.a., kyselina trifluoroctová pro spektroskopii, cetyltrimethylammonium bromid (CTAB) p.a. (Merck, ČR), metanol pro HPLC a acetonitril pro HPLC (Chromservis ČR), dusík 5.0 (Messer, ČR). Standardy paraquat dichlorid tetrahydrát $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, diquat dibromid monohydrát $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Absolute Standards, USA). K přípravě elektrolytů a pracovních roztoků byla použita ultračistá voda (Labconco, USA). Koncový a nosný elektrolyt 10 mM tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS), 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 15 % polyethylenglykol 300 (PEG), pH 6,1 (Chemický ústav Přírodovědecké fakulty Univerzity Komenského, Slovensko).

Použité přístroje a zařízení

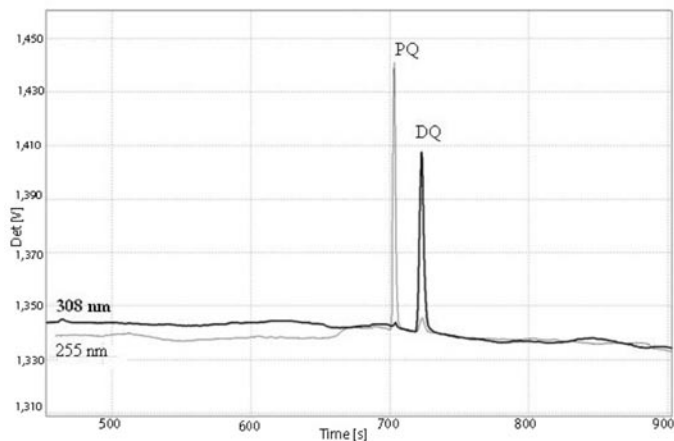
K měření byl použit elektroforetický analyzátor EA 102 ve dvoukolonovém uspořádání (předseparační FEP kapilára 90 mm \times 0,8 mm i. d. \times 1,15 mm o. d., předseparační FEP kapilára 160 mm \times 0,8 mm i. d. \times 1,15 mm o. d., analytická FEP kapilára 160 \times 0,3 mm i. d. \times 0,7 mm o. d.) s kontaktními vodivostními detektory (Villa Labeco, Slovensko). Pro identifikaci analytů byl použit UV detektor SAFÍR EX (190–800 nm) (ECOM, ČR). Vyhodnocení dat bylo provedeno pomocí software ACES. Pro extrakci na tuhé fázi byly použity kolony Supelclean ENVI-Carb, 500 mg/6 ml (Supelco, USA), vakuové čerpadlo Vacc space 20, Alltech Vacuum manifold s 12 pozicemi.

Příprava a analýza vzorku

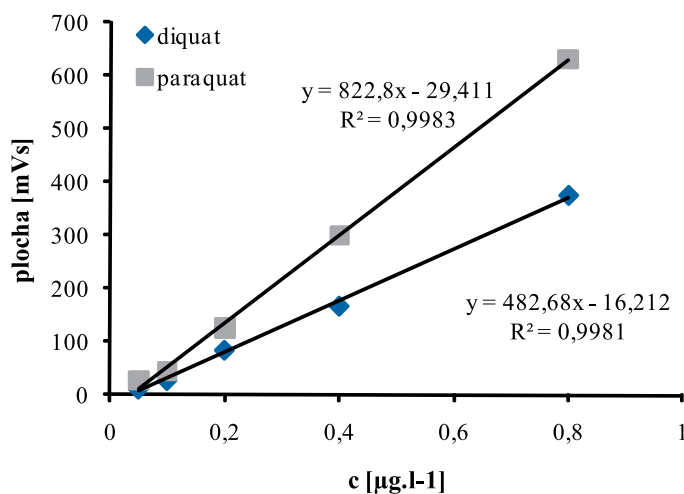
Pro odběr a další manipulaci se vzorky bylo použito plastové nádobí z HDPE. Vzorky byly před extrakcí na tuhé fázi (SPE) filtrovány přes nylonový filtr 0,45 μm . SPE kolony Supelclean ENVI-Carb byly kondicionovány 2 ml methanolu, 2 ml směsí $\text{MeOH} : \text{H}_2\text{O}$ v poměru 1 : 1, 2 ml H_2O a nakonec 2 ml H_2O upravené na pH 9,0 pomocí 0,1 M NaOH. Po kondicionaci kolonek následovala extrakce 250 ml vzorku (upraveného na pH 9,0 pomocí 0,1 M NaOH) rychlostí 2–3 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Quaty byly eluovány 2 ml směsí acetonitril : kyselina trifluoroctová (80 : 20, v/v). Eluát byl proudem dusíku odpařen k suchu a extrakt rozpuštěn v 0,5 ml 1 mM vodného roztoku CTAB. Nastříkovaný objem byl 100 μl . Detekce látek probíhala při 255 nm (paraquat) a 308 nm (diquat) při celkové době analýzy 20 min. Hnací proud byl v předseparační koloně 250 μA , v analytické koloně 100 μA . Složení vedoucího elektrolytu: 10 mM KOH, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 0,1 % methylhydroxyethylcelulosa (MHEC), pH 6,1. Složení koncového a nosného elektrolytu: 10 mM TRIS, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 15 % PEG, pH 6,1.

Výsledky a diskuse

Při zavádění metody byla nejprve zkoušena krátká předseparační kolona (90 mm \times 0,8 mm i. d. \times 1,15 mm o. d.) s elektrolytickým systémem LE: 10 mM KOH, 4 mM kyselina citronová, 0,1 % MHEC, pH 6,1; TE a ZE: 10 mM TRIS, 4 mM kyselina citronová, 15 % PEG, pH 6,1. V tomto systému ale nedocházelo k oddělení jednotlivých pík. Po přidavku CTAB na koncentraci 0,001 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ docházelo k potřebné separaci. Testovány byly rovněž různé vlnové délky v rozmezí od 200 nm do 310 nm. Jako nejvhodnější vlnové délky pro identifikaci analytů byly zvoleny 255 nm pro paraquat a 308 nm pro diquat. Analýza trvala necelých 15 minut. Separace obou quatů je zobrazena na obr. 2. Krátká předseparační kolona nebyla bohužel pro dosažení požadovaných mezí stanovitelnosti 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ dostačující. Proto byla dále používána dlouhá předseparační kolona (160 mm), na které dochází k většímu zakoncentrování vzorku. Analýza na dlouhé koloně trvá 20 minut. S použitím této kolony probíhala také validace metody. Při validaci metody byla zjišťována mez detekce a stanovitelnosti, přesnost, správnost, opakovatelnost, výtěžnost metody a byla rovněž ověřována linearita. Pro určení validačních parametrů byla sestavena pětibodová kalibrační křivka (obr. 3). Testování probíhalo na třech koncentračních hladinách 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$,



Obr. 2. Elektroferogram modelové směsi paraquat a diquat – vedoucí elektrolyt 10 mM KOH, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 0,1 % MHEC, pH 6,1; koncový a nosný elektrolyt: 10 mM TRIS, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 15 % PEG, pH 6,1; koncentrace standardů 0,4 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, $\lambda = 255$ nm (paraquat), $\lambda = 308$ nm (diquat)



Obr. 3. Kalibrační křivka diquat a paraquat

Tabulka 1. Některé validační parametry pro stanovení paraquat a diquat

	Mez detekce [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Mez stanovitelnosti [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$]	Výtěžnost [%]	Rel. opakovatelnost [%]
paraquat	0,015	0,047	83,51	15,51
diquat	0,012	0,042	81,86	14,41

0,4 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a 0,8 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Na každé koncentrační hladině bylo měřeno šest vzorků. Jednalo se o modelové vzorky připravené spikováním ultračisté vody. Výtěžnost metody byla ověřována na spikovaných reálných vzorcích, konkrétně na profilu Ostravice-Slezská Ostrava. Validací parametry byly vyhodnocovány programem EffiValidation 3.0. Některé validační parametry zobrazuje tabulka 1.

Závěr

Pro stanovení bipyridylových herbicidů paraquat a diquat v hydrosféře byla zavedena metoda spojení kapilární izotachofózy a kapilární zónové elektroforézy. Pro zkoncentrování a úpravu vzorků byla použita extrakce na tuhou fázi s SPE kolonkami Supelclean ENVI-Carb, 500 mg/6 ml. Separace látek probíhala v elektrolytickém systému LE: 10 mM KOH, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 0,1 % MHEC, pH 6,1 a TE, ZE: 10 mM TRIS, 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 15 % PEG, pH 6,1. Detekce látek probíhala při 255 nm (paraquat) a 308 nm (diquat). Touto metodou bylo pro oba quaty dosaženo mezí stanovitelnosti 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru MZP0002071101 Výzkum a ochrana hydrosféry – výzkum vztahů a procesů ve vodní složce životního prostředí, orientovaný na vliv antropogenních tlaků, její trvalé užívání a ochranu, včetně legislativních nástrojů.

Literatura

- [1] Cremlyn, R. (1985) Pesticidy. Praha : SNTL.
- [2] Determination of Diquat and Paraquat in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and High Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection, EPA Method 549.1 (EPA-500 Series Supplement II, Aug 1992).
- [3] Ibáñez, M., Picó, Y., and Manes, J. (1996) Influence of organic matter and surfactants on solid-phase extraction of diquat, paraquat and difenzoquat from waters. *J. Chromatogr. A*, 727 (2), 245–252.
- [4] Castro, R., Moyano, E., and Galceran, MT. (2001) Determination of quaternary ammonium pesticides by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 914, 111–121.
- [5] Martínez Vidal, J.L., Belmonte Vega, A., Sánchez López, F.J., and Garrido Frejich, A. (2004) Application of internal quality control to the analysis of quaternary ammonium compounds in surface and groundwater from Andalusia (Spain) by liquid chromatography with mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1050, 179–184.
- [6] Grey, L., Nguyen, B., and Yang, P. (2002) Liquid chromatography-electrospray ionization isotope dilution mass spectrometry analysis of paraquat and diquat using conventional and multilayer solid-phase extraction cartridges. *J. Chromatogr. A*, 958, 25–33.
- [7] Galceran, MT., Carneiro, MC., Diez, M., and Puignou, L. (1997) Separation of quaternary ammonium herbicides by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *J. Chromatogr. A*, 782, 289–295.
- [8] Núñez, O., Moyano, E., Puignou, L., and Galceran, MT. (2001) Sample stacking with matrix removal for the determination of paraquat, diquat and difenzoquat in water by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 912, 353–361.
- [9] Pérez-Ruiz, T., Martínez-Lozano, C., Sanz, A., and Tomás, V. (1996) Simultaneous determination of diquat and paraquat residues in various matrices by capillary zone electrophoresis with diode array detection. *Chromatographia*, 43 (9–10), 468–472.
- [10] Núñez, O., Moyano, E., and Galceran, MT. (2002) Capillary electrophoresis-mass spectrometry for the analysis of quaternary ammonium herbicides. *J. Chromatogr. A*, 974, 243–255.
- [11] Cannard, A.J. and Criddle, W.J. (1975) A rapid method for the simultaneous determination of paraquat and diquat in pond and river waters by pyrolysis and gas chromatography. *Analyst*, 100, 848–853.
- [12] Stránský, Z. (1985) Isotachopheresis of cationic herbicides in water and soils. *J. Chromatogr.*, 320 (1), 219–231.
- [13] Luque, M., Ros, A., and Valcárcel, M. (1998) Sensitive determination of paraquat and diquat at the sub-ng ml⁻¹ level by continuous amperometric flow methods. *Analyst*, 123, 2383–2387.
- [14] Kaniánský, D., Iványi, F., and Onuska, Fl. (1994) On-line isotachopheretic sample pretreatment in ultratrace determination of paraquat and diquat in water by capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.*, 66, 1817–1824.
- [15] Núñez, O., Moyano, E., and Galceran, MT. (2002) Solid-phase extraction and sample stacking-capillary electrophoresis for the determination of quaternary ammonium herbicides in drinking water. *J. Chromatogr. A*, 946, 275–282.
- [16] Petr, J., Maier, V., Horáková, J., Ševčík, J., and Stránský, Z. (2006) Capillary isotachopheresis from the student point of view – images and the reality. *J. Sep. Sci.*, 29, 2705–2715.

Mgr. David Chrastina
ÚV TGM, v.v.i., Ostrava
David_Chrastina@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.

Determination of paraquat and diquat dibromide in water by ITP-CZE (Chrastina, D.)

Key words

paraquat – diquat – bipirydyl herbicides – ITP-CZE

Bipyridyl herbicides are widely used plant protection products. The main representatives of this group are herbicides paraquat and diquat dibromide. In terms of toxic effects of these substances, their monitoring in the hydrosphere should be more frequent. A new method with online coupling of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis and sample pre-treatment by solid phase extraction was introduced for the determination of paraquat and diquat in water samples.

UKAZATEL CELKOVÝ ORGANICKÝ UHLÍK A JEHO VZTAH KE KONTROLE ODPADNÍCH VOD

Miroslav Váňa, Jiří Kučera

Klíčová slova

TOC – CHSK – kontinuální sledování – odpadní vody – legislativa – ČOV

Souhrn

V současnosti je hlavním souhrnným ukazatelem míry organického znečištění odpadních vod chemická spotřeba kyslíku (CHSK_{cr}), resp. biochemická spotřeba kyslíku (BSK₅). Kvůli možnosti kontinuálního sledování, a tím i případného přímého řízení čistírenského procesu se stále intenzivněji uvažuje o postupné náhradě tohoto ukazatele parametrem celkový organický uhlík (TOC). Oba parametry – CHSK_{cr} a TOC – nelze vzájemně převést jednoduchým vztahem (převodní vztah se dá odvodit jen pro konkrétní odpadní vodu), proto byla nařízením vlády č. 61/2003 Sb., ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb., zavedena povinnost sledovat i ukazatel TOC pro městské čistírny odpadních vod nad 100 000 EO. Pro tento ukazatel není zatím stanoven žádný emisní standard, získání větších souborů dat povinným sledováním tohoto ukazatele by však mělo umožnit jeho případné budoucí zavedení.

V příspěvku jsou publikovány výsledky z oblasti domovních a menších ČOV, u nichž lze předpokládat větší rozdíly hodnot odtokových parametrů než u ČOV nad 100 000 EO.

Úvod

Hlavním souhrnným ukazatelem míry organického znečištění odpadních vod je v současnosti CHSK_{cr}, resp. BSK₅.

Hodnota CHSK_{cr} slouží jako návrhový parametr pro projekt technologie ČOV, je jedním z nejdůležitějších ukazatelů hodnocení vypouštěných odpadních vod do vod povrchových a také kvality povrchových toků. Stanovení CHSK_{cr} je uzanční metoda, kterou je třeba provádět podle přesně daných postupů uvedených v normě ČSN ISO 15 705.

Postupované metody jsou však nešetrné k životnímu prostředí – vznikají při nich nebezpečné odpady s vysokým obsahem chromu, rtuť, stříbra a kyseliny sírové.

