

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
KATEDRA ANORGANICKÉ TECHNOLOGIE

**Studium vlivu půdních podmínek na rychlost
oxidace elementární síry**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor práce: Bc. RADKA ZEISKOVÁ
Vedoucí práce: doc. Ing. Ladislav Svoboda, CSc.

2014

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
DEPARTMENT OF INORGANIC TECHNOLOGY

**Study of the effect of soil conditions on the rate of
oxidation of elemental sulfur**

THESIS

Author: Bc. RADKA ZEISKOVÁ
Supervisor: doc. Ing. Ladislav Svoboda, CSc.

2014

PROHLAŠUJI:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 9.5.2014

Bc. Radka Zeisková

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych na tomto místě poděkovat doc. Ing. Ladislavu Svobodovi, CSc. za zadání zajímavého tématu diplomové práce, za poskytnutí cenných rad, konzultací a podkladů pro vypracování této diplomové práce. Děkuji také Ing. Evě Kyslíkové, CSc. z Mikrobiologického ústavu AV ČR v.v.i. za spolupráci při experimentech.

Zvláštní poděkování patří rodině, především rodičům, kteří mě po dobu studia finančně i morálně podporovali.

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na problematiku oxidace elementární síry v půdě na síranovou formu přijatelnou rostlinami. Inkubačními testy byla studována rychlost oxidace síry v závislosti na půdní vlhkosti, půdní reakci, na obsahu železa a různých forem dusíku. Železo bylo do půdy přidáváno ve formě chloridů železitého a železnatého, dusík v podobě dusičnanu amonného a močoviny. Vodné výluhy půdy byly analyzovány metodou iontové chromatografie s vodivostní detekcí. Současně bylo zjišťováno, jak se změny půdních podmínek promítnou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace, jejíž přítomnost je pro oxidaci síry nezbytná.

KLÍČOVÁ SLOVA

Elementární síra, bakteriální oxidace síry, půdní reakce, půdní vlhkost, půdní dusík

ABSTRACT

Thesis is focused on the oxidation of elemental sulfur in soil to sulfate form acceptable to the plants. Dependencies of sulfur oxidation rate on soil humidity, soil pH, and on the iron and nitrogen content in soil were studied by means of incubation tests. Iron was added to the soil in the form of ferric and ferrous chloride, nitrogen as ammonium nitrate and urea. Aqueous extracts of soil were analyzed by ion chromatography with conductivity detection. At the same time, it was investigated how changes in soil conditions are reflected in the quality and quantity of soil microbial population, presence of which is necessary for the oxidation of sulfur.

KEY WORDS

Elemental sulfur, bacterial oxidation of sulfur, pH of soil, soil humidity, soil nitrogen

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Význam síry pro rostliny	10
2.2	Síra v půdě	11
2.2.1	Sírany	12
2.2.2	Sulfidy.....	14
2.3	Hnojení sírou.....	15
2.3.1	Hnojiva na bázi elementární síry	16
2.3.2	Vizuální symptomy deficitu síry.....	20
2.4	Faktory ovlivňující oxidaci síry v půdě	22
2.4.1	Půdní mikroorganismy.....	22
2.4.2	Teplota půdy	23
2.4.3	Půdní reakce.....	24
2.4.4	Vlhkost a provzdušnění půdy	25
2.4.5	Velikost částic elementární síry	26
2.5	Stanovení síry v půdě.....	27
2.5.1	Stanovení celkové síry	27
2.5.2	Stanovení síranů.....	28
2.6	Iontová chromatografie.....	28
2.6.1	Princip metody.....	28
2.6.2	Metody detekce.....	30
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
3.1	Použité chemikálie.....	33
3.2	Použité přístroje a zařízení.....	34
3.3	Pracovní postupy.....	35
3.3.1	Měření na iontovém chromatografu	35
3.3.2	Odběr a úprava vzorků půdy pro inkubační testy	36
3.3.3	Stanovení půdních charakteristik.....	36
3.3.4	Extrakce síranů z půdy.....	38
3.3.5	Fracionace elementární síry	38

3.3.6	Stanovení počtu bakterií v půdě.....	39
3.3.7	Inkubační testy.....	39
3.3.7.1	Stanovení vlivu půdní vlhkosti na rychlost oxidace elementární síry	39
3.3.7.2	Stanovení vlivu půdní reakce na rychlost oxidace elementární síry.....	41
3.3.7.3	Stanovení výměnné půdní reakce inkubovaných vzorků půdy	41
3.3.7.4	Stanovení vlivu železa na rychlost oxidace elementární síry	42
3.3.7.5	Stanovení vlivu dusíku na rychlost oxidace elementární síry.....	43
3.3.7.6	Stanovení vlivu půdních podmínek na četnost mikrobiální populace v půdě ..	44
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	45
4.1	Vliv studovaných půdních faktorů na rychlost oxidace elementární síry.....	45
4.1.1	Vliv půdní vlhkosti	45
4.1.2	Vliv půdní reakce.....	48
4.1.3	Vliv obsahu a oxidačního stavu železa	52
4.1.4	Vliv obsahu a formy dusíku.....	54
4.2	Vliv studovaných půdních faktorů na četnost mikrobiální populace	58
4.2.1	Vliv půdní reakce.....	58
4.2.2	Vliv obsahu a oxidačního stavu železa	59
4.2.3	Vliv obsahu a formy dusíku.....	61
4.3	Vlastnosti použité půdy	63
4.3.1	Obsah železa	63
4.3.2	Půdní reakce.....	63
4.3.3	Stanovení obsahu vody	64
4.3.4	Ostatní půdní charakteristiky	64
5	ZÁVĚR.....	65
6	POUŽITÁ LITERATURA	68