Z tohoto důvodu a vzhledem k možnosti kontinuálního sledování, a tím i případného přímého řízení čistírenského procesu se stále intenzivněji uvažuje o postupné náhradě tohoto ukazatele parametrem celkový organický uhlík (TOC). Oba parametry – CHSK_{cr} a TOC – nelze vzájemně převést

jednoduchým vztahem (vztah se dá odvodit jen pro konkrétní odpadní vodu), proto byla nařízením vlády č. 61/2003 Sb., ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb., zavedena povinnost sledovat i ukazatel TOC pro městské čistírny odpadních vod nad 100 000 EO. Pro tento ukazatel není zatím dán žádný emisní standard, získání větších souborů dat povinným sledováním tohoto ukazatele by však mělo umožnit jeho případné budoucí stanovení.

Metodika

V odborné literatuře lze nalézt různé hodnoty pro poměr CHSK_{cr}/TOC v rozmezí od 0,8 až po 10,0. Teoretická hodnota je 2,67; v praxi se považuje hodnota za správnou, pohybuje-li se hodnota poměru v intervalu 2,5–4. Vždy je třeba uvažovat místně specifické poměry, které závisejí hlavně na druhu analyzované odpadní nebo povrchové vody.

Pro zjištění, zda publikovaná data platí i pro velmi malé a malé čistírny odpadních vod, kde nebudou k dispozici data z rutinního provozovatelského sledování podle citovaného nařízení vlády, byly sledovány odtoky ze dvou domovních čistíren odpadních vod (ČOV A, ČOV B) a dále z ČOV se 7 000 EO (se dvěma nezávislými technologickými linkami – C1, C2) a z ČOV se 2 000 EO (D). Lze totiž předpokládat, že u malých čistíren odpadních vod budou větší rozdíly hodnot odtokových parametrů než u ČOV nad 100 000 EO.

Aby bylo možné vyhodnotit, zda různé technologie čištění mění poměr CHSK_{cr}/TOC, byly domovní čistírny napojeny na stejný přítok odpadní vody. Takéž byly sledovány odtoky z jedné ČOV, která má dvě nezávislé technologické linky různého uspořádání.

Ve všech lokalitách byly odebrány v různých dnech prosté vzorky odtoků na stanovení BSK₅, CHSK_{cr} a TOC. Vzorky byly ihned po odběru zchlazeny a po příjezdu do laboratoře byla stanovena hodnota BSK₅. Pro stanovení CHSK_{cr} a TOC byly vzorky homogenizovány na homogenizéru Ultra-Turrax po dobu pěti minut při otáčkách 20 500 min⁻¹. CHSK_{cr} bylo stanoveno ve zkumavkách podle ČSN ISO 15 705, TOC podle normy ČSN EN 1484. Podle zmiňované normy je organický uhlík stanoven jako NPOC (netěkavý organický uhlík) v okyseleném vzorku po odstranění CO₂ z HCO₃⁻ a CO₃²⁻ (proublání plynem – syntetický vzduch bez CO₂ a organických látek). Stanovení bylo provedeno na TOC analyzátoru FORMACS^{HT} TOC/TN firmy SKALAR.

Výsledky měření a diskuse

Výsledky měření v jednotlivých lokalitách shrnují *tabulky 1 až 5*, ve kterých jsou uvedeny naměřené hodnoty a vypočteny poměry CHSK/TOC, CHSK/BSK a BSK/TOC.

Naměřené výsledky potvrzují, že poměr mezi CHSK a TOC se pohybuje většinou v rozmezí 2 až 4, jak uvádí literatura. V několika jednotlivých měřeních byl zjištěn poměr do 5 a výjimečně až do 6. V průměrných hodnotách se poměr CHSK/TOC pohyboval v rozmezí 3,0–3,2, s výjimkou čistíren A a B, kde byl tento poměr vyšší (4,1, resp. 3,7). To je možné vysvětlit

Tabulka 1. Hodnoty BSK₅, CHSK_{Cr} a TOC a jejich poměry na ČOV A

BSK ₅ (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	TOC (mg/l)	Poměr CHSK _{Cr} /TOC	Poměr CHSK _{Cr} /BSK ₅	Poměr BSK ₅ /TOC
9,0	31,1	10,0	3,1	3,5	0,9
10,0	37,6	9,30	4,0	3,8	1,1
5,0	48,4	10,8	4,5	9,7	0,5
6,8	40,9	10,1	4,0	6,0	0,7
4,6	38,3	8,74	4,4	8,3	0,5
2,4	18,9	8,55	2,2	7,9	0,3
6,6	55,2	17,7	3,1	8,4	0,4
10,7	81,5	17,2	4,7	7,6	0,6
22,0	147	26,3	5,6	6,7	0,8
22,0	185	33,4	5,5	8,4	0,7
234	1695	446	3,8	7,2	0,5
176	949	191	5,0	5,4	0,9
27,0	75,2	16,4	4,6	2,8	1,6
13,0	44,3	11,6	3,8	3,4	1,1
5,7	36,9	10,8	3,4	6,5	0,5
15,9	64,0	15,9	4,0	4,0	1,0
29,3	158	44,2	3,6	5,4	0,7
8,2	34,4	8,56	4,0	4,2	1,0
20,8	136	29,8	4,6	6,6	0,7
35,8	150	37,2	4,0	4,2	1,0
Průměr			4,1	6,0	0,8
Minimum			2,2	2,8	0,3
Maximum			5,6	9,7	1,6

Tabulka 2. Hodnoty BSK₅, CHSK_{Cr} a TOC a jejich poměry na ČOV B

BSK ₅ (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	TOC (mg/l)	Poměr CHSK _{Cr} /TOC	Poměr CHSK _{Cr} /BSK ₅	Poměr BSK ₅ /TOC
7,3	42,9	10,6	4,0	5,9	0,7
3,2	32,2	9,03	3,6	10,0	0,4
2,1	31,2	9,61	3,2	14,8	0,2
6,1	36,8	10,1	3,6	6,0	0,6
5,8	39,2	10,4	3,8	6,8	0,6
3,7	39,2	9,19	4,3	10,6	0,4
4,7	31,0	10,5	2,9	6,6	0,4
2,4	33,6	10,0	3,4	14,0	0,2
3,2	37,4	9,98	3,7	11,7	0,3
5,6	47,8	11,3	4,2	8,5	0,5
6,5	46,6	13,0	3,6	7,2	0,5
56,0	259	66,5	3,9	4,6	0,8
3,6	42,8	11,6	3,7	11,9	0,3
3,7	34,9	9,15	3,8	9,4	0,4
3,5	33,5	9,78	3,4	9,6	0,4
5,1	41,5	10,2	4,1	8,1	0,5
3,7	34,8	9,82	3,5	9,4	0,4
4,8	30,7	8,95	3,4	6,4	0,5
6,4	35,1	9,80	3,6	5,5	0,7
4,2	37,5	9,50	3,9	8,9	0,4
Průměr			3,7	8,8	0,5
Minimum			2,9	4,6	0,2
Maximum			4,3	14,8	0,8

Tabulka 3. Hodnoty BSK₅, CHSK_{Cr} a TOC a jejich poměry na ČOV C1

BSK ₅ (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	TOC (mg/l)	Poměr CHSK _{Cr} /TOC	Poměr CHSK _{Cr} /BSK ₅	Poměr BSK ₅ /TOC
8,1	18,1	7,15	2,5	2,2	1,1
9,1	22,1	7,56	2,9	2,4	1,2
1,2	20,6	7,24	2,8	17,2	0,2
2,4	21,2	7,79	2,7	8,8	0,3
1,6	20,1	7,58	2,7	12,6	0,2
1,6	24,6	7,83	3,1	15,3	0,2
1,1	16,3	7,82	2,1	14,8	0,1
2,0	21,6	7,45	2,9	10,8	0,3
1,7	21,3	7,11	3,0	12,5	0,2
2,6	22,0	7,65	2,9	8,4	0,3
2,0	22,4	6,93	3,2	11,2	0,3
4,6	29,5	8,25	3,6	6,4	0,6
3,0	29,6	7,89	3,8	9,9	0,4
2,0	21,4	7,50	2,8	10,7	0,3
3,2	27,9	9,80	2,8	8,7	0,3
1,7	22,5	7,10	3,2	13,2	0,2
2,6	19,9	6,78	2,9	7,7	0,4
1,3	19,1	5,98	3,2	14,7	0,2
4,8	36,8	9,45	3,9	7,7	0,5
3,7	35,8	10,8	3,3	9,7	0,3
Průměr			3,0	10,2	0,4
Minimum			2,1	2,2	0,1
Maximum			3,9	17,2	1,2

Tabulka 4. Hodnoty BSK₅, CHSK_{Cr} a TOC a jejich poměry na ČOV C2

BSK ₅ (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	TOC (mg/l)	Poměr CHSK _{Cr} /TOC	Poměr CHSK _{Cr} /BSK ₅	Poměr BSK ₅ /TOC
11,9	24,6	8,29	3,0	2,1	1,4
14,1	19,1	7,60	2,5	1,4	1,9
4,6	30,3	8,18	3,7	6,6	0,6
2,4	26,5	7,84	3,4	11,0	0,3
4,5	33,5	8,42	4,0	7,4	0,5
3,4	16,4	7,75	2,1	4,8	0,4
2,6	19,5	8,19	2,4	7,5	0,3
2,2	22,6	7,26	3,1	10,3	0,3
3,4	33,1	8,54	3,9	9,7	0,4
3,0	26,9	7,95	3,4	9,0	0,4
3,4	30,4	8,74	3,5	8,9	0,4
5,4	31,5	9,40	3,4	5,8	0,6
12,0	58,1	12,2	4,8	4,8	1,0
3,3	18,6	6,98	2,7	5,6	0,5
4,8	35,4	9,62	3,7	7,4	0,5
10,5	85,3	28,9	3,0	8,1	0,4
4,1	34,5	11,8	2,9	8,4	0,3
2,4	20,4	7,55	2,7	8,5	0,3
3,7	18,2	6,49	2,8	4,9	0,6
4,4	30,8	9,90	3,1	7,0	0,4
Průměr			3,2	7,0	0,6
Minimum			2,1	1,4	0,3
Maximum			4,8	11,0	1,9

charakterem čistíren A a B – jde o domovní zařízení, která jsou do určité míry limitována technologií, a složení odpadních vod v těchto čistírnách je také svým způsobem specifické. Z výsledků uvedených v *tabulkách 1 a 2* je zřejmé, že odtokové koncentrace CHSK jsou o něco vyšší než u větších čistíren C a D. Pro menší čistírny odpadních vod (a zejména pro domovní ČOV) je také typické větší kolísání kvality odpadních vod, nefungují zde mechanismy typické pro velké čistírny jako například přítok balastních vod, který nerovnoměrnosti v kvalitě může poněkud vyrovnávat.

Uvedená data naznačují rovněž poměrně významné rozdíly v poměru mezi CHSK_{Cr} a BSK₅ ve vyčištěných odpadních vodách mezi jednotlivými vzorky. Naproti tomu se u přítékajících odpadních vodách běžně uvažuje poměr 2 : 1 a případné odchylky u splaškových vod nebývají významné. Z dat vyplývá významnější rozptyl poměru mezi BSK a TOC oproti poměru mezi CHSK a TOC, což naznačuje těsnější vazbu ukazatele TOC na CHSK než na BSK.

Zvláštní pozornost jsme věnovali porovnání poměrů mezi CHSK a TOC pro různé ČOV, do kterých je přiváděna stejná odpadní voda. V případě domovních ČOV A a B se lišila účinnost čištění, výsledky byly lepší u ČOV B. Tato čistírna má poměr CHSK/TOC z jednotlivých měření v užším intervalu a průměrná hodnota je nižší (3,7 oproti hodnotě 4,1 u ČOV A). V ČOV C byly poměry CHSK/TOC pro obě linky prakticky totožné, přestože linky jsou samostatné, mají jiné technologické uspořádání a aktivovaný kal se nemísí. Naproti tomu se u této ČOV liší poměr CHSK/BSK, a tím i poměr BSK/TOC.

Tabulka 5. Hodnoty BSK₅, CHSK_{Cr} a TOC a jejich poměry na ČOV D

BSK ₅ (mg/l)	CHSK _{Cr} (mg/l)	TOC (mg/l)	Poměr CHSK _{Cr} /TOC	Poměr CHSK _{Cr} /BSK ₅	Poměr BSK ₅ /TOC
12,6	57,7	15,3	3,8	4,6	0,8
11,2	27,0	11,3	2,4	2,4	1,0
6,1	49,6	11,2	4,4	8,1	0,5
3,2	34,4	11,5	3,0	10,8	0,3
7,7	70,6	17,7	4,0	9,2	0,4
45	352	81,9	4,3	7,8	0,5
2,5	24,4	11,2	2,2	9,7	0,2
4,1	27,1	11,7	2,3	6,6	0,4
5,1	30,1	11,2	2,7	5,9	0,5
5,4	32,7	14,2	2,3	6,1	0,4
9,6	60,6	16,1	3,8	6,3	0,6
11,6	67,6	16,5	4,1	5,8	0,7
18,0	149	34,3	4,3	8,3	0,5
4,9	42,9	10,3	4,2	8,7	0,5
5,8	36,7	10,2	3,6	6,3	0,6
13,8	111	35,9	3,1	8,0	0,4
8,5	56,1	13,5	4,2	6,6	0,6
3,2	30,7	12,6	2,4	9,6	0,3
7,5	69,8	25,5	2,7	9,3	0,3
11,2	67,6	22,7	3,0	6,0	0,5
Průměr			3,3	7,3	0,5
Minimum			2,2	2,4	0,2
Maximum			4,4	10,8	1,0

Závěr

Pro kontinuální sledování míry organického znečištění vypouštěných odpadních vod se používají analyzátoři, které stanovují TOC, popř. DOC. Pokud by chtěl provozovatel použít takovéto zařízení, nemůže zjištěné výsledky automaticky použít ke kontrole plnění emisních limitů tak, že TOC jednoduše „přepočítá“ na CHSK_{C} , pro kterou jsou limity stanoveny. TOC a CHSK_{C} jsou principiálně rozdílné ukazatele organického znečištění a jejich vzájemný poměr lze hodnotit pouze z dostatečného počtu údajů.

Poděkování: Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru MZP0002071101.

Literatura

- [1] ČSN ISO 15705 Jakost vod – Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK_{C}) – Metoda ve zkumavkách.
- [2] ČSN EN 1484 Jakost vod – Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) a rozpuštěného organického uhlíku (DOC).
- [3] Vilímec, J. Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) v odpadních vodách a jeho vztah k ukazateli CHSK_{C} . Sborník konference Hydroanalytika 2007, s. 89–93.
- [4] Constable, TW. and McBean, ER. BOD/TOC correlations and their application to water duality evaluation. *Water, Air, and Soil Pollution* 11 (1979), 363–375.
- [5] Effluent Monitoring – Which parameter? Application Note, Ionics Instrument Business Group, 2003.
- [6] Continuous TOC – some broader considerations. Special report, W&WT, February, 1994.
- [7] Aziz, JA. and Tebbutt, THY. Significance of COD, BOD and TOC correlations in kinetic model of biological oxidation. *Water Research*, 1980, vol. 14, p. 319–324.
- [8] Bisutti, I., Hilke, I., and Raessler, M. Determination of total organic carbon – an overview of current methods. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 23, 2004, No. 10–11.
- [9] Fadini, PS., Jardim, WF., and Guimarães, JR. Evaluation of Organic Load Measurement

PROBLEMATIKA SÍRY A SÍRANŮ V RAŠELINNÝCH VODÁCH FLÁJSKÉHO POTOKA V KRUŠNÝCH HORÁCH

Petr Lochovský, Miroslav Farský

Klíčová slova

rašeliniště – huminové látky – odnosy DOC – acidifikace – sírany – formy síry

Souhrn

V posledních dvou desetiletích je možno pozorovat nejen v ČR, ale i v řadě zemí severní Evropy a Severní Ameriky nárůst koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) v povrchových vodách z povodí horských oblastí. Řada výzkumných prací byla věnována objasnění příčin zmíněného nárůstu, který je multifaktorální a souvisí zejména se změnami v chemismu povrchových vod, globálním oteplováním a změnami v hydrologických poměrech. Důsledkem značné redukce kyselých depozic na počátku 90. let minulého století došlo v povrchových vodách horských povodí zejména k výraznému poklesu koncentrace síranů, které hrají významnou roli při mobilizaci DOC z rašelinných půd.

Práce se zabývá problematikou síry a síranů v rašelinných vodách povodí Flájského potoka. Vývoj koncentrace síranů zde ukazuje na jejich neustálý pokles od roku 1990. V současné době se v koncovém profilu Flájského potoka pohybují jejich průměrné roční koncentrace kolem $16 \text{ mg/l SO}_4^{2-}$, v roce 1990 byly naměřeny hodnoty vyšší než $40 \text{ mg/l SO}_4^{2-}$. Naopak u ukazatelů charakterizujících obsah organického uhlíku (DOC, CHSK_{Mn} , A_{254}) došlo v uvedeném období k více než trojnásobnému nárůstu pozorovaných hodnot.

V rámci průzkumných činností v povrchových a půdních vodách v povodí Flájského potoka byly rozlišeny anorganicky a organicky vázané formy síry. Bylo zjištěno, že v půdních roztocích spodních rašelinných horizontů převažuje síra vázaná organicky, v rašelinných loužích a na odtocích z rašelinišť jsou zastoupeny obě její formy přibližně ve stejné míře, zatímco v povrchových vodách Flájského potoka a jeho přítocích dominuje síra síranová. Mezi koncentracemi DOC a obsahem síranů v půdních roztocích a ve vodách na odtocích z rašelinišť byl zjištěn významný inverzní vztah, který podporuje hypotézu některých autorů o vlivu síranů na mobilizaci organického uhlíku z rašelinné hmoty.

Hlavním zdrojem síranů v povodí Flájského potoka nejsou vody odtékající z rašelinišť a rašelinných ploch, nýbrž z lesních porostů, zejména v nižších partiích potoka.

Ing. Miroslav Váňa, Ing. Jiří Kučera
VÚV TGM, v.v.i., Praha
miroslav_vana@vuv.cz, jiri_kucera@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.

Total organic carbon and its relationship to wastewater monitoring (Váňa, M.; Kučera, J.)

Key words

TOC – COD – on-line monitoring – wastewater – legislation – wastewater treatment plant (WWTP)

Currently, chemical oxygen demand (COD), resp. biochemical oxygen demand (BOD), is the general indicator of organic pollution degree of wastewater. There are progressive tendencies to replace these indicators by the total organic carbon (TOC) indicator, because of the possibility of on-line monitoring and eventual direct control of wastewater treatment processes. It is not possible to easily convert between TOC and COD (conversion ratio is unique for each wastewater), hence there was through the Government Regulation 61/2003 Coll. as amended by the Government Regulation 229/2007 Coll. established obligation to monitor also the TOC indicator for wastewater treatment plants in excess of 100 000 PE. There are not determined emission standards for TOC yet, obtaining of larger data sets by obligatory monitoring of this indicator should allow its possible future implementation.

In this paper, the results obtained from the monitoring of residential and smaller wastewater treatment plants are published. There can be expected greater differences in effluent parameters values than in wastewater treatment plants with more than 100 000 PE.

Úvod

Ve vodách řady horských povodí na území Evropy i Severní Ameriky byl v posledních dvou dekádách pozorován postupný nárůst odnosu DOC (Hejzlar et al., 2003; Driskoll et al., 2003; Evans et al., 2005; Grunewald a Schmidt, 2005). Mnoho výzkumných prací bylo proto věnováno bližšímu objasnění příčin tohoto nárůstu. První úvahy v interpretaci směřovaly k vlivu globálního oteplování (Freeman et al., 2001; Evans et al., 2002). Při vyšších teplotách dochází podle uvedených autorů k urychlenému mikrobiálnímu rozkladu organické hmoty v rašeliništích, a tím i ke zvýšenému odnosu DOC. Nárůst teplot je současně doprovázen i změnami v průběhu srážek (delší období sucha se střídají s intenzivnějšími srážkovými situacemi), čímž dochází k nárazovému odnosu vysokých koncentrací DOC nahromaděných v rašelinné půdě v období sucha. Na základě experimentálních prací v laboratorních podmínkách i v terénu bylo však prokázáno, že nárůst teploty může být zodpovědný pouze přibližně za 10–20 % celkového nárůstu koncentrace DOC (Clark, 2005). Byl proto navržen další mechanismus pro interpretaci zvýšených odnosů DOC, založený na vlivu zvýšených koncentrací CO_2 v atmosféře (Freeman et al., 2004). Obdobně jako u výše uvedeného vlivu teploty bylo na základě řady experimentů prokázáno, že vliv zvýšených koncentrací CO_2 v atmosféře může vyvolat pouze 1–5% nárůst v odnosu DOC. Někteří další autoři (Evans et al., 2006) se proto domnívají, že zásadní roli ve zvýšeném odnosu DOC musí hrát změny v chemismu povrchových vod. Tuto hypotézu podporuje i skutečnost, že k nárůstu koncentrací DOC došlo ve stejné době, kdy bylo možno zaznamenat výrazný pokles kyselých atmosférických depozic síry (Davies et al., 2005; Grunewald a Schmidt, 2005).

Vliv síranů na rozpustnost organického uhlíku v půdních roztocích experimentálně studovali Thurman (1985), Peterson (1990) a Kalbitz (2000). Autoři zjistili, že největší vliv na rozpustnost DOC mají kyselé síranové depozice při pH rašelinných vod 4–5, což jsou hodnoty, se kterými se běžně setkáváme u rašelinných vod Flájského potoka. Andersson a Nilsson (2001) však upozorňují, že vedle čisté chemického vlivu síranů a hodnoty pH na rozpustnost organického uhlíku v rašelinných vodách je nutno uvažovat i změnu mikrobiální aktivity, která se zvyšující se hodnotou pH rovněž roste a výše zmíněný vliv do jisté míry překrývá.

Rašeliniště a rašelinné plochy v horních partiích Flájského potoka jsou ombrotrofního charakteru, to znamená, že veškerý přísun vody a nutrientů je uskutečněn atmosférickou cestou. Takovéto ekosystémy jsou velmi citlivé na změny v chemickém složení depozic, ať již přirozeného, nebo antropogenního původu (Bartlett et al., 2005).

Na lokalitách s nízkou úrovní atmosférických depozic je síra z povrchových vod velmi rychle vyčerpána rostlinným porostem v důsledku asimilačních procesů (Steinmann a Shoty, 1997). Při vyšších koncentracích mohou pak sírany v anaerobním prostředí půdních rašelinných vod fungovat jako akceptor elektronů, a tím potlačovat mobilizaci DOC (Watson a Nedwell, 1998; Alewell a Novák, 2001). Současně je tím redukována i metanogeneze v karbonovém cyklu. Působením bakterií může při dostatečné koncentraci síranů

v půdních roztocích vzniká sulfan, který následně reaguje se železem za tvorby pyritu nebo s organickým substrátem za vzniku organických sloučenin síry. Při této reakci je labilní organický substrát spotřebováván, což má za následek pokles koncentrace DOC, při humifikaci naopak krátké řetězce organických látek vznikají (Bartlett et al., 2005). V hlubších rašelinných horizontech převažují mineralizační procesy, dochází k reoxidaci organicky vázané síry vlivem některých choinodních struktur organické hmoty za vzniku thiosíranů a v konečné fázi síranů (Blodau, 2007).

Z výše uvedeného vyplývá, že sírany (ačkoli samy ekologicky nezávadné) hrají v rašelinných půdách velmi významnou roli v humifikačních a mineralizačních procesech. Přestože jsou přirozenou součástí povrchových vod (geogenní původ, mineralizace organické hmoty), jejich současné koncentrace jsou stále příliš vysoké v porovnání s původním ekologicky nenarušeným stavem (Hruška, 1997).

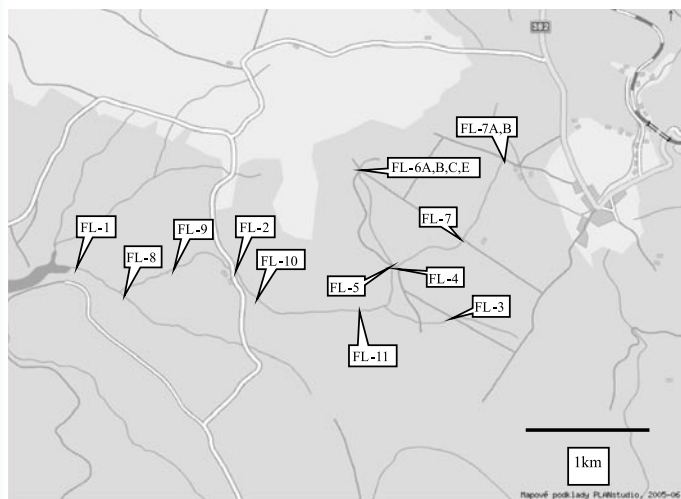
Experimentální část

Cílem práce bylo získat informace o vývoji koncentrace síranů ve vodách Flájského potoka v Krušných horách, stanovit formy výskytu síry v povrchových a půdních vodách jeho povodí pomocí analytických technik iontové chromatografie (IC) a optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (OES-ICP) a identifikovat hlavní zdroje odnosu síranů v povodí.

Analytické metody

Koncentrace DOC byly stanoveny na přístroji Shimadzu 5000A (termální rozklad vzorku s detekcí CO_2), celkový obsah síry byl stanoven technikou OES-ICP na přístroji Thermo IRIS Intrepid II a síra síranová byla analyzována technikou iontové chromatografie na přístroji Dionex ICS 2500.

Obsah organicky vázané síry byl stanoven výpočtem jako rozdíl jejího celkového obsahu a síry síranové. Vzhledem k ombrotrofnímu charakteru sledovaných rašelinišť (s nízkým přísunem síranů) nebyl uvažován významnější podíl anorganických sulfidů v důsledku bakteriální redukce síranů v anaerobním prostředí (Steinman a Shottlyk, 1997).



Obr. 1. Mapa odběrových míst v povodí Flájského potoka

Tabulka 1. Stručný popis odběrových míst v povodí Flájského potoka

Označení	Stručný popis
FL-1	před ústím do nádrže
FL-2	nad mostem silnice vedoucí okolo nádrže, přibližně 1 700 m nad místem FL-1
FL-3	levostranný přítok Flájského potoka (potok vytéká z převážně smrkového a modřínového lesního porostu)
FL-4	Flájský potok před ústím pravostranného přítoku z Grünwaldského vřesoviště (nad mostem přes cestu)
FL-5	pravostranný přítok Flájského potoka reprezentující sumární odtok z Grünwaldského vřesoviště a obtoky kolem vřesoviště
FL-6A	potok obtékající východně Grünwaldské vřesoviště (sbírá vodu z lesního porostu – potok je pouze minimálně ovlivněn vodami z rašelinišť)
FL-6B	výtok strouhy z Grünwaldského vřesoviště (rašeliniště vrchovištního typu)
FL-6C	pokračování výtoku z Grünwaldského vřesoviště (přibližně o 150 m níže)
FL-6E	rašelinná louže po pravé straně cesty vedoucí od příjezdové cesty ke Grünwaldskému vřesovišti
FL-7	střední část Flájského potoka (u mostu)
FL-7A	horní část Flájského potoka (pravá větev)
FL-7B	horní část Flájského potoka (levá větev), výtok z březového porostu starého 30–40 let (značně vysušená degenerovaná rašeliniště)
FL-8-11	přítoky Flájského potoka z lesních (převážně smrkových) porostů

Odběry vzorků vody a odběrová místa

Odběr vody pro stanovení síranů a celkové síry byl proveden do PE vzorkovnic o objemu 250 ml, pro stanovení DOC do 100ml skleněných vzorkovnic se zábrusem. Před analýzou byly vzorky vody filtrovány (0,45 μm) a uchovávány při teplotě 5 $^{\circ}\text{C}$.

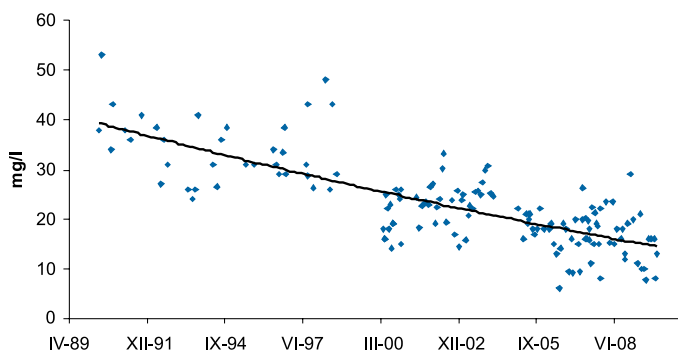
Půdní voda z rašelinišť a rašelinných ploch byla odebrána píšťovým odběrákem popsaným v práci Lochovského (2009).

Odběrová místa v povodí Flájského potoka jsou označena na mapě na obr. 1 a stručně popsána v tabulce 1.