1 ÚVOD

Síra, prvek, který byl donedávna vnímán především jako znečišťující látka spojovaná zvláště s nežádoucími účinky kyselých dešťů, které v 70. a 80. letech minulého století likvidovaly lesní porosty, se dnes stává jednou z nejčastěji deficitních živin pro rostliny. Za nedostatkem síry v půdě stojí mnoho faktorů, jako je intenzifikace zemědělství, použití hnojiv s malým nebo nulovým obsahem síry, menší využití síry jako pesticidu nebo důsledky půdní eroze a vyplavování. Významným zdrojem síry v půdě byly atmosférické depozice. Počátkem 90. let však byly emise oxidu siřičitého (SO_2) z průmyslového spalování fosilních paliv a později i emise výfukových plynů radikálně snižovány stanovením přísných limitů. Tato opatření a snaha o zvyšování výnosů zemědělských plodin vedly k nedostatečnému zásobení půdy sírou na mnohých místech po celém světě. Protože síra je nezbytný prvek pro syntézu bílkovin, růst a vývoj rostlin vůbec, její deficit se stal závažnou výživovou poruchou plodin [1,2].

V posledních desetiletích se hnojiva obsahující síru stávají předmětem výzkumu. Dříve byla převážná část síry dodávána do půdy prostřednictvím síranu amonného, superfosfátu nebo sádrovce. Síranová hnojiva jsou poměrně nákladná, obtížně dostupná pro jejich nedostatek, a stále častěji jsou nahrazována moderními hnojivy obsahujícími elementární síru. Síra, jako odpadní produkt ropných rafinérií, se stává levnou surovinou pro výrobu průmyslových hnojiv v dostatečném množství. Oproti síranům není rozpustná ve vodě a nehrozí tak ztráty vyplavováním. Síru rostliny přijímají z půdy kořenovým systémem především ve formě síranového aniontu (SO_4^{2-}). Elementární síra se oxiduje na tuto rostlinami přijatelnou formu působením půdních mikroorganismů. Rychlost její oxidace závisí především na velikosti částic elementární síry, teplotě, vlhkosti a provzdušnění půdy, půdní reakci, množství a charakteru mikrobiální populace. Pro požadovaný účinek hnojiva obsahujícího elementární síru je hlavním problémem předvídaní dosažitelnosti této živiny rostlinami. Je důležité odhadnout správné načasování aplikace a vhodnou dávku pro konkrétní zemědělskou plodinu [3,4].

Do jaké míry ovlivňují proces oxidace elementární síry na sírany vnější podmínky, konkrétně vlhkost půdy, půdní reakce, množství železa a dusíku ve vzorku půdy, bylo úkolem této práce. Současně bylo zjišťováno, jak se změny půdních podmínek promítnou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace, jejíž přítomnost je pro oxidaci síry nezbytná.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Význam síry pro rostliny

Síra je nepostradatelným prvkem pro všechny organismy. Nezbytná je zejména při syntéze aminokyseliny cysteinu, prekursoru důležitých sírných sloučenin. Při jejím nedostatku je potlačen převážně růst nadzemní části rostliny. Dochází k poklesu obsahu chlorofylu a tím i hodnoty čisté fotosyntézy. U rostlin deficitních sírou se snižuje syntéza enzymů a proteinů, zvláště těch s vyšším podílem cysteinu a methioninu. Snížená tvorba glutathionu zase omezuje antioxidační schopnosti organismu rostliny. Je potlačen růst rostliny a dochází k žloutnutí mladých listů. Nejmenší nároky na síru mají obiloviny, vyšší luskoviny a nejvyšší olejninny.

Příjem síry rostlinou

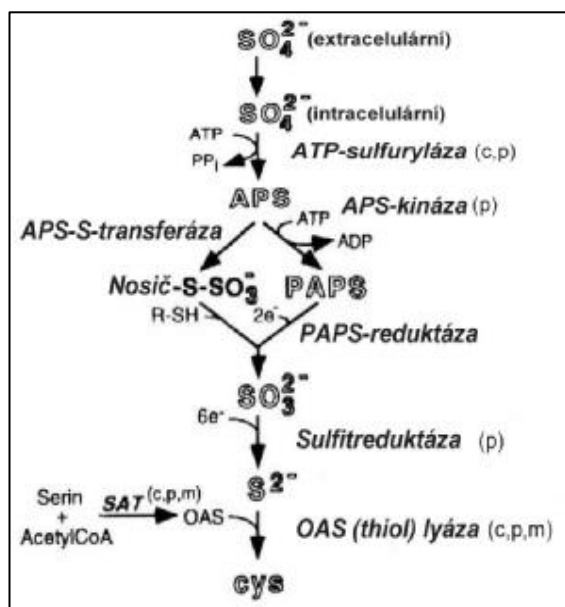
Síru rostliny přijímají z půdy kořenovým systémem především ve formě aniontu kyseliny sírové SO_4^{2-} . Příjem iontů je aktivní, na energii závislý proces, řízený elektrochemickým gradientem protonů. Ionty společně s vodou prochází přes epidermis, vnější buněčnou vrstvu. Dále mohou být transportovány tzv. apoplastickou cestou, při čemž se pohybují pouze buněčnými stěnami a mezibuněčnými prostory, nebo cestou symplastickou, při které se ionty dostávají přes plasmatickou membránu do buňky a další transport je možný pouze plasmodesmami nebo soustavou vnitřních membrán. Poté, co se iont dostane do buňky, je uložen ve vakuole nebo ihned metabolizován.

Rostliny jsou schopné přijímat síru i mimokořenovým systémem, zejména jako oxid siřičitý nebo H_2S [5,6].