Výsledky

Časový vývoj koncentrace síranů ve vodách Flájského potoka

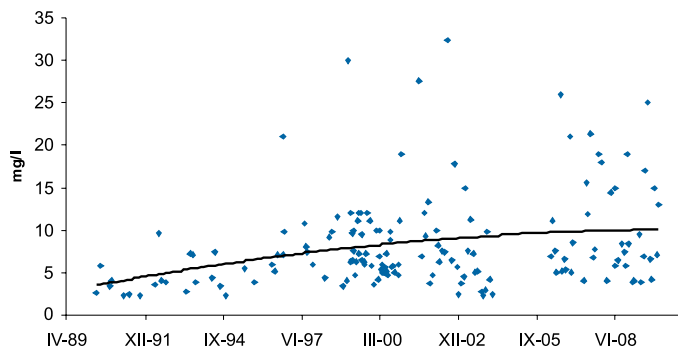
Koncentrace síranů byly ve vodách Flájského potoka pravidelně sledovány podnikem Povodí Ohře, s.p., od roku 1990 v jeho koncovém profilu před ústím do nádrže. Tato data byla doplněna výsledky naměřenými v rámci řešení česko-německého projektu „Huminové látky v Krušných horách“ v letech 2001–2004, jehož spoluřešitelem byl VÚV TGM, a z poslední doby byla použita data získaná v rámci řešení výzkumného záměru MZP0002071101 (období 2005–2009). Na obr. 2 je zobrazen průběh koncentrace síranů v koncovém profilu Flájského potoka za období 1990–2009.



Obr. 2. Průběh koncentrace síranů ve vodách koncového profilu Flájského potoka v letech 1990–2009

Z obr. 2 je patrný výrazný pokles koncentrace síranů ve vodách Flájského potoka v průběhu sledovaného období. Zatímco v roce 1990 se průměrné hodnoty pohybovaly kolem 40 mg/l SO_4^{2-} , v roce 2009 lze v důsledku odsíření tepelných elektráren a snížení dalších atmosférických zdrojů emisí síry pozorovat již hodnoty kolem 15 mg/l SO_4^{2-} . Z obr. 2 je rovněž patrný poměrně značný rozptyl jednotlivých koncentračních nálezů způsobený změnami v hydrologických poměrech v průběhu roku.

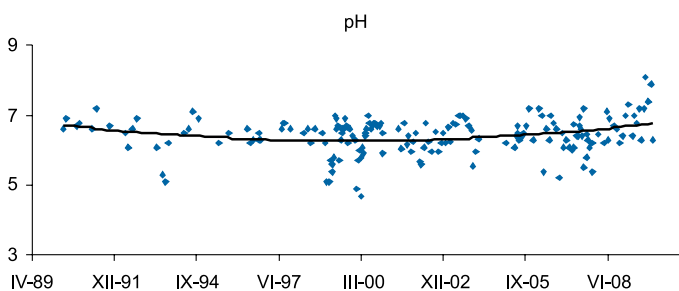
S poklesem kyselých atmosférických emisí došlo ve sledovaném období i k poklesu koncentrace vyplavovaných bazických kationtů (průměrné nálezy vápníku v roce 1990 se pohybovaly kolem 10 mg/l a hořčíku 3,4 mg/l , naproti tomu v roce 2009 lze pozorovat již hodnoty přibližně poloviční). Naopak u ukazatelů charakterizujících obsah organického uhlíku lze v uvedeném období pozorovat výrazný koncentrační nárůst. Na obr. 3 je zobrazen časový průběh koncentrace CHSK_{Mn} (ukazatel CHSK_{Mn} byl použit z důvodu srovnatelnosti starších dat, v současné době je obsah organického uhlíku sledován převážně na základě ukazatelů DOC a CHSK_{Cr}).



Obr. 3. Průběh koncentrace CHSK_{Mn} ve vodách koncového profilu Flájského potoka v letech 1990–2009

Na obr. 3 je patrný nárůst průměrných koncentrací ukazatele CHSK_{Mn} v daném časovém období. Zatímco v roce 1990 se průměrná hodnota CHSK_{Mn} pohybovala kolem 4 mg/l , v roce 2009 se nálezy pohybovaly již kolem 10 mg/l . Obdobně jako u průběhu koncentrace síranů je zde nápadný značný rozptyl výsledků jednotlivých nálezů, který souvisí zejména s průběhem srážkovodkových situací (viz Lochovský, 2008). Hodnota pH se v průběhu sledovaného období měnila pouze nevýrazně (obr. 4). V důsledku poklesu kyselých depozic začátkem devadesátých let by se dal očekávat

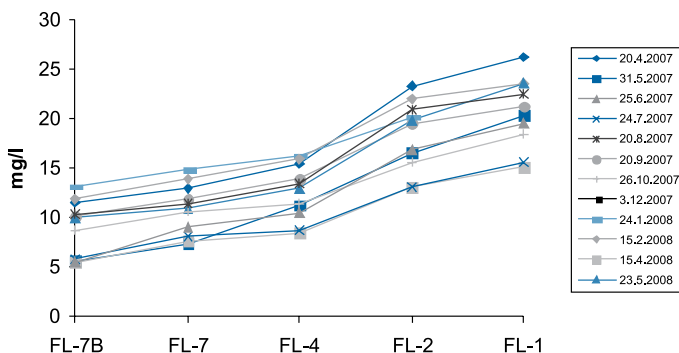
postupný nárůst hodnot pH, hodnoty naměřené začátkem 90. let jsou však mírně vyšší než hodnoty z období kolem roku 2000. Vysvětlením je zřejmě vápnění rašelinných ploch v povodí potoka, které bylo prováděno v osmdesátých letech. V posledních několika letech již lze na průběhu pH pozorovat mírný nárůst naměřených hodnot.



Obr. 4. Průběh hodnot pH ve vodách v koncovém profilu Flájského potoka v letech 1990–2009

Koncentrační změny síranů ve vodách v podélném profilu Flájského potoka

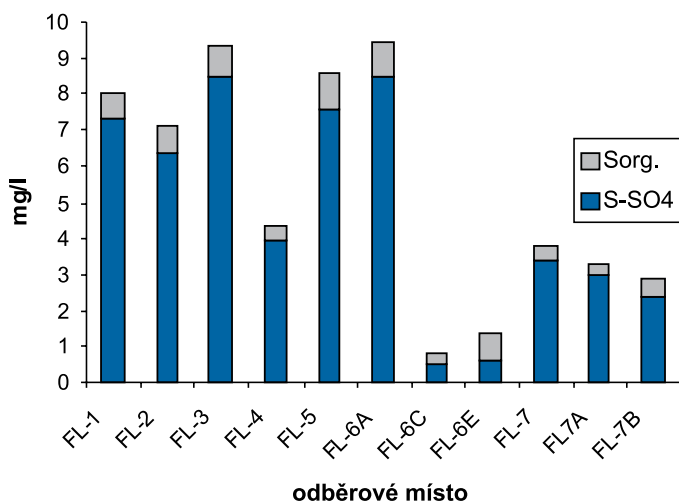
V průběhu období (4/2007–5/2008) byly v přibližně jednoměsíčních časových intervalech odebírány vzorky vody v podélném profilu Flájského potoka a analyzovány na obsah síranů (obr. 5). Z obr. 5 je vidět, že v podélném profilu potoka dochází k nárůstu jejich koncentrace. Změny souvisí s měnícím se charakterem povodí (Lochovský, 2008), nízké koncentrace síranů vytékající z rašelinišť a rašelinných ploch v horních partiích potoka se postupně mísí s vodami z lesních porostů v nižších polohách povodí, které obsahují koncentrace výrazně vyšší.



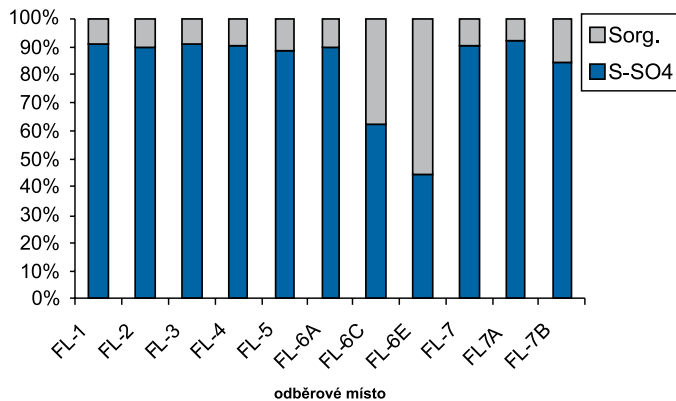
Obr. 5. Koncentrační změny síranů ve vodách v podélném profilu Flájského potoka v období 4/2007–5/2008 (odběry přibližně v jednoměsíčním časovém intervalu)

Formy síry ve vodách povodí Flájského potoka

Jak již bylo zmíněno v úvodu, je síra v rašelinných vodách ombrotrofních rašelinišť vázaná převážně v organických sloučeninách, které však mohou být v aerobním prostředí oxidovány na sírany. Rovněž přísun síry atmosférickými depozicemi probíhá ve formě nízkých koncentrací síranů. Na vybraných místech v povodí Flájského potoka (viz kapitolu „Odběry vzorků vody a odběrová místa“) byl proveden odběr vzorků vody, které



Obr. 6. Obsah síranové a organicky vázané síry v povrchových vodách povodí Flájského potoka (odběr 4. 6. 2010)



Obr. 7. Procentuální zastoupení síry síranové a organicky vázané ve vodách povodí Flájského potoka (odběr 4. 6. 2010)

byly analyzovány na obsah síranů a organicky vázané síry. Koncentrace jednotlivých forem síry a její procentuální zastoupení na celkovém obsahu jsou znázorněny na obr. 6 a 7.

Z obr. 7 je patrné, že na celkovém obsahu síry v povrchových vodách Flájského potoka se podílí převážně sírany, pouze ve vodách na odtocích z rašelinných ploch (FL-6C a FL-6E) je podíl organicky vázané síry vyšší. Na několika lokalitách v povodí Flájského potoka byl sledován vliv koncentrace rozpuštěného kyslíku na zastoupení jednotlivých forem síry. S klesajícím obsahem rozpuštěného kyslíku ve vodách rašelinných louží rostl i podíl organicky vázané síry (vliv redox podmínek). Experimentálně bylo zjištěno, že v hlubších rašelinných horizontech Grünwaldského vřesoviště je síra v půdní vodě vázána prakticky výlučně v organické formě, zatímco u svrchních horizontů, které jsou ovlivňovány vzdušným kyslíkem (zejména v období sucha při poklesu úrovně hladiny vody), bylo možno pozorovat zvýšené koncentrace síranové síry. Koncentrační nálezy celkové síry v půdní vodě spodních rašelinných horizontů byly velmi nízké a pohybovaly se do 1 mg/l

V tabulce 2 jsou zobrazeny koncentrace síry síranové a organicky vázané v půdní vodě vymačkané z odkrytých převisů rašelinných vrchovišť na Grünwaldském vřesovišti (aerobní prostředí).

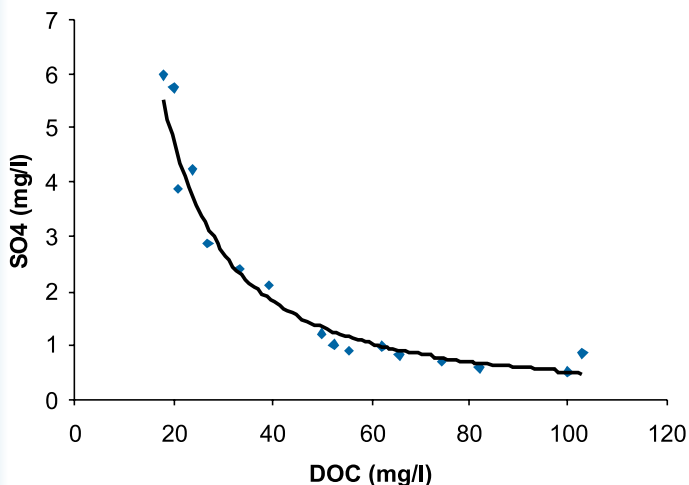
Tabulka 2. Výsledky analýz půdní vody vymačkané z odkrytých převisů rašelinných vrchovišť na Grünwaldském vřesovišti

Odběr	29. 8. 2008	29. 4. 2010	3. 5. 2010	4. 6. 2010
$S_{SO_4}^{2-}$ (mg/l)	7,3	6,1	5,9	4,0
$S_{org.}$ (mg/l)	0,8	0,6	1,1	< MS
pH	3,6	3,5	3,7	3,8
DOC (mg/l)	79	88	113	58
NO_3^- (mg/l)	8,0	5,6	12,2	9,3

Z tabulky 2 je patrné, že v půdní vodě odkrytých převisů rašelinných vrchovišť na Grünwaldském vřesovišti převládá v důsledku aerobního prostředí síra síranová, vzniklá mineralizací svrchních rašelinných horizontů. Obsah síranové síry je zde v porovnání s rašelinnými vodami, které odtékají z Grünwaldského vřesoviště (průměrná koncentrace 0,8 mg/l $S_{SO_4}^{2-}$), a vodami srážkovými poměrně vysoký. V tabulce 2 jsou rovněž patrné velmi nízké hodnoty pH v rozmezí 3,5–3,8 a vyšší nálezy aniontů NO_3^- , které se v rašelinných vodách vyskytují pouze ve velmi nízkých koncentracích (Lochovský, 2008). Odkryté svrchní rašelinné vrstvy v době sucha vysychají a naopak po vydatnějších srážkách z nich vytéká rašelinná voda, která se dostává do živých rašelinišť Grünwaldského vřesoviště. V průběhu vegetačního období jsou vyšší koncentrace síranů (odtékající z degradované rašelinné půdy) velmi rychle fixovány rostlinným porostem. V obdobích intenzivního rašelinnění (růstu rašeliničku) se koncentrace síranů v rašelinných loužích Grünwaldského vřesoviště blížily mezi stanovitelnosti použité analytické metody (< 0,5 mg/l $S_{SO_4}^{2-}$), což je zřejmě jedním z důvodů jejich velmi nízkých nálezů ve vodách na odtocích z rašelinných ploch ve vegetačním období a naopak vyšších nálezů v období zimním (Lochovský, 2008).

Zajímavý je inverzní vztah koncentrací DOC a SO_4^{2-} , který byl pozorován v rašelinných vodách odtékajících z rašelinišť v horních partiích Flájského potoka. Na odtoku z Grünwaldského vřesoviště (FL-6B) a ve dvou rašelinných loužích u lokality FL-7B byly v období 2006–2009 sledovány koncentrace DOC a $S_{SO_4}^{2-}$. Vzájemný vztah obou ukazatelů pro odtok z Grünwaldského vřesoviště je graficky znázorněn na obr. 8.

Inverzní vztah mezi koncentracemi DOC a SO_4^{2-} na odtocích z rašelinných půd poprvé zmiňují Krug a Frink (1983). Na základě laboratorních experimentů autoři prokázali, že zvýšená acidita a iontová síla (spojená s vysokými obsahy SO_4^{2-}) snižují rozpustnost organických kyselin v půdních



Obr. 8. Inverzní vztah koncentrací DOC a SO_4^{2-} ve vodách na odtoku z Grünwaldského vřesoviště

roztocích. Některé experimentální práce vysvětlují vliv zvýšené acidity poklesem mikrobiální činnosti (Brown, 1985; Sanger, 1994). Chapman et al. (2005) a Clark et al. (2005) vysvětlují výše uvedený inverzní vztah DOC a SO_4^{2-} na základě změn v mobilitě DOC. V průběhu delšího období sucha je podle autorů síra v rašelinných půdách reoxidována, čímž dochází ke zvýšené acidity a iontové síly půdních roztoků, což se následně projevuje potlačení mobilizace DOC z rašelinné půdy. Autoři se domnívají, že právě pokles kyselých atmosférických depozic s vysokým obsahem síry je jednou z hlavních příčin zvýšených odnosů DOC ve vodách z povodí horských oblastí s výskytem rašelinišť a rašelinných půd.