Asimilace síranových aniontů

Přeměna síranů redukční cestou je primárním metabolismem síry v organismu rostlin. Je to nenahraditelný enzymatický proces. Pomocí energie adenosintrifosfátu (ATP) je síranový aniont aktivován za přítomnosti katalyzátoru ATP-sulfurylázy na adenosin-5'-fosfosulfát (APS). Na rozdíl od živočichů, jsou rostliny schopné zredukovat aktivované sírany v plastidech na siřičitany pomocí APS-reduktáz. Dalším redukčním krokem je reakce katalyzovaná sulfitreduktázou, při které se tvoří sulfidy. V plastidech, mitochondriích a cytosolu je sulfid začleněn do O-acetylserinu a za přítomnosti O-acetylserin(thiol)lyázy

vzniká cystein, přímý nebo nepřímý prekurzor všech organických sloučenin obsahujících síru přítomných v rostlinách. Následnou syntézou vzniká další siřná aminokyselina methionin. Z těchto látek vznikají významné siřné sloučeniny, jako jsou proteiny, mastné kyseliny, vitamín H, ferredoxin, koenzym A, vitamín B₁ a další sekundární metabolity [5,7]. Proces asimilace siřanů v rostlinách je znázorněn na Obrázku 1.

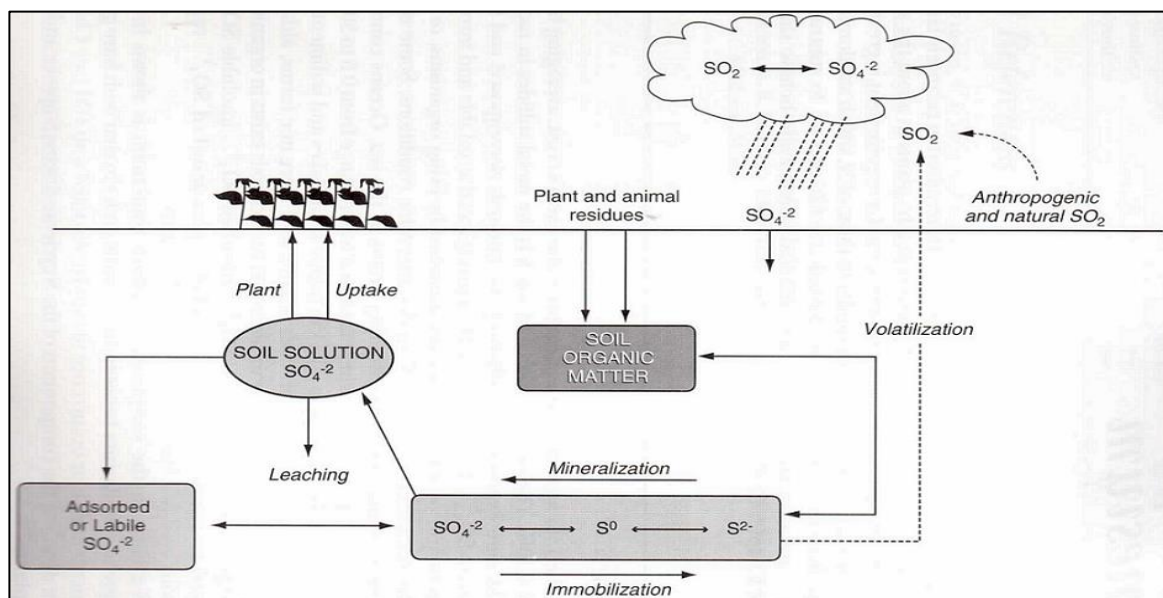


Obrázek 1: Asimilace sulfátů v rostlinách [5].

2.2 Síra v půdě

Síra je 13. nejrozšířenější prvek v zemské kůře, její celkový obsah kolísá mezi hodnotami 0,06 – 0,10%. Původním zdrojem síry v půdě jsou sulfidy kovů v horninách. Vlivem počasí jsou minerály rozloženy a sulfidy (S^{2-}) se oxidují na sírany (SO_4^{2-}). V sedimentech se při aerobních podmínkách anorganicky vázaná síra vyskytuje téměř výhradně ve formě sádrovce ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), který může obsahovat až 15 % síranové síry. Za určitých podmínek se sírany vysrážejí ve formě rozpustných a nerozpustných solí, mohou být absorbovány živými organismy, které mají schopnost anorganickou síru zabudovávat do organických sloučenin. Při anaerobních podmínkách mohou být sírany zpětně redukovány, a potom se síra v sedimentech nachází především ve formě sulfidu kovů. Zjednodušený cyklus síry probíhající v půdě, rostlinách a atmosféře je znázorněn na Obrázku 2.

Síra je v půdě přítomna v organické i anorganické formě. Téměř 90% celkové síry v povrchových půdách tvoří organické sírné sloučeniny, které pocházejí z rostlinných a živočišných reziduí. Mineralizací je organicky vázaná síra převedena na sirovodík (H_2S), který může být oxidován půdními bakteriemi na elementární síru a následně na sírany, nebo je uvolňován do atmosféry. Anorganická složka, minoritní z celkového množství síry v půdě, je zastoupena rozpustnými, nerozpustnými a adsorbovanými sírany, a redukovanými sloučeninami síry, jako jsou sulfidy, thiosírany, polysulfidy, siřičitany a elementární síra. Rozpustné a adsorbované sírany představují snadno dostupný podíl síry využívaný rostlinami. Poměr organické a anorganické hmoty, množství jednotlivých sírných sloučenin a jejich transformace jsou ovlivněny konkrétní lokalitou. Zásadní roli hraje místní podnebí, typ půdy, vegetace a také zásahy člověka [8].