Zdroje síranů v povodí Flájského potoka

Z výsledků sledování jakosti vod v povodí Flájského potoka (Lochovský, 2008) je zřejmé, že hlavním zdrojem síranů v povodí potoka nejsou rašeliniště a rašelinné plochy v horních partiích potoka (které však představují hlavní zdroj DOC), nýbrž jeho drobné přítoky vytékající převážně z lesních porostů. Z průběhu koncentrace síranů ve vodách v podélném profilu Flájského potoka (obr. 4) je patrné, že k jejich výraznému nárůstu dochází v dolních partiích potoka mezi odběrovým místem FL-4 a koncovým profilem FL-1 před ústím do nádrže. Sledování byla proto zaměřena na vybrané přítoky Flájského potoka. V tabulce 3 jsou uvedeny výsledky analýz síranů ve vodách přítoků Flájského potoka na odběrových místech FL-3, FL-5, FL-6A (měsíční odběry v letech 2006–2008) a několika dalších přítoků na lokalitách FL-8, FL-9, FL-10, FL-11 (celkem devět odběrů v letech 2008–2009).

Tabulka 3. Koncentrace síranů ve vybraných přítocích Flájského potoka (mg/l SO_4^{2-})

Odběrové místo	FL-3	FL-5	FL-6A	FL-8	FL-9	FL-10	FL-11
Průměr	25,2	20,7	23,3	26,1	24,9	29,1	27,7
Min.	15,7	11	16	22,5	21,8	22,5	23,9
Max.	31,3	26,7	27,4	29,2	28,3	32,3	30,5

Z tabulky 3 je patrné, že průměrné koncentrace síranů ve vodách přítoků Flájského potoka jsou v porovnání s vodami v samotném Flájském potoce vyšší. Průměrné koncentrační nálezy v koncovém profilu Flájského potoka (odběrové místo FL-1) se pohybovaly na úrovni 17 mg/l v roce 2008 a 15 mg/l v roce 2009. Hlavní zdroj síranů v povodí Flájského potoka představují tedy vody jeho přítoků, zejména v nižších partiích povodí. Nejvyšší koncentrace síranů v přítocích Flájského potoka bylo možno pozorovat v obdobích letního sucha při nízkých průtocích vody, kdy na celkovém odtoku z povodí převažoval bazální odtok. V tomto období bylo možno pozorovat i nejnižší koncentrace DOC. Naopak při vysokých průtocích vody docházelo k poklesu koncentrace síranů v důsledku ředění vod bazálního odtoku vodami srážkovými a vodami z rašelinišť a rašelinných ploch s jejich nízkým obsahem.

Závěr

Síraný tvoří přirozenou součást většiny povrchových vod, z hlediska přímého dopadu na člověka i vodní ekosystémy je lze v běžných koncentracích považovat za nezávadné. Jsou však také významnou součástí řady biochemických a geochemických procesů (cyklů), které jsou v antropogenně narušeném prostředí v rovnováze. Jak je vidět na příkladu horských ombrotrofních rašelinišť (s nízkým atmosférickým přísunem živin) v povodí Flájského potoka, jsou tyto rovnováhy velmi choulostivé na vnější vlivy.

Vedle teplotních změn a změn v charakteru hydrologických odtoků (v rámci globálního oteplování) hrají ve zvýšeném odnosu DOC v posledních dvou desetiletích významnou roli změny zejména v chemismu povrchových vod. Průměrné roční koncentrace síranů ve vodách Flájského potoka poklesly v uvedeném období téměř třikrát (ze 40 mg/l na 15 mg/l), naopak obsah organických látek (vyjádřený jako oxidovatelnost CHSK_{Mn}) vzrostl ze 4 mg/l na 10 mg/l . Vývoj koncentrace síranů prozatím ukazuje na jejich stálý pokles od roku 1990.

V rámci průzkumných činností v povodí Flájského potoka byly v jeho vodách stanoveny formy výskytu síry. Bylo zjištěno, že v půdních roztocích spodních rašelinných horizontů převažuje síra vázaná organicky, v rašelinných loužích na odtocích z rašelinišť jsou zastoupeny obě formy a v povrchových vodách Flájského potoka a jeho přítocích dominuje síra síranová. Mezi koncentracemi DOC a obsahem síranů v půdních roztocích a ve vodách na odtocích z rašelinišť byl zjištěn inverzní vztah, který podporuje hypotézu některých autorů o vlivu síranů na mobilizaci organického uhlíku z rašelinné hmoty.

Hlavním zdrojem síranů v povodí Flájského potoka jsou drobné přítoky vytékající z lesních porostů, zejména v nižších partiích potoka, jejich nejvyšší koncentrace byly pozorovány v období sucha, v době převažujícího bazálního odtoku.

Literatura

- Alewel, C. and Novák, M. (2001) Spotting zones of dissimilatory sulfate reduction in a forested catchment: the 34S–35S approach. *Environ. Poll.*, 112, 369–377.
- Andersson, S. and Nilsson Sl. (2001) Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil-solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in amor humus. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1181–1191.
- Bartlett, R., Bottrell, S., and Coulson, J. (2005) Behaviour of sulphur during diagenesis of a maritime ombrotrophic peat from Yell, Shetland Islands, UK. *Applied Geochemistry*, 20, 1597–1605.
- Blodau, C., Mayer, B., Peiffer, S., and Moore TR. (2007) Support for an anaerobic sulfur cycle in two Canadian peatland soils. *Journal of Geophysical Research*, vol. 112, 1–10.
- Brown, KA. (1985) Sulfur distribution and metabolism in waterlogged peat. *Soil Biol & Biochem*, 17(1), 39–45.
- Chapman, P.J., Clark, J.M., Heathwaite, AL. et al. (2005) Sulphate controls on dissolved organic carbon dynamics in blanket peat: linking field and laboratory evidence. In *Dynamics and Biogeochemistry of River Corridors and Wetlands* (eds Heathwaite, L.; Webb, B.; Rosenberry, D.; Weaver, D.; Hayash, M.), p. 3–7. IAHS Publication 294, Wallingford.
- Clark, J.M. (2005) Environmental controls on the production and export of dissolved organic carbon in an upland Peat catchment. PhD Thesis, School of Geography, University of Leeds, UK.
- Davies, J.L., Jenkins, A., Monteith, D.T. et al. (2005) Trends in surface water chemistry of acidified UK freshwaters, 1988–2002. *Environmental Pollution*, 137, 27–39.
- Driscoll, C.T., Driscoll, K.M., Roy, K.M., and Mitchell, M.J. (2003) Chemical response of lakes in the Adirondack region of New York to declines in acidic deposition. *Environmental Science and Technology*, 37, 2036–2042.
- Evans, C.D., Freeman, C., Monteith, D.T. et al. (2002) Climate change – Terrestrial export of organic carbon: communication arising. *Nature*, 415, 862.
- Evans, C.D., Monteith, D.T., and Cooper, D.M. (2005) Long-term increases in surface water dissolved organic carbon: observations, possible causes and environmental impacts. *Environmental Pollution*, 137, 55–71.
- Evans, C.D., Chapman, P.J., Clark, J.M., Monteith, D.T., and Cresser, M.S. (2006) Alternative explanations for rising dissolved organic carbon export from organic soils. *Global Change Biology*, 12, 2044–2053.
- Freeman, C., Evans, C.D., Monteith, D.T., Reynolds, B., and Fenner, N. (2001) Export of organic carbon from peat soils. *Nature*, 412, 785.
- Freeman, C., Fenner, N., Ostile, N.J., Kang, H., Dowrick, D.J., Reynolds, B., Lock, M.A., Sleep, D., Hughes, S., and Hudson, J. (2004) Export of dissolved organic carbon from peatlands under elevated carbon dioxide levels. *Nature*, 430, 195–198.
- Grunewald, K., Schmidt, W. (2005) Problematische Huminstoffeinträge in Oberflächen-gewässer im Erzgebirge. Berlin : Rhombos Verlag.
- Hejzlar, J., Dubrovsky, M., Buchtele, J., and Ruzicka, M. (2003) The apparent and potential effects of climate change on the inferred concentration of dissolved organic matter in a temperate stream (the Malse River, south Bohemia). *Science of the Total Environment*, 310, 143–152.
- Hruška, J., Johnson, C.E., Krám, P., and Liao, C. (1997) Organic Solutes and the Recovery of a Bog Stream from Chronic Acidification. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 3677–3681.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J.H. et al. (2000) Controls on the dynamics of organic matter in soils: a review. *Soil Science*, 165, 277–304.
- Krug, E.C. and Frink, C.R. (1983) Acid rain on acid soil—A new perspective. *Sci*, 221 (4610), 520–5.
- Lochovský, P. (2008) Sledování jakosti vody v povodí Flájského potoka v Krušných horách. *VTEI*, roč. 50, č. 6, s. 9–13, příloha *Vodního hospodářství* č. 12/2008.
- Lochovský, P. (2009) Procesy na redox rozhraní vod vytékajících z rašelinišť v povodí Flájského potoka v Krušných horách. *VTEI*, roč. 50, č. 6, s. 11–13, příloha *Vodního hospodářství* č. 12/2009.

- Peterson, RC. (1990) Effects of ecosystem changes (e.g. acid status) on formation and biotransformation of organic acids. In Organic Acids in Aquatic Ecosystems. Report of the Dahlem Workshop on Organic Acids in Aquatic Ecosystems, Berlin 1989, May 7–12 (eds Perdue, EM.; Gjessing, ET.), p. 151–166. Berlin : Wiley.
- Sanger, LJ, Billett, MF., and Cresser, MS. (1994) The effects of acidity on carbon fluxes from ombrotrophic peat. *Chemistry and Ecology*, 8, 249–264.
- Steinman, P. and Shoty, W. (1997) Chemical composition, and redox state of sulphur and iron in complete vertical porewater profiles from two Sphagnum peat bogs. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 61, 1143–1163.
- Thurman, EM. (1985) Organic Chemistry of Natural Waters. Dordrecht : Nijhoff/Junk.
- Watson, A. and Nedwell, DB. (1998) Methane production and emission from peat: the influence of anions (sulphate, nitrate) from acid rain. *Atmos. Environ.* 32, 3239–3245.

Zpracováno s podporou výzkumného záměru MZP0002071101. Veškeré analýzy byly provedeny v Referenční laboratoři složek životního prostředí a odpadů VÚV TGM, v.v.i., Praha.

Autoři děkují pracovníkům podniku Povodí Ohře, s.p., (Ing. L. Vondrákovi a Ing. I. Brežnému) za poskytnutí příslušných datových podkladů.

RNDr. Petr Lochovský, Ing. Miroslav Farský
VÚV TGM, v.v.i.

Petr_Lochovsky@vuv.cz, Miroslav_Farsky@vuv.cz

Příspěvek prošel lektorským řízením.

Sulphur and sulphates in peat-bog waters of the Flájský stream in the Ore Mountains (Lochovský, P.; Farský, M.)

UVOLNĚNÍ ZAKOLMATOVANÉHO LOŽE ZEMNÍHO FILTRU IN-SITU APLIKACÍ ENZYMŮ

Filip Wanner, Eva Mlejnská

Klíčová slova

zemní filtr – kolmatace – enzymy

Souhrn

Kolmatace je všeobecným problémem porézních materiálů, kterými proudí ať srážková, průsaková nebo odpadní voda. U extenzivních technologií, především kořenových čistíren a zemních filtrů, které jsou využívány pro čištění vod z malých obcí (do 500 EO), je problém kolmatace poměrně častým jevem. Jde o souhrn fyzikálních, chemických a biologických procesů, které vedou ke snižování propustnosti porézního materiálu, a tím ke snížení čistícího účinku těchto systémů. Článek shrnuje pokus provedený na zakolmatovaném zemním filtru, kdy bylo k jeho zprůchodnění namísto klasické metody výměny (externí regenerace) filtrační náplně použito přípravku na bázi enzymů, který byl dávkován přímo do zemního filtru (aplikace in-situ). Výsledky experimentu prokázaly částečnou schopnost uvolnit zakolmatované lože a obnovit účinnost čištění odpadních vod.

Úvod

Zemní filtry jsou zařízení sloužící k čištění odpadních vod z malých obcí, která využívají schopnosti porézního prostředí podporovat fyzikální, chemické a biologické procesy probíhající při odstraňování znečištění. Jsou vhodné pro čištění běžných a zředitelných komunálních odpadních vod. Nehodí se k čištění odpadních vod s velkým množstvím obtížně usaditelných kalů a organického znečištění. Takové vody způsobí rychlé zanesení (kolmataci) filtrační náplně (Mlejnská et al., 2009).

Zanášení porézních materiálů částicemi (kolmatace) patří k velmi závažným problémům a je předmětem zájmu celé řady oborů. Kolmatace je proces snižování porozity a propustnosti systému (Siriwardene et al., 2007). Tento proces je velmi složitý a názory na jeho vznik nejsou jednotné. Jde o souhrn fyzikálních, chemických a biologických procesů (Winter and Goetz, 2003; Siriwardene et al., 2007; Schwarz et al., 2006; Reddi et al., 2005), které vedou nejen ke snížení propustnosti filtračního lože, tzn. hydraulické konduktivity a porozity zrnitého materiálu (Pedescoll et al., 2009), ale také významně ovlivňují přenos kyslíku ze vzduchu do vody (Kayser and Kunst, 2005; Hua et al., 2010). Obě tyto skutečnosti mají za následek významný pokles schopnosti systému čistit odpadní vodu. Kolmatace patří k častým provozním problémům systémů čistících srážkové a průsakové vody a v neposlední řadě také extenzivních technologií čištění odpadních vod, zejména pak kořenových čistíren a zemních filtrů. Zde jde hlavně o kolmataci porézního filtračního prostředí nerozpuštěnými látkami, především jemnými zemitými a organickými částicemi z povrchových smyvů

Key words

peatbogs – humic substances – DOC releas – acidification – sulphates – sulphur cycling

During the last two decades increased concentrations of DOC in surface waters draining the highland areas in the Czech Republic and some other states in Europe and North America could be observed. At the same time considerable reduction of acidic emissions, especially of sulphates has been taking place.

The article is dealing with time and space changes of the sulphate concentrations in surface waters of the Flájský stream drainage area in the Ore Mountains. Current mean concentrations of sulphate in surface waters at the stream mouth is about 16 mg/l SO₄²⁻, while in 1990 concentrations higher than 40 mg/l SO₄²⁻ could be observed. By the means of ion chromatography and ICP-OES instrumentation the forms of organic and inorganic sulphur in peat-bog waters of the Flájský stream could be distinguished. It was ascertained that peat-bog pore waters contain predominantly organically bounded sulphur, whereas in waters flowing out of the peat-bogs higher concentrations of sulphate could be observed. In surface waters of the Flájský stream drainage area anorganic sulphate predominated.

Between DOC and SO₄²⁻ concentrations in peat-bog waters an inverse correlation could be observed. This supports the hypothesis of some authors as to the influence of sulphates at the mobilisation of DOC from peat-bog soils.

The main portion of sulphates in the waters of the Flájský stream drainage area comes from small tributaries flowing out of the forested areas in the lower part of the stream.

a kalem vyplavovaným ze stokové sítě a mechanického stupně čištění (Šálek et al., 2008). Rozsah kolmatace závisí na množství těchto látek (vyjádřeno ukazateli CHSK_{Cr}, nerozpuštěné látky) v přítékající odpadní vodě (Winter and Goetz, 2003), hydraulickým zatížením (Schwarz et al., 2006), zrnitostním složením porézního filtračního prostředí, jeho struktuře a textuře, době provozu zařízení apod.

Ke kolmataci filtračního prostředí dochází buď nárazovým uvolněním těchto částic např. při přívalových deštích, nebo pozvolným zakolmatováním, které způsobuje především nevhodná konstrukce usazovacích nádrží nebo jejich chybné provozování a údržba, např. nedostatečné průběžné odstraňování kalu (Turon et al., 2009). Příčinou může být i nevhodně zvolený materiál filtračního prostředí. Hua et al. (2010) uvádějí, že větší velikost filtračního materiálu může zabránit nebo zpozdit ucpaní. Stejně závěry uvádějí i McIsaac a Rowe (2007) pro šterk o velikosti 38 mm v porovnání se šterkem velikosti 19 mm. Reddi et al. (2000) dospěli k závěru, že velikost částic unášených kapalným médiem není rozhodující, protože ke kolmataci dochází jak velkými, tak malými částicemi.

Kolmataci je možné omezit především vhodnou volbou mechanického předčištění, resp. usazovací nádrže. Šálek et al. (2008) uvádí tři možné způsoby regenerace filtrační náplně kořenových čistíren, které lze aplikovat i na zemní filtry. Je to (1) odstraňování kalu ze zakolmatovaného filtračního prostředí proplachováním, bakteriálním rozkladem apod., (2) vytěžení zakolmatovaného filtračního materiálu, jeho ponechání v tenké vrstvě přes zimní období na zpevněné vrstvě odvodněné přes lapák písku a vyplavení kalových částic deštěm a následně vodou, (3) vytěžení zakolmatovaného filtračního materiálu a jeho následná regenerace ve speciálních pračkách. Všechny tyto metody jsou sice vysoce účinné, bohužel jsou ale spojeny se značnými finančními náklady. Zároveň dochází k vyřazení zemního filtru z provozu, takže vzniká i problém s nakládáním s přítékající odpadní vodou po dobu regenerace filtrační náplně.

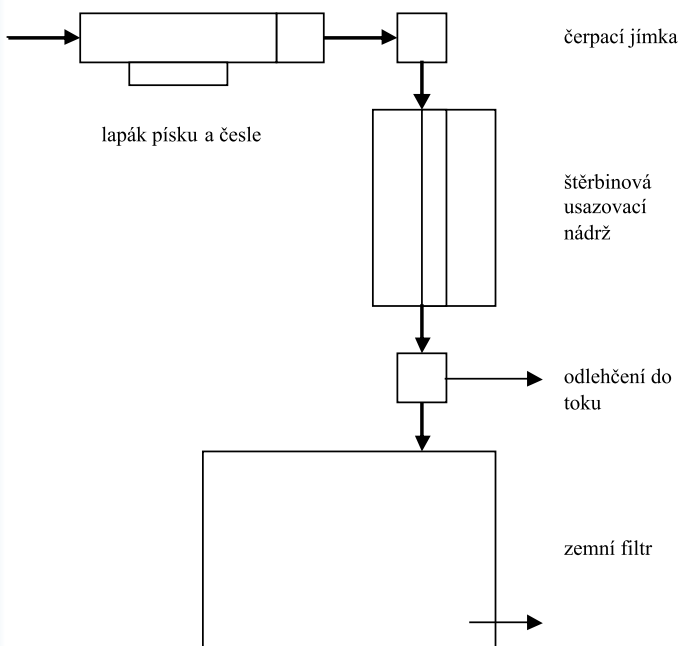
Jako alternativní metoda regenerace filtračního lože se v poslední době zkouší in-situ aplikace přípravků, které by rozpustily usazeniny a uvolnily filtrační lože bez nutnosti jeho mechanického čištění. Nivala a Rousseau (2009) popisují dvě případové studie regenerace filtračního lože kořenových ČOV za použití 35% peroxidu vodíku, který je schopen oxidovat jinak biologicky neudbouratelné části biofilmu. Také Guofen et al. (2010) se zabývají možnostmi odstranění usazenin z filtračního lože kořenové ČOV za pomoci dávkování čtyř různých roztoků, a to konkrétně hydroxidu sodného (NaOH), chlornanu sodného (NaClO), kyseliny chlorovodíkové (HCl) a speciálně připraveného detergentu. Obě tyto studie sice prokázaly dobrou účinnost regenerace zakolmatovaného filtračního lože aplikací výše uvedených přípravků, na druhé straně došlo jejich vlivem k dočasnému poškození biofilmu a kořenů rostlin. Po aplikaci těchto přípravků pak následovalo období cca jednoho měsíce regenerace biofilmu filtračního lože.

Jinou možností je in-situ dávkování přípravků na bázi bakterií a enzymů. V současné době není v odborné literatuře mnoho dostupných údajů o těchto typech přípravků a zkušeností s nimi. Naopak některé firemní prezentace výrobců enzymů jim přisuzují někdy až mimořádné vlastnosti. Autoři se proto rozhodli navázat spolupráci s jedním výrobcem těchto přípravků a vyzkoušet jej v praxi.

Tento příspěvek shrnuje zkušenosti s využitím enzymatického přípravku ke zprůchodnění zakolmatované náplně zemního filtru.

Popis lokality, specifika

Experiment probíhal na zemním filtru situovaném v okrese Praha-východ, na který je napojena část obce, cca 78 obyvatel, odtok je zaústěn do Ledeckého potoka. Projektovaná kapacita zemního filtru je 202 EO při nátočce 49 m³/d odpadních vod a látkovém zatížení 13 kg/d BSK₅. Do čistírny je zaústěna jednotná kanalizace, na kterou je postupně napojována nová zástavba. Čistírna se skládá ze šterbinového lapáku písku, česlí, čerpací stanice, šterbinové usazovací nádrže o objemu cca 100 m³ a vlastního tělesa zemního filtru o celkové ploše cca 280 m². Hloubka filtrační náplně je 0,5 až 0,75 m. Jak je vidět z uspořádání čistírny (obr. 1), nepřitéká odpadní voda do šterbinové usazovací nádrže kontinuálně, ale je čerpána v nárazech. Tato skutečnost společně s velmi krátkou dobou zdržení ve šterbinové nádrži (řádově pár hodin) způsobuje vyplavování kalu dále do systému.



Obr. 1. Schéma sledovaného zemního filtru

V rámci výzkumného záměru probíhalo v této lokalitě v letech 2006 až 2008 pravidelné sledování včetně odběru dvouhodinových nebo 24hodinových směsných vzorků v profilech: přítok na ČOV, přítok do zemního filtru (za mechanickým předčištěním) a odtok ze zemního filtru. Bylo měřeno množství přitékajících a odtékajících odpadních vod, na místě a v odebraných vzorcích byly stanovovány následující ukazatele: pH, elektrická vodivost, koncentrace rozpuštěného kyslíku, oxidačně-redukční potenciál, teplota vody a vzduchu, nerozpuštěné látky, BSK₅, CHSK_{Cr}, jednotlivé formy dusíku včetně celkového, celkový fosfor a fosforečnany. V případě zvýšeného přítoku odpadních vod není zemní filtr schopen pojmout toto množství, a proto dochází k obtékání části odpadních vod po průchodu mechanickým předčištěním přímo do toku. Průměrné znečištění na přítoku, za mechanickým předčištěním a na odtoku ze zemního filtru shrnuje *tabulka 1*.

Tabulka 1. Průměrné znečištění v období 1/2006 až 3/2008

		CHSK _{Cr} (mg/l)	BSK ₅ (mg/l)	NL (mg/l)	N-NH ₄ ⁺ (mg/l)	N-NO ₂ ⁻ (mg/l)	N-NO ₃ ⁻ (mg/l)	N _{org} (mg/l)	P _{celk.} (mg/l)	P-PO ₄ ³⁻ (mg/l)
P	max.	700	280	716	60,0	0,950	7,50	38,0	9,20	5,40
	min.	50,0	20	22,0	3,70	0,020	0,200	4,20	0,950	0,750
	průměr	279	125	137	24,4	0,365	2,94	12,1	4,69	2,73
M	max.	485	203	188	51,0	1,10	6,50	28,0	7,60	5,20
	min.	37,0	16	17,0	3,30	0,020	0,100	2,70	0,650	0,750
	průměr	224	92	77,2	24,7	0,194	1,03	9,68	3,99	2,62
O	max.	109	38	28,0	27,0	4,95	26,0	18,3	5,00	5,00
	min.	12,0	0,70	1,00	0,350	0,020	3,00	0,050	1,70	1,70
	průměr	55,5	11	10,5	12,9	0,513	10,7	1,86	3,25	2,94

Vysvětlivky: P – přítok na ČOV, M – za mechanickým předčištěním, O – odtok ze zemního filtru

Jak ukazuje *tabulka 1*, dosahoval zemní filtr během sledování poměrně vysokých účinností čištění (za mechanickým předčištěním–odtok) pro parametry BSK₅ a NL – 88,0 %, resp. 75,2 %. Probíhající proces nitrifikace ukazuje, že zemní filtr fungoval v anoxických až oxických podmínkách, průměrná účinnost odstraňování amoniakálního dusíku byla 47,8 %.

V letech 2006 až 2008 přitékalo na čistírnu od 25 % do 365 % (v průměru 129 %) návrhového množství odpadních vod a od 7 % do 385 % (v průměru 61 %) návrhového množství BSK₅ s rostoucím trendem v roce 2008. Tato data naznačují, že zemní filtr byl často hydraulicky a v některých případech i látkově přetěžován. To mělo společně s nevhodným konstrukčním uspořádáním mechanického předčištění za následek postupné ucpávání náplně zemního filtru. V průběhu roku 2009 došlo k částečnému ucpání filtrační náplně, což se projevilo snížením podílu celkového množství odpadních vod, které prošlo čištěním přes zemní filtr. Taktéž výsledky rozborů vyčištěné odpadní vody vypouštěné ze zemního filtru vykazovaly výrazně horší výsledky než ve sledovaném období 2006 až 2008. Z těchto důvodů se jej provozovatel rozhodl vyřadit z provozu a veškerou přitékající odpadní vodu nadále vyvážet fekálními vozy ke zpracování na jinou ČOV. Všechny tyto okolnosti vedly k tomu, že po dohodě s provozovatelem byla tato lokalita zvolena jako vhodná pro experiment s enzymatickým přípravkem.

Metodika

Po zajištění vhodné lokality pro naplánovaný experiment byla navázána spolupráce s firmou BioEnviro, s.r.o., která po prohlídce řešené lokality dodala 11 kg přípravku na bázi bakterií a enzymů vlastní výroby pro uvolnění zakolmatovaného filtračního lože. Konkrétní složení přípravku je obchodním tajemstvím společnosti.

Dne 7. 10. 2009 došlo k přerušení provozu zemního filtru uzavřením obou odtokových potrubí z tělesa zemního filtru (obr. 2). Zemní filtr byl následně napuštěn odpadní vodou a bylo zahájeno dávkování enzymatického přípravku podle předem vypracovaného harmonogramu (*tabulka 2*). V prvních týdnech bylo dávkováno vyšší množství z důvodu rychlejšího pokrytí celé plochy lože zemního filtru enzymatickým přípravkem. Každá dávka enzymatického přípravku byla rozpuštěna v cca 10 litrech odpadní vody a ponechána v klidu zhruba 5 minut pro aktivaci enzymů. Posléze byl takto připravený roztok nadávkován do rozdělovacího objektu za mechanickým předčištěním. Následně bylo do filtru načerpáno menší množství odpadní vody pro zajištění kontaktu enzymatického roztoku se zaneseným ložem zemního filtru.

Dávkování probíhalo po dobu tří měsíců, poté následovalo dvouměsíční období klidu.



Obr. 2. Uzavření tělesa zemního filtru

Tabulka 2. Plán dávkování

Datum	Množství [kg]
07. 10. 2009	2,0
15. 10. 2009	1,0
23. 10. 2009	1,0
29. 10. 2009	1,0
03. 11. 2009	0,5
12. 11. 2009	0,5
19. 11. 2009	0,5
27. 11. 2009	0,5
03. 12. 2009	0,5
11. 12. 2009	1,0
17. 12. 2009	1,0
07. 01. 2010	1,0
Celkem	10,5

Diskuse výsledků

Zemní filtr byl znovu zprovozněn dne 3. 3. 2010 (obr. 3). V tabulce 3 jsou uvedeny hodnoty jednotlivých ukazatelů znečištění před uzavřením lože zemního filtru a po jeho znovuzprovoznění. Z uvedených hodnot měření vyplývá, že před přerušením provozu zemního filtru byly dosahované výsledky čištění odpadních vod výrazně horší než v předcházejícím období sledování v letech 2006 až 2008. Po otevření tělesa zemního filtru byly odebrány celkem čtyři vzorky z obou odtokových potrubí. Číslo v tabulce 3 udává pořadí odběru, kdy 1 reprezentuje vzorek odebraný ihned po otevření a 4 pak vzorek odebraný po cca 1 hodině od otevření odtokového potrubí. Z výsledků je patrné, že vypuštění zemního filtru nijak zásadně neovlivnilo recipient Ledecký potok. Zhoršené výsledky byly zaznamenány jen v prvních minutách vypuštění.

V období březen až říjen 2010 byl zemní filtr opět uveden do běžného provozu a v pravidelných měsíčních intervalech byly odebírány dvouhodinové směsné vzorky, v srpnu pak byl proveden 24hodinový odběr. Výsledky těchto měření jsou uvedeny v tabulce 4. Jak je z těchto výsledků patrné, v období po opětovném uvedení do provozu zemní filtr dosahoval srovnatelných výsledků jako v předcházejícím období sledování v letech 2006 až 2008. Dosahované účinnosti čištění byly stabilní po celé sledované období po znovuzprovoznění zemního filtru, ve většině ukazatelů docházelo s postupem času ke zvyšování účinnosti čištění. Průměrné hodnoty účinnosti čištění mezi profily za mechanickým předčištěním a odtok pak byly pro $CHSK_{Cr}$ 80,5 %, BSK_5 91,8 % a pro NL 93,4 %, což jsou hodnoty srovnatelné s hodnotami naměřenými při pravidelném sledování v letech 2006 až 2008. Pro amoniakální dusík pak byla dosažena účinnost odstraňování 59,9 %, což opět plně koresponduje s výsledky dosahovanými před zakolmatováním lože zemního filtru.