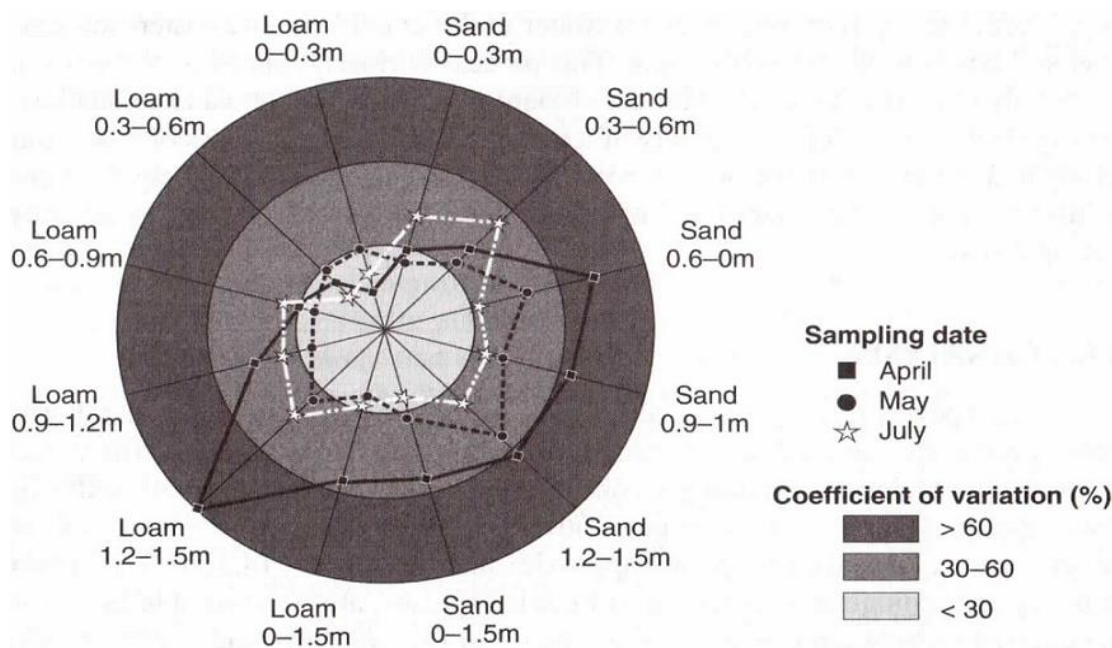
Obrázek 2: Cyklus síry v přírodě [8].

2.2.1 Sírany

Dominantní a stabilní formou anorganické síry jsou v zemědělských půdách, kde převládají aerobní podmínky, sírany. Sloučeniny síry s nižším oxidačním číslem se vyskytují v menší míře.

Nerozpustné sírany se mohou vyskytovat na vápencových půdách, kde jsou blokovány v chemické vazbě s uhličitánem vápenatým (CaCO_3). Pro rostliny nejsou přístupné a vyplavují se jen nepatrně. Určitá dostupnost těchto látek se zvyšuje s klesajícím pH, snižující se velikostí částic CaCO_3 a s vyšší vlhkostí půdy [8,9].

Vodorozpuštěné sírany jsou nejsnadněji přijatelnou formou pro rostliny. Požadavky rostlin na příjem síry jsou různé. Pro růst většiny plodin je optimální koncentrace síranů 3 až 5 mg/kg. Nejmenší nároky na síru mají obiloviny, vyšší luskoviny a nejvyšší olejní. Variabilita množství síranů je způsobená jejich vysokou pohyblivostí. Koncentrace síranů v půdách se během roku mění v závislosti na atmosférických spadech, intenzitě mineralizace organických reziduí, dodávce sirných hnojiv, příjmu síranů rostlinami, množství síranů ve srážkách nebo závlahové vodě, míře vyplavování a mikrobiální aktivitě. Nižší hladiny síranů jsou obvykle pozorovány v zimním a jarním období, jako důsledek vyplavování, vyššího příjmu síry rostlinami a oslabené schopnosti mineralizace při nízkých teplotách. Vysoká časoprostorová proměnlivost obsahu síranů v půdě je důvodem obtížně stanovitelné předpovědi nutričního stavu síry v půdě. Přehled vlivu faktorů času a hloubky odebraného půdního vzorku ve vztahu k variabilitě obsahu síranů v půdě je uveden na Obrázku 3. Také průmyslové zóny mohou ovlivnit obsah síranů okolních lokalit zvýšenou koncentrací oxidu siřičitého (SO₂) v atmosféře. Vliv na množství síranů v půdě má i povaha kationtů v půdním roztoku. Pokud převládají monovalentní kationty, jsou ztráty síranů při vyplavování největší, se zvyšujícím se mocenstvím se ztráty snižují [1,8,9].



Obrázek 3: Proměnlivost obsahu síranů v závislosti na časovém faktoru a hloubce odebraného vzorku u dvou typů půd (písčité a jílové) [1].

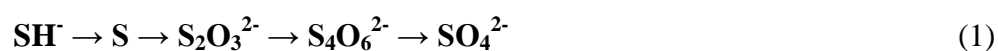
Adsorbované sírany na půdní koloidy jsou významnou frakcí zejména v kyselých, vysoce zvětralých půdách s hojnými srážkami. Adsorbované sírany vznikají v důsledku vyplavování síranů z povrchových vrstev a jejich akumulací v podloží, kde mohou tvořit až třetinu celkové síry. Pro rostliny jsou obtížně dostupné, pokud nemají dostatečně vyvinutý kořenový systém. Sírany jsou adsorbovány hydratovanými oxidy železa nebo hliníku a hranami aluminosilikátů jílových částic při nízkém pH. Průběh adsorpce je řízen především elektrostatickými mechanismy a chemickou sorpcí. Adsorpce síranů se zvyšuje s povrchem jílových minerálů a závisí na povrchovém náboji. V důsledku přítomnosti většího množství jílu a hydratovaných oxidů železa a hliníku probíhá adsorpce intenzivněji. Při pH větším než 6,5 je adsorpce zanedbatelná, s klesajícím pH množství adsorbovaných síranů roste. V neposlední řadě je adsorpce ovlivněna přítomností ostatních aniontů.

Adsorbované sírany hrají jen malou roli pro přímou výživu rostlin sírou, ale mohou mít značný význam pro vyváženou bilanci síry v celém ekosystému [8,9].