Současně ale data naměřená během letošního roku ukazují, že na zemní filtr přitékalo od 125 % do 310 % (v průměru 197 %) návrhového množství odpadních vod a od 60 % do 373 % (v průměru 125 %) návrhového množství BSK_5 , tzn., že zemní filtr byl i po znovuootevření nadále přetěžován nejen hydraulicky, ale také látkově. Taktéž v důsledku ne zcela šťastného konstrukčního řešení mechanického předčištění často do zemního filtru natékala nedostatečně předčištěná odpadní voda. Obě tyto skutečnosti vedly k tomu, že zhruba měsíc po znovuootevření provozu zemní filtr již nebyl schopen pojmout veškerou přitékající odpadní vodu. Z tohoto důvodu byl provozovatel nucen opětovně přistoupit k vyvážení části přitékající odpadní vody k čištění na jinou ČOV.

Závěr

Provedený experiment s dávkováním biologického preparátu na bázi enzymů pro uvolnění zakolmatovaného lože zemního filtru přinesl ne zcela průkazné výsledky. Na jedné straně sice po tříměsíční aplikaci enzymů došlo k výraznému zvýšení účinnosti čištění odpadních vod a návratu k hodnotám



Obr. 3. Otevření tělesa zemního filtru

Tabulka 3. Hodnoty ukazatelů znečištění před uzavřením a po znovuootevření lože filtru

		$CHSK_{Cr}$ (mg/l)	BSK_5 (mg/l)	NL (mg/l)	$N-NH_4^+$ (mg/l)	$N-NO_2^-$ (mg/l)	$N-NO_3^-$ (mg/l)	N_{org} (mg/l)	$P_{celk.}$ (mg/l)	$P-PO_4^{3-}$ (mg/l)
7. 10. 2009	Odtok	167	24	34	40,8	3,28	2,47	6,49	7,10	5,80
3. 3. 2010	L – 1	235	68	82	0,419	0,046	49,0	12,8	6,68	3,09
	L – 2	38	5,1	19	0,347	< 0,02	30,2	0,931	2,80	2,48
	L – 3	25	< 3	6,4	0,395	< 0,02	21,9	0,313	3,13	2,98
	L – 4	33	< 3	5,6	0,368	0,033	31,2	1,09	3,50	3,48
3. 3. 2010	P – 1	51	4,2	41	0,449	< 0,02	25,7	0,386	3,25	2,48
	P – 2	107	< 3	150	0,310	< 0,02	23,2	5,07	5,16	2,37
	P – 3	32	< 3	10	0,292	< 0,02	22,5	< 0,05	3,11	2,91
	P – 4	28	< 3	6,9	0,317	0,023	23,4	0,071	3,89	3,32

Vysvětlivky: L – levé odtokové potrubí, P – pravé odtokové potrubí, 1–4 pořadí odběru vzorku

Tabulka 4. Průměrné znečištění v období 3/2010 až 10/2010

		$CHSK_{Cr}$ (mg/l)	BSK_5 (mg/l)	NL (mg/l)	$N-NH_4^+$ (mg/l)	$N-NO_2^-$ (mg/l)	$N-NO_3^-$ (mg/l)	N_{org} (mg/l)	$P_{celk.}$ (mg/l)	$P-PO_4^{3-}$ (mg/l)
P	max.	506	320	160	42,4	2,24	8,89	19,7	5,23	3,75
	min.	194	110	36	10,5	0,17	0,37	0,24	2,47	1,26
	průměr	298	155	84	17,8	0,70	4,40	8,25	3,38	1,96
M	max.	363	110	110	32,5	2,70	8,42	19,8	5,53	3,26
	min.	152	57	27	11,3	0,02	0,10	4,02	2,65	1,52
	průměr	218	75	74	24,0	0,75	2,61	8,64	3,99	2,39
O	max.	71	14	12	21,10	0,90	21,1	1,96	4,03	3,46
	min.	25	3,0	2,0	0,09	0,02	5,71	0,19	2,21	1,83
	průměr	39	7,0	4,5	10,31	0,31	11,61	0,84	3,01	2,80

naměřeným v letech 2006 až 2008. Na druhé straně ne zcela funkční mechanické předčištění a zároveň časté hydraulické i látkové přetěžování zemního filtru vedlo k tomu, že měsíc po spuštění již nebyl zemní filtr schopen pojmout veškerou přitékající odpadní vodu.

Z těchto výsledků lze usuzovat, že nadávkování enzymů sice dočasně pomohlo alespoň zčásti uvolnit zakolmatované filtrační lože a obnovit požadovanou účinnost čištění odpadních vod v zemním filtru. Zároveň ale nelze říci, že by přidáním enzymů došlo k úplnému a trvalému uvolnění zakolmatovaného lože zemního filtru. V tomto případě hrál zřejmě značnou roli charakter kolmatice, kdy vlivem nedostatečně funkčního mechanického předčištění došlo k ucpání filtru i látkami, které nejsou biologicky rozložitelné.

Literatura

- Hua, GF., Zhu, W., Zhao, LF., and Juany, JY. (2010) Clogging pattern in vertical-flow constructed wetlands: Insight from a laboratory study. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 180, Issue 1–3, p. 668–674.
- Guofen, H., Wei, Z., Lianfang, Z., and Yunhui, Z. (2010) Applying solubilization treatment to reverse clogging in laboratory-scale vertical flow constructed wetlands. *Water Science and Technology*, Vol. 61, No. 6, p. 1479–1487.
- Kayser, K. and Kunst, S. (2005) Processes in vertical-flow reed beds: nitrification, oxygen transfer and soil clogging. *Water Science and Technology*, Vol. 51, No. 9, p. 177–184.
- Mclsaac, R. and Rowe, RK. (2007) Clogging of gravel drainage layers permeated with landfill leachate. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, Vol. 133, No. 8, p. 1026–1039.
- Mlejnská, E., Rozkošný, M., Baudišová, D., Váňa, M., Wanner, F. a Kučera, J. (2009) Extenzivní způsoby čištění odpadních vod. Praha: VÚV T.G.M., 119 p. ISBN 978-80-85900-92-7.
- Nivala, J. and Rousseau, DPL. (2009) Reversing clogging in subsurface-flow constructed wetlands by hydrogen peroxide treatment: two case studies. *Water Science and Technology*, Vol. 59, No. 10, p. 2037–2046.
- Pedescoll, A., Uggetti, E., Llorens, E., Granés, F., García, D., and García, J. (2009) Practical method based on saturated hydraulic conductivity used to assess clogging in subsurface flow constructed wetlands. *Ecological Engineering*, Vol. 35, No. 8, p. 1216–1224.
- Reddi, LN., Xiao, M., Hajra, MG., and Lee, IM. (2000) Permeability reduction of soil filters due to physical clogging. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, Vol. 126, No. 3, p. 236–247.
- Reddi, LN., Xiao, M., Hajra, MG., and Lee, IM. (2005) Physical clogging of soil filters under

constant flow rate versus constant head. *Canadian Geotechnical Journal*, Vol. 42, No. 3, p. 804–811.

Schwarz, M., Fuchs, S., Hahn, HH. (2006) Nucleic acids: indicators for dynamic processes of clogging in soil filter systems. *Water Science and Technology*, Vol. 54, No. 11–12, p. 183–189.

Siriwardene, NR., Deletic, A., and Fletcher, TD. (2007) Clogging of stormwater gravel infiltration systems and filters: Insights from a laboratory study. *Water Research*, Vol. 41, No. 7, p. 1433–1440.

Šálek, J., Rozkošný, M. a Křiška, M. (2008) Poznatky z průzkumu kořenových čistíren odpadních vod v moravských krajích a části kraje Vysočina. Výzkumná zpráva pro MŽP OOV. Brno: VÚV T.G.M., 40 p.

Turon, C., Comas, J., and Poch, M. (2009) Constructed wetland clogging: A proposal for the integration and reuse of existing knowledge. *Ecological Engineering*, Vol. 35, Issue 12, p. 1710–1718.

Winter, KJ. and Goetz, D. (2003) The impact of sewage composition on the soil clogging phenomena of vertical flow constructed wetlands. *Water Science and Technology*, Vol. 48, No. 5, p. 9–14.

Ing. Filip Wanner, Ing. Eva Mlejnská
VÚV TGM, v.v.i.

Filip_Wanner@vuv.cz, Eva_Mlejnska@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou výzkumného záměru MZP0002071101. Poděkování za spolupráci patří také provozovatelům sledovaných čistíren.

Reverse clogging of soil filter by enzymes treatment (Wanner, F.; Mlejnská, E.)

Key words

soil filter – clogging – enzymes

Soil clogging is a general problem of porous materials, which lead rainwater, leachate and waste water. For extensive technologies, especially constructed wetlands and soil filters, which are used in small municipalities (up to 500 p.e.) for wastewater treatment, soil clogging phenomenon is a relatively common problem. It is a summary of physical, chemical and biological processes that lead to reduced permeability of porous material, thereby reducing the cleaning effect of these systems. This paper summarizes the experiment used to clear soil filter by an enzyme preparation, which was fed directly into a soil filter. The results showed partial ability of reverse clogging and renovation of wastewater treatment efficiency.

MIKROBIÁLNÍ ZNEČIŠTĚNÍ TOKŮ V ZEMĚDĚLSKÝCH OBLASTECH

Dana Baudišová, Ivana Benáková

Klíčová slova

enterokoky – mikrobiální znečištění – zemědělské oblasti – povrchová voda – *E. coli* – fekální koliformní bakterie

Souhrn

Cílem práce bylo zjistit míru mikrobiální kontaminace vod a její specifika v malých tocích protékajících zemědělskými oblastmi. Bylo uskutečněno dvouleté sledování 11 oblastí, z každého profilu bylo provedeno 8 až 26 odběrů. Byly stanoveny fekální koliformní bakterie, *Escherichia coli* a enterokoky standardizovanými metodami a ze šesti vybraných lokalit byly během roku izolovány kmeny enterokoků, které byly rozřazeny do taxonomických skupin. Dále byla sledována rychlost vymírání vybraných druhů enterokoků ve vodním prostředí (modelové experimenty, inkubace mikroskopu při 15 °C).

Výsledky mikrobiální kontaminace v zemědělských tocích vykazovala velké, až několika řádové sezónní rozdíly (minimum v zimním, maximum v letním období), zároveň byla zaznamenána korelace vyšší mikrobiální kontaminace v souvislosti se srážkovými epizodami. Byl zjištěn vyšší počet enterokoků než fekálních koliformních bakterií, což je typické pro zemědělské znečištění, a většina enterokoků nepatřila do druhů *E. faecium* a *E. faecalis*, které jsou typické pro komunální kontaminaci. Rychlost eliminace enterokoků z vodního prostředí závisí především na obsahu dalších organismů a mikroorganismů (kultivovatelné mikroorganismy, celkové počty bakterií, biologický obraz), které napomáhají eliminaci alochtonních mikroorganismů.

Úvod

Výzkumem mikrobiálního znečištění toků v zemědělských oblastech se autorky zabývají od roku 2006. V České republice jsou hlavním zdrojem mikrobiálního znečištění povrchových vod bodové a rozptýlené zdroje především komunálního původu, znečištění z plošných zdrojů (např. splachy) je považováno za okrajové. Cílem tohoto studia bylo zjistit míru mikrobiální kontaminace toků v zemědělských oblastech a ověřit případnou možnost odlišení znečištění komunálního a zemědělského původu na základě výsledků studia izolovaných enterokoků. První výsledky včetně literární rešerše již byly publikovány (Baudišová, 2009), předmětem tohoto příspěvku je souhrnná prezentace všech výsledků dosažených v rámci projektu.

Metodika

Stanovení indikátorů fekálního znečištění v zemědělských oblastech

V jedenácti zemědělských oblastech (obr. 1) bylo po tři roky prováděno vzorkování ve dvoumě-

síčních intervalech. Studované oblasti zahrnovaly mimo jiné i různé půdní typy. Podrobná charakteristika jednotlivých profilů je uvedena v tabulce 1. Ve vzorcích byly stanoveny fekální koliformní bakterie a *Escherichia coli* metodou podle ČSN 75 7835 a intestinální enterokoky metodou podle ČSN EN ISO 7899-2. Použitý Slanetz-Bartley agar byl od firmy Biorad.

Identifikace izolovaných kmenů intestinálních enterokoků

Ze šesti vybraných lokalit o různém půdním typu byly izolovány intestinální enterokoky a byly po přeočkování na neselektivní živný agar podrobeny dalšímu testování. Byly provedeny biochemické testy Pyratest (test na aktivitu pyrrolindole arylamidázy), Hippurát test a mikrotest En-coccus test (Erba Lachema, s.r.o.). Celkem bylo testováno 502 izolovaných kmenů.

Modelové experimenty, týkající se přežívání intestinálních enterokoků ve vodním prostředí

Vlastní experimenty byly prováděny s 24hodinovou kulturou vyrostlou na neselektivním tryptózovém agaru. Bylo zaočkováno 1 500 ml vzorku vody tak, aby denzita enterokoků byla řádově 1000 ktj/ml. Poté byly odebrány kontrolní vzorky (čas nula) a vzorky byly inkubovány ve tmě v termostatu při 15 °C. Vzorky byly dále odebrány po 24 hodinách, třech dnech a dále po pěti, osmi a čtrnácti dnech, 3 a 4 týdnech a byly kultivovány enterokoky na Slanetz-Bartley agaru. Byly vyneseny křivky vymírání a stanovena konstanta hynutí „k“ podle rovnice: $dn/dt = kn$ (dn/dt = změna počtu enterokoků v průběhu času).

Bylo provedeno pět sad experimentů:

1. Analýza osmi kmenů (divoké kmeny *Streptococcus bovis*, *S. equinus*, *Enterococcus durans* (2 kmeny), *E. hirae*, *E. faecalis*, *E. faecium*) ve vodním prostředí z jedné lokality.
2. Kompletní opakování pokusu č. 1, včetně vody ze stejné lokality.
3. Analýza dalších osmi kmenů (divoké kmeny *E. mundtii*, *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. gallinarum* a *S. acidominimus* a sbírkové kmeny *E. hirae* CCM 2423 a *E. faecalis* CCM 4224), voda ze stejné lokality jako v případě 1 a 2.