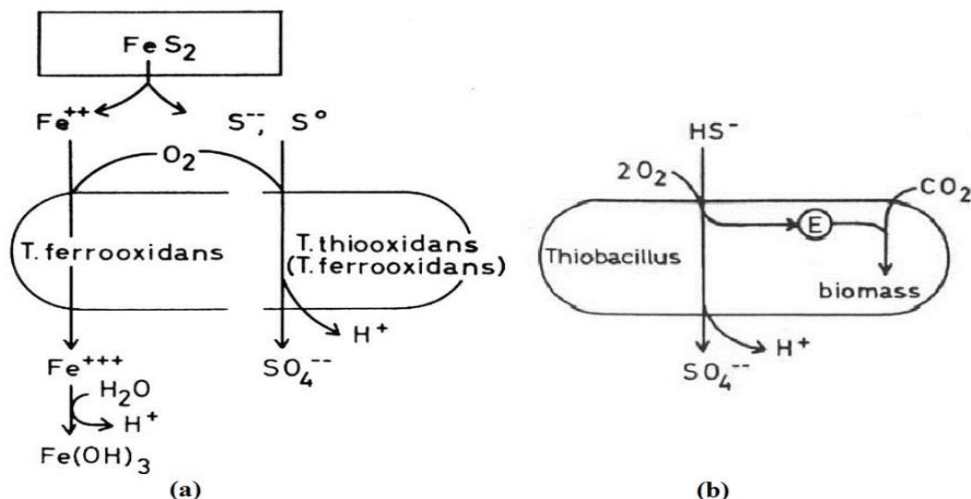
2.2.2 Sulfidy

V anaerobních podmínkách se půdní síra vyskytuje zejména ve formě sulfidů. Organicky vázaná síra v podmačených půdách podléhá mineralizaci za vzniku H₂S. Pokud se sirovodík nevysráží s kovem, uniká do atmosféry. Půdy obsahující dostatek železa poskytují optimální podmínky pro reakci H₂S s železnatým iontem za vzniku sulfidu železnatého, který podléhá konverzi na pyrit (FeS₂). Pyrit může být oxidován na síran za přítomnosti molekulárního kyslíku nebo působením železitého iontu jako oxidačního činidla, následně se železitý iont hydrolyzuje [8]. Průběh rozpouštění pyritu je znázorněn na Obrázku 4 (a).

Při přechodu k aerobním půdním podmínkám dochází k postupné oxidaci H₂S, tzv. sulfurikaci. Sulfurikace je proces oxidace redukovaných sloučenin síry fyziologickou skupinou sírných bakterií, zejména zástupců rodu *Acidithiobacillus* (původně označované jako rod *Thiobacillus*), kteří mají schopnost růstu i v extrémně nízkém pH. Samy produkují kyselinu sírovou, která při nedostatku CaCO₃ způsobuje silné okyselení půdy. Stávají se hlavní příčinou tzv. mikrobiální koroze betonu a železných materiálů [9]. Oxidace probíhá podle rovnice (1).



Všichni zástupci rodu *Acidithiobacillus* jsou chemolitotrofní organismy, to znamená, že získávají energii oxidací anorganických látek. Jediným zdrojem uhlíku je pro ně oxid uhličitý [10]. Mechanismus oxidace je znázorněn na Obrázku 4 (b).



Obrázek 4: Rozpouštění pyritu působením bakterií rodu *Thiobacillus* (a). Oxidace sirovodíku působením bakterií rodu *Thiobacillus* (b) [10].

2.3 Hnojení sírou

Problém závažného nedostatku síry stále existuje ve velkém měřítku i přes to, že onemocnění rostlin vyplývající z deficitu síry jsou studována déle než 20 let. Důvodem jsou s největší pravděpodobností obecná doporučení pro aplikaci sirných hnojiv, doporučení, která neberou v úvahu různorodost půdních typů, místní klima a další důležité charakteristiky při pěstování zemědělských plodin v konkrétní lokalitě.

Optimální načasování, dávka a forma sirných hnojiv závisí na konkrétním požadavku plodin na síru a na technice aplikování. Dávkování síry by mělo být rozvrženo tak, že na podzim se sírou hnojí k uspokojení požadavků rostliny po síře před zimou a na podporu přirozené odolnosti proti patogenům. Na začátku vegetačního období by měla být síra použita společně s dusíkem, například se statkovými hnojivy.

V minerálních hnojivech je síra rostlinám obvykle k dispozici jako síranový iont, siřičitan nebo elementární síra. Síran je přijímán kořenovým systémem rostliny přímo, zatímco siřičitan a elementární síra musí být prostřednictvím mikrobiální oxidace na síran převedeny. Sirná hnojiva mohou být aplikována jak v tuhé, tak v kapalně formě, a to do půdy nebo jako listová výživa [1].

Minerální síra je ve většině případů dodávána jako síran amonný nebo superfosfát. Další běžně používaná síranová hnojiva jsou síran draselný, sádrovec, síran hořečnatý a další, která jsou uvedena v Tabulce 1. Studie, která srovnává účinnost síranových hnojiv, ukázala, že všechny síranové formy si rostlina rychle osvojuje a mají srovnatelný účinek na přírůstek výnosu. Faktorem výběru síranového hnojiva mohou být převážně náklady. Vzrůstající tendenci použití mají v posledních letech hnojiva obsahující elementární síru [8, 11].

Tabulka 1: Nejvíce používaná sírná hnojiva a jejich obsah hlavních živin [8].

Material	Formula	Plant Nutrient Content (%)			
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O	S
Ammonium nitrate-sulfate	NH ₄ NO ₃ · (NH ₄) ₂ SO ₄	30	0	0	5
Ammonium phosphate	MAP (crude)	11	48	0	2.2
Ammonium phosphate-sulfate	MAP, DAP + (NH ₄) ₂ SO ₄	16.5	20.5	0	15.5
		13	39	0	7
Ammonium polysulfide solution	NH ₄ S _x	20	0	0	45
Ammonium sulfate	(NH ₄) ₂ SO ₄	21	0	0	24.2
Ammonium thiosulfate solution	(NH ₄) ₂ S ₂ O ₃	12	0	0	26
Ferrous sulfate	FeSO ₄ · H ₂ O	0	0	0	18.8
Gypsum (hydrated)	CaSO ₄ · 2H ₂ O	0	0	0	18.6
Magnesium sulfate (Epsom salt)	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0	0	0	13
Potassium sulfate	K ₂ SO ₄	0	0	50	17.6
Potassium-magnesium sulfate	K ₂ SO ₄ · 2MgSO ₄	0	0	22	22
Potassium thiosulfate	K ₂ S ₂ O ₃	0	0	25	17
Potassium polysulfide	KS _x	0	0	22	23
Sulfuric acid (100%)	H ₂ SO ₄	0	0	0	32.7
Sulfur	S ⁰	0	0	0	100
Sulfur (granular with additives)		0–7	0	0	68–95
Sulfur dioxide	SO ₂	0	0	0	50
Superphosphate, single	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ + CaSO ₄ · 2H ₂ O	0	20	0	13.9
Superphosphate, triple	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ + CaSO ₄ · 2H ₂ O	0	46	0	1.5
Urea-sulfur	CO(NH ₂) ₂ + S	36–40	0	0	10–20
Urea-sulfuric acid	CO(NH ₂) ₂ · H ₂ SO ₄	10–28			9–18
Zinc sulfate	ZnSO ₄ · H ₂ O	0	0	0	17.8

2.3.1 Hnojiva na bázi elementární síry

Elementární síra je žlutá, ve vodě nerozpustná pevná látka. Když se jemně pomele a promísí s půdou, je oxidována půdními mikroorganismy na rostlinami přijatelnou formu, síran. Rychlost oxidace síry je závislá na několika faktorech, jako je velikost částic, půdní podmínky nebo způsob aplikace. V závislosti na těchto podmínkách se síra postupně uvolňuje v síranové formě. Jedná se o hnojivo s nízkou náchylností ke ztrátám vyplavováním. Síra má fungicidní a akaricidní účinky. Nezanedbatelnou výhodou elementární síry jsou menší náklady na manipulaci a transport, což je dáno vysokou koncentrací síry v tomto hnojivu a

tedy i jeho nižší spotřebou. Vzhledem k tomu, že se většinou jedná o odpadní produkt ropných rafinerií, jehož množství bezpečně pokryje požadavky průmyslových odběratelů, jeho nadbytek se stává relativně levnou a snadno dostupnou surovinou pro výrobu průmyslových hnojiv. Elementární síra může být použita v pevné formě, ve vodných suspenzích, ve směsi s jinými hnojivy nebo jako obalová složka například močoviny, fosfátů nebo jílu. Z bezpečnostních důvodů se nedoporučuje mísení s dusičnanem amonným [1,8,12].

Granulovaná mikronizovaná síra

Granulovaná mikronizovaná síra s obsahem S^0 kolem 95% se skládá z částic menších než $74\mu\text{m}$ spojených vodorozpustným pojivem. Vlivem smáčení a povětrnostních podmínek se granule mikronizované elementární síry rychle rozpadají. Dostupnost síry pro rostliny může být řízena volbou velikosti částic [8,12]. Jedna z možných forem granulované síry je uvedena na Obrázku 5 (a).

Vodné sirné suspenze

Velmi jemně namletou elementární síru ($1-10\ \mu\text{m}$) s přídavkem 2 až 3% jílu lze suspendovat ve vodě. Vzniklé suspenze obsahují 40 až 60% síry a nejčastěji se používají jako listové suspenzní hnojivo. Původně byly sirné suspenze aplikovány jako širokospektrální ochranný prostředek k ničení hub a plísní [8,12].

S - bentonit

S-bentonit je granulované sirné hnojivo, které může být použito jako zdroj rostlinných živin nebo jako doplněk pro korekci problémových alkalických zemin. Po tom, co se granule S-bentonitu dostanou do kontaktu s vodou, bobtnají a rozpadají se, čímž napomáhají rozptýlení částic síry a jejich oxidaci. Obvyklý poměr síry a bentonitu v granulích se pohybuje kolem 9:1. Směs lze připravit suchou cestou a poté ji granulovat, nebo vlhkou cestou, kdy se bentonit přidává do roztavené síry a následně se granuluje [13]. Tablety S-bentonitu jsou zobrazeny na Obrázku 5 (b).



Obrázek 5: Granulovaná sírná hnojiva: (a) mikronizovaná granulovaná síra, (b) S-bentonit [13].

Roztok síry v bezvodém amoniaku

Elementární síra je rozpustná v bezvodém amoniaku. Smícháním těchto dvou látek s vysokým obsahem živin, dusíku a síry, vzniká velice účinná směs. Výrobce z USA charakterizuje tento produkt označením 74-0-0-10S. S výrobou hnojiva ale přicházejí velice závažné problémy. Jemně namletá síra se zavádí do bezvodého amoniaku pod tlakem a sebemenší množství vody nebo SO_2 působí vážné korozivní účinky. Může docházet k ucpávání trysek při aplikaci a transportu. Z tohoto důvodu, je výrobek na trhu poměrně omezený [13].

Superfosfát obohacený sírou

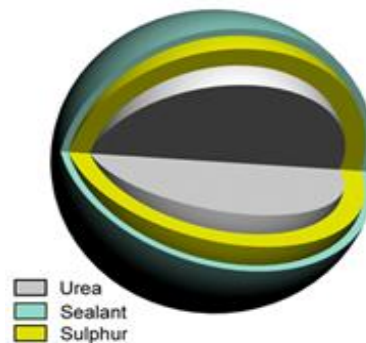
Síran obsažený v superfosfátu je doplněn elementární sírou pro dlouhodobé působení [9].