Obr. 1. Studované zemědělské oblasti

Tabulka 1. Charakteristika profilů a výsledek statistických analýz

	Kód	Půdní typ	Lokalita	Počet profilů	Počet vzorků	Poměr FC/ENT	Fekální koliformní bakterie (FC) (ktj/ml)			Escherichia coli (ktj/ml)			Enterokoky (ENT) (ktj/ml)		
						Medián	Průměr	Medián	Max	Průměr	Medián	Max	Průměr	Medián	Max
1	CET 003	Černozem	Jordán (Dolnostřížinský potok)	1	13	0,7	18,67	2,1	91	14,57	1,4	78	12,6	3	98
2	CET 017	Černozem	Levostranný přítok Žehuňského potoka	1	26	0,42	1,45	0,43	11,2	1,71	0,29	17	2,61	1,03	18
3	KAD 010	Kambizem, dystrická	Levostranný přítok Útvinského potoka	1	13	0,3	1,676	0,18	7,8	1,1	0,16	5,4	3,37	0,6	16
4	KAT 004	Kambizem typická	Pravostranný přítok Vintřovského potoka	2	14	0,54	1,467	0,83	7	1,1	0,48	7	3,81	1,55	16
5	KAT 009	Kambizem typická	Lhotecký potok	1	14	0,43	0,366	0,09	2,2	0,3	0,1	2	0,76	0,21	3
6	PSP 006	Pseudoglej primární	Levostranný přítok Smutné	1	15	0,225	1,36	0,36	8,6	1,03	0,28	8	7,8	1,6	59
7	KTK 001	Kambizem typická, kyselá	Lhotský potok	1	14	0,37	6,342	0,22	80	5,4	0,16	70	2,35	0,6	15
8	KTK 015	Kambizem typická, kyselá	Brusník	2	15	0,42	0,18	0,05	1,3	0,07	0,04	0,36	0,7	0,12	4,8
9	KTK 038	Kambizem typická, kyselá	Západní přítok rybníka Velký Smrkovec	2	11	1	1,19	0,7	4,9	0,88	0,5	3,6	2,09	0,7	13
10	KTK 043	Kambizem typická, kyselá	Pravostranný přítok Vlčíckého potoka	1	26	0,624	2,46	0,78	12	2,0	0,58	11	4,27	1,25	30
11	LUT 012	Luvizem typická	Levostranný přítok Bojanovského potoka	3	26	0,4	0,84	0,02	8	0,41	0,02	4,8	0,74	0,05	9,9

- Analýza jednoho druhu (*E. faecalis*), voda z osmi různých zemědělských lokalit.
- Kompletní opakování pokusu č. 4 s tím, že byly kromě základních chemických ukazatelů stanoveny celkový a organický uhlík, biologický obraz, celkový počet bakterií mikroskopicky a kultivovatelné bakterie při 22 °C, podle ČSN EN ISO 6222.

Výsledky

Stanovení indikátorů fekálního znečištění v zemědělských oblastech

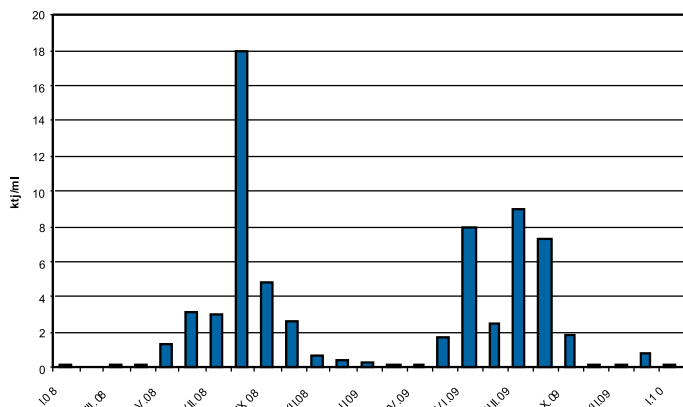
Výsledky stanovení indikátorů fekálního znečištění v jednotlivých lokalitách jsou uvedeny v tabulce 1. Jsou uvedeny hodnoty aritmetického průměru, mediánu a maximální hodnota, jako doplněk je uveden poměr

fekálních koliformních bakterií a intestinálních enterokoků (výpočet proveden z mediánu). Geometrický průměr nemohl být použit, protože byly získány i nulové hodnoty (negativní záchyt ve 100 ml vzorku), ale ze zkušeností víme (Baudišová a Hejtmánek, 2006) že se většinou blíží mediánu. Mezi jednotlivými statistickými hodnotami jsou velké výkyvy, což je způsobeno tím, že existují velké sezónní rozdíly (minimum v zimě) ve všech lokalitách, a maximální hodnoty jsou spojeny se srážkovými epizodami. Ilustrace sezónního průběhu záchytu enterokoků ve vybraných profilech je uvedena na obr. 2 a 3. Naopak nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi jednotlivými půdními typy. Ve všech profilech bylo zjištěno více enterokoků než fekálních koliformních bakterií (v případě lokality KTK 043 jich bylo stejně), v případě vzorků znečištěných komunálně je tomu naopak.

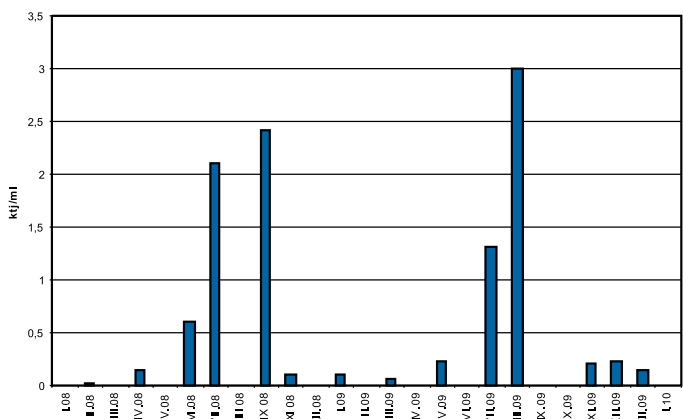
Z výsledků je dále zřejmé, že mikrobiální kontaminace toků v zemědělských oblastech je nízká. Na základě průměrné hodnoty či mediánu by všechny toky vyhovovaly přípustnému znečištění, maximální hodnota enterokoků by u tří profilů (CET 003, PSP 006 a KTK 043) hranici přípustného znečištění překročila. U lokalit, kde bylo vzorkováno více profilů, byl do příspěvku vybrán ten hlavní (KAT 015 a KTK 038). V případě KAT 004 se jednalo o dva rovnocenné profily (pravostranný a levostranný přítok) a výsledky počtů mikroorganismů byly velmi obdobné. V případě LUT 012 byl vybrán jako hlavní profil „pramen“, dále byla vzorkována meliorace a potok, který však v letním období vysychal.

Identifikace izolovaných kmenů intestinálních enterokoků

Přestože sada použitých biochemických testů neumožňuje taxonomické určení s dostatečnou přesností, pro tento typ práce byla získaná přesnost dostačující. Výsledky identifikace enterokoků jsou uvedeny v tabulce 2. Většina identifikovaných kmenů patřila ke druhům spojeným s rostlinnými zbytky (*E. mundtii*, *E. casseliflavus* atd.), byly však detekovány i streptokoky spojené s teplotněvými živočichy (*S. equinus* nebo *S. bovis*). Zjištěny byly i druhy *E. faecalis* a *E. faecium* spojené s fekálním znečištěním humánního původu, míra jejich detekce však byla mnohem menší (12–25 %), než je tomu u vod se znečištěním komunálního původu (v průměru 41 %, srov. Baudišová, 2009).



Obr. 2. Sezonní výskyt intestinálních enterokoků v profilu CET 017



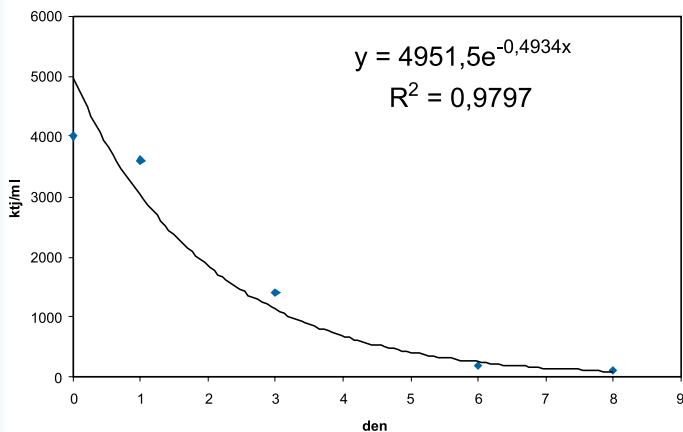
Obr. 3. Sezonní výskyt intestinálních enterokoků v profilu KAT 009

Tabulka 2. Výsledky identifikace enterokoků

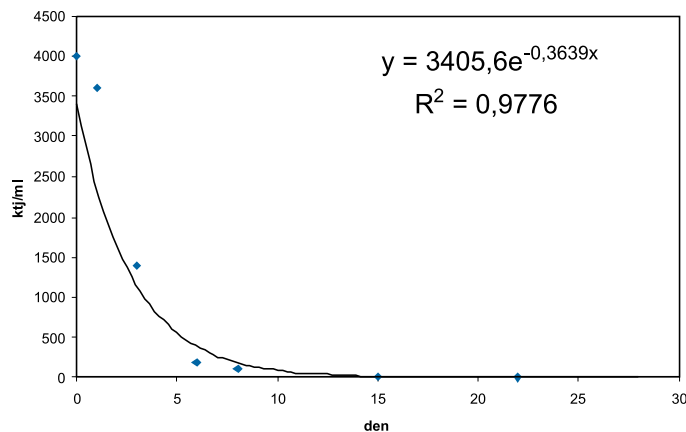
Lokalita	Počet izolovaných kmenů	Počet kmenů druhů <i>E. faecalis</i> a <i>E. faecium</i>	To je v %
CET 003	61	12	19,6
KAT 009	50	11	22,0
KAD 010	52	13	25,0
KTK 038	88	13	14,7
LUT 012	202	24	11,9
PSP 006	49	8	16,3

Modelové experimenty, týkající se přežívání intestinálních enterokoků ve vodním prostředí

Křivky vymírání vykazovaly podle očekávání exponenciální průběh s vysokým korelačním koeficientem (R^2 většinou přes 0,9), což ukazuje na velmi spolehlivé výsledky. Během 28 dní se počet enterokoků snižuje z cca tisíců na jednotky ktj/ml, nejčastější konstanta vymírání se pohybovala



Obr. 4. Křivka vymírání druhu *E. faecalis* v osmidenním experimentu (KTK 001 – Lhotský potok)



Obr. 5. Křivka vymírání druhu *E. faecalis* v 28denním experimentu (KTK 001 – Lhotský potok)

okolo (-0,3)/den – v 28denním experimentu. Grafická ilustrace je uvedena na obr. 4 a 5. Byly spočítány dvě různé konstanty, pro 8denní a 28denní inkubaci, které se významně liší. Konstanty vymírání spočítané po 8 dnech jsou vyšší než po 28 dnech z toho důvodu, že v prvních dnech je úbytek mikroorganismů nejvyšší. V dalších dnech je již úbytek inokula relativně menší. Pozitivní záchyt enterokoků ve vzorcích na úrovni jednotek v 500 ml byl zachycen ještě po pěti měsících, po 12 měsících byly záchyty prakticky nulové. Celkově lze konstatovat, že rychlost eliminace enterokoků z vodního prostředí nezávisí příliš na příslušnosti k druhu nebo na fyziologickém stavu konkrétního kmene, ale závisí jednoznačně na typu vodního prostředí (obsah organických látek, biologické oživení a autochtonní mikroflóra).

Závěr

Mikrobiální znečištění toků v zemědělských oblastech není vysoké, ale je výrazně sezonní záležitostí, zvyšuje se v letním období a v souvislosti s vyššími srážkami. Ve všech profilech bylo zjištěno více enterokoků než fekálních koliformních bakterií, v případě vzorků znečištěných komunálně je tomu naopak. Mezi izoláty enterokoků se vyskytuje významně méně zástupců druhů *E. faecalis* a *E. faecium*, než je tomu u izolátů z toků s komunálním znečištěním. Modelové pokusy ukázaly, že přežívání enterokoků ve vodním prostředí nezávisí ani na druhu enterokoku a na chemickém složení vody, ale na obsahu dalších organismů a mikroorganismů (kultivovatelné mikroorganismy, celkové počty bakterií, biologický obraz), které napomáhají eliminaci alochtonních enterokoků.

Literatura

- Baudišová, D. a Hejtmánek, V. Assessment of microbial contamination of surface waters. In Blažková, Š. (ed.) T. G. Masaryk WRI Collection of Papers. Praha : VÚV T.G.M., 2006, s. 31–38.
- Baudišová D. Microbial pollution of water from agriculture sources. *Plant Soil Environ.*, 55, 2009 (10), p. 429–435.

RNDr. Dana Baudišová, Ph.D., Ivana Benáková
VÚV TGM, v.v.i.
Dana_Baudišova@vuv.cz
Příspěvek prošel lektorským řízením.

Připraveno s podporou výzkumného záměru MZP0002071101 Výzkum a ochrana hydrosféry – výzkum vztahů a procesů ve vodní složce životního prostředí, orientovaný na vliv antropogenních tlaků, její trvalé užívání a ochranu, včetně legislativních nástrojů.

Key words

enterococci, microbial pollution, agriculture areas, surface water, *E. coli*, faecal coliforms

Microbial contamination of streams in agriculture areas (Baudišová, D.; Benáková, I.)

The aim of this study was to detect the degree of microbiological contamination of water and their specifics in small streams in agriculture areas. Two-years study of 11 areas was performed, 8–26 samples were taken from each profile. Faecal coliforms, *Escherichia coli*, and intestinal enterococci were detected by standard methods. Enterococci from 6 chosen localities were isolated and taxonomically sorted by biochemical tests during the whole year. The die off of chosen species of enterococci in water environment was studied furthermore (model experiments, incubation of microcosms at 15 °C).

Results of microbial contamination show great differences during a season (up to 2–3 orders), with maximum in summer and minimum in winter season. The positive correlation with rainstorms was found. Higher counts of enterococci than faecal coliforms were detected, which is typical for contamination from agricultural sources. Most of strains isolated do not belong to species of *E. faecium* and *E. faecalis*, species typical to human (communal) contamination. The rate of die-off of enterococci depended mostly on the presence of other organisms and microorganisms (total counts, total counts of cultivable microorganisms, biological picture), which help to eliminate the allochthonous bacteria from water environment.

VTEI VODOHOSPODÁŘSKÉ
TECHNICKO-EKONOMICKÉ
INFORMACE

Water Management Technical and Economical Information

Odborný dvouměsíčník specializovaný na výzkum v oblasti vodního hospodářství

Redakční rada: RNDr. D. Baudišová, Ph.D., Ing. Š. Blažková, DrSc., Ing. P. Bouška, Ph.D., prof. Ing. A. Grünwald, CSc., doc. Ing. A. Havlík, CSc., prof. Ing. P. Pitter, DrSc., prof. RNDr. A. Sládečková, CSc., prof. Ing. J. Zezulák, DrSc.

Ročník 52

ISSN 0322 - 8916
MK ČR 6365

Kontakt: Mgr. S. Garciova
Tel.: 220 197 282, e-mail: garciova@vuv.cz

VÚV
TGM

Výzkumný ústav
vodohospodářský
T. G. Masaryka, v.v.i.
Podbabská 30
160 00 Praha 6
IČO 00020711