Granulovaná hnojiva obalovaná sírou

Elementární síra se často používá jako povrchová úprava dobře rozpustných granulovaných hnojiv. Nástřikem taveniny elementární síry se vytvoří porézní obal, jehož póry pomalu proniká voda dovnitř partikule. Uvnitř obalu se tvoří roztok živin, který je postupně uvolňován do půdy. Tímto způsobem se upravují například trojitý superfosfát (TSP), hydrogenfosforečnan amonný (DAP), dihydrogenfosforečnan amonný (MAP) nebo močovina (SCU) [9].

Močovina obalovaná sírou (SCU)

Močovina je dusíkaté vodorozpustné hnojivo obsahující 40% N. Pro pomalejší uvolňování dusíku do půdy se obaluje elementární sírou, která tvoří vodonepropustnou mikroporézní bariéru. SCU se vyrábí nástřikem roztavené síry na přehřáté částice močoviny. Jakmile se síra dotkne jejich povrchu, tak ztuhne a vytvoří povlak granule. Kvůli malé odolnosti proti nárazu a otěru se na povrch síry ještě nanáší ochranné vrstvy polymeru, vosku nebo dehtu, které zaplní mikroskopické póry a trhliny sirného obalu. Řez granule obalované močoviny je znázorněn na Obrázku 6. Pod vrstvu elementární síry nebo na její povrch se mohou aplikovat další účinné látky, jako jsou pesticidy, látky zabraňující spékání nebo jiná hnojiva [12,13].



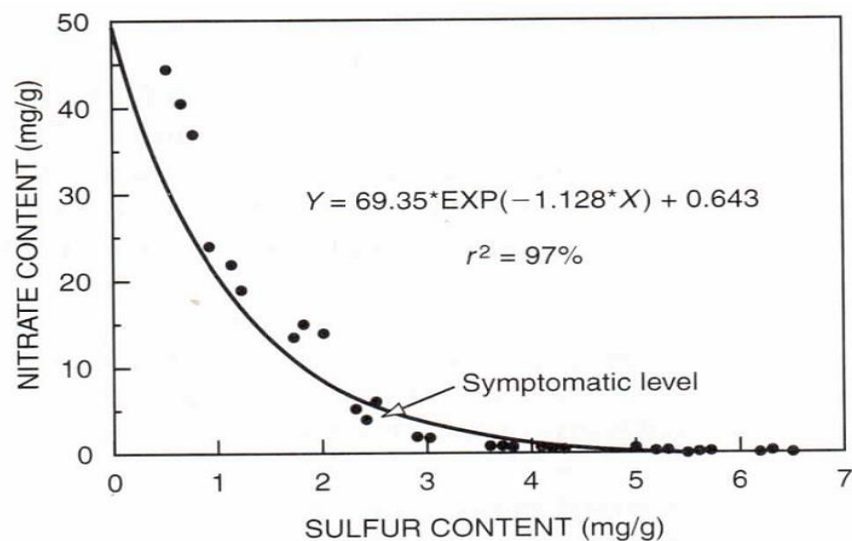
Obrázek 6: Výřez granule močoviny obalované sírou a ochranou povrchovou vrstvou [13].

Bentonit se sírou a lignosulfonáty

Smísením mikronizované síry, práškového bentonitu a vodného roztoku lignosulfonátu vzniká směs, která se granuluje a následně suší. Použitím mikronizované síry vzniká pórovitá granule, která rychleji nabobtná bentonitovou složku. Navíc se do půdy uvolňují částice síry o menší velikosti, nežli tomu je u produktu z klasické výroby založené na smíchání mletého bentonitu s roztavenou sírou. Lignosulfonát podporuje rovnoměrné rozptýlení síry v produktu [17].

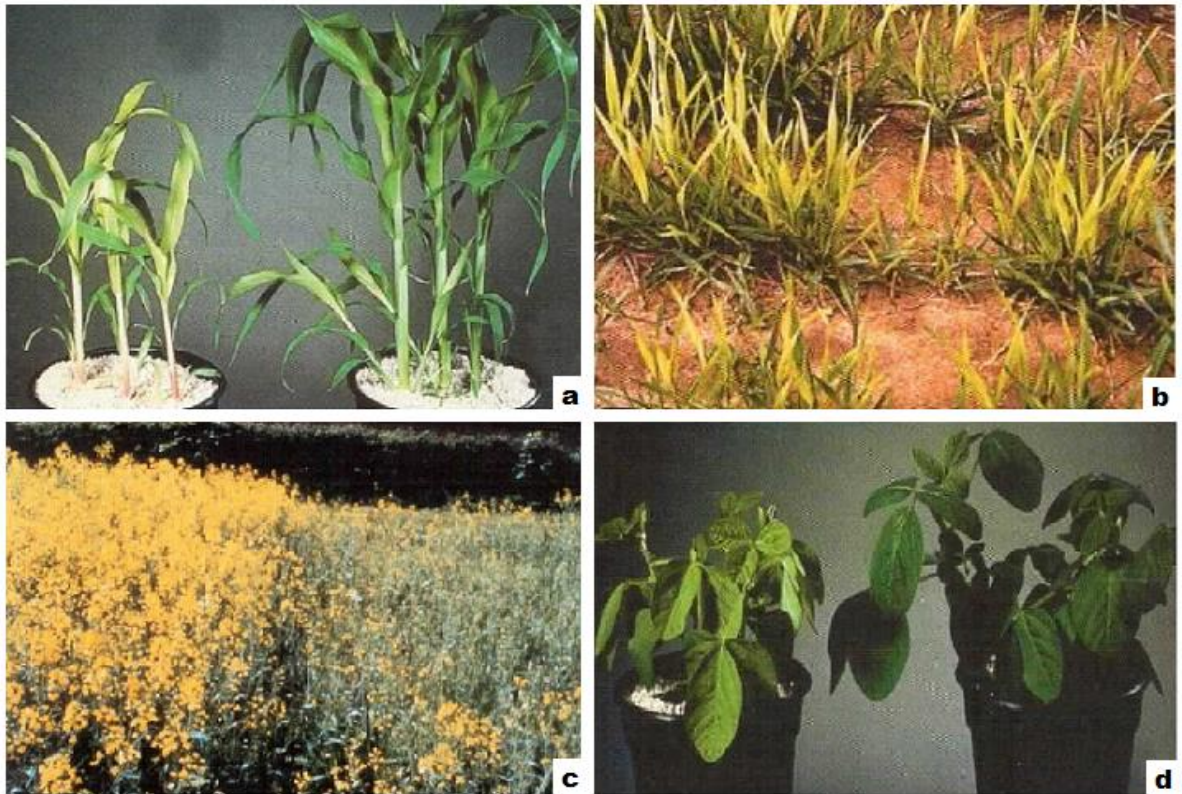
2.3.2 Vizuální symptomy deficitu síry

V rostlinách trpících nedostatkem síry se hromadí neproteinový dusík ve formě NH_2 a NO_3^- . Pro efektivní využití dusíku mikroflórou zvířat je třeba, aby se poměr N/S v krmivu pohyboval kolem hodnoty 9:1. Optimální obsah těchto živin má tedy pozitivní vliv na kvalitu krmiv a následně i na výživu zvířat. Při deficitu síry se hromadí NO_3^- v tkáni listů zeleniny a to může ovlivnit kvalitu potravin pro člověka. Na Obrázku 7 je dobře vidět, že množství naakumulovaných dusičnanů v salátu výrazně stoupá až při deficitu síry, kdy je nedostatek živiny již vizuálně dobře zřetelný (cca < 2,5 mg S/g sušiny) [8].



Obrázek 7: Koncentrace dusičnanů v sušině salátu v závislosti na nutričním stavu rostliny z pohledu síry [8].

Deficit síry se u zemědělských plodin projevuje zakrnělým vzrůstem, světle zeleným až žlutým zbarvením mladých listů, méně vyvinutými květy a poškozenými semeny (viz Obrázek 8). U brukvovitých zemědělských plodin mohou být listy zdeformované, zarudlé až fialové. Příznaky nedostatku síry se projevují také na květech, které jsou méně vyvinuté a bledší. Poškozené a redukované bývají i plody. V mnoha případech jsou tyto příznaky zaměňovány za příznaky deficitu dusíku a mohou vést k nesprávné diagnostice nutričního stavu plodiny. Obecně platí, že vizuální symptomy nedostatku síry postihují primárně mladé listy a při deficitu dusíku listy starší. Po dlouhodobém působení nedostatku živiny může být ale zasažena celá rostlina a je vhodnější provést analýzu, aby byl zjištěn přesný nutriční stav rostliny [3,8].



Obrázek 8: Deficit síry u zemědělských plodin. (a) Deficit síry u kukuřice (rostliny vlevo); (b) Deficit síry u pšenice; (c) Deficit síry u řepky (rostliny vpravo); (d) Deficit síry u sóji (rostliny vlevo) [3,8].

2.4 Faktory ovlivňující oxidaci síry v půdě

Oxidace elementární síry, sulfidů a dalších redukovaných forem síry v půdě může probíhat čistě chemickou cestou, která je ovšem velice zdlouhavá, a proto je mnohem významnější mikrobiální oxidace. Na rychlost oxidace má vliv především zastoupení mikrobiální populace, charakter oxidované síry a půdní podmínky [8].

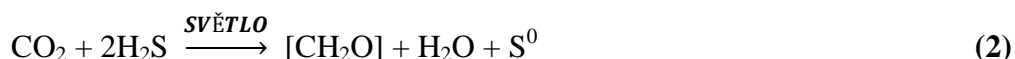
2.4.1 Půdní mikroorganismy

Už v 70. letech minulého století byly uvažovány dva základní mechanismy oxidačních účinků bakterií na redukované formy síry – přímý a nepřímý. V současné době je biooxidace považována za komplexní chemický děj, ve kterém mikroorganismy sehrávají významnou úlohu, a to nikoliv přímo, ale prostřednictvím produktů svého metabolismu. Význam bakterií v nepřímém mechanismu biooxidace spočívá v recyklaci redukovaných forem železa a v generování kyselých vodíků. Tuto vlastnost splňují chemolitotrofní bakterie oxidující železo nebo síru a archaea. V důsledku biooxidace sloučenin síry vzniká kyselina sírová, a proto musí být tyto druhy acidofilní. Jedná se převážně o autotrofní organismy, které jsou schopné vázat vzdušný CO₂ do organických sloučenin. Jako zdroj metabolické energie využívají rozdílů potenciálů mezi elektronovým donorem (Fe²⁺/Fe³⁺ nebo S⁰/SO₄²⁻) a akceptorem elektronů (například O₂/H₂O v aerobních podmínkách). Mechanismus působení mikroorganismů na sulfidickou síru byl znázorněn na Obrázku 4 v kapitole 2.2.2. V anaerobních podmínkách nebo v prostředí s omezeným přístupem kyslíku mohou mikroorganismy využívat jako terminální akceptor elektronů ionty Fe³⁺ [14].

Nejvýznamnější zástupci půdních mikroorganismů podílejících se na oxidaci sirných sloučenin jsou autotrofní bakterie (*Acidithiobacillus*, *Thiotrix*, *Beggiaboia*), archebakterie (*Acidianus brierley*) ale i některé heterotrofní houby (*Aspergillus*, *Fusarium*) [15].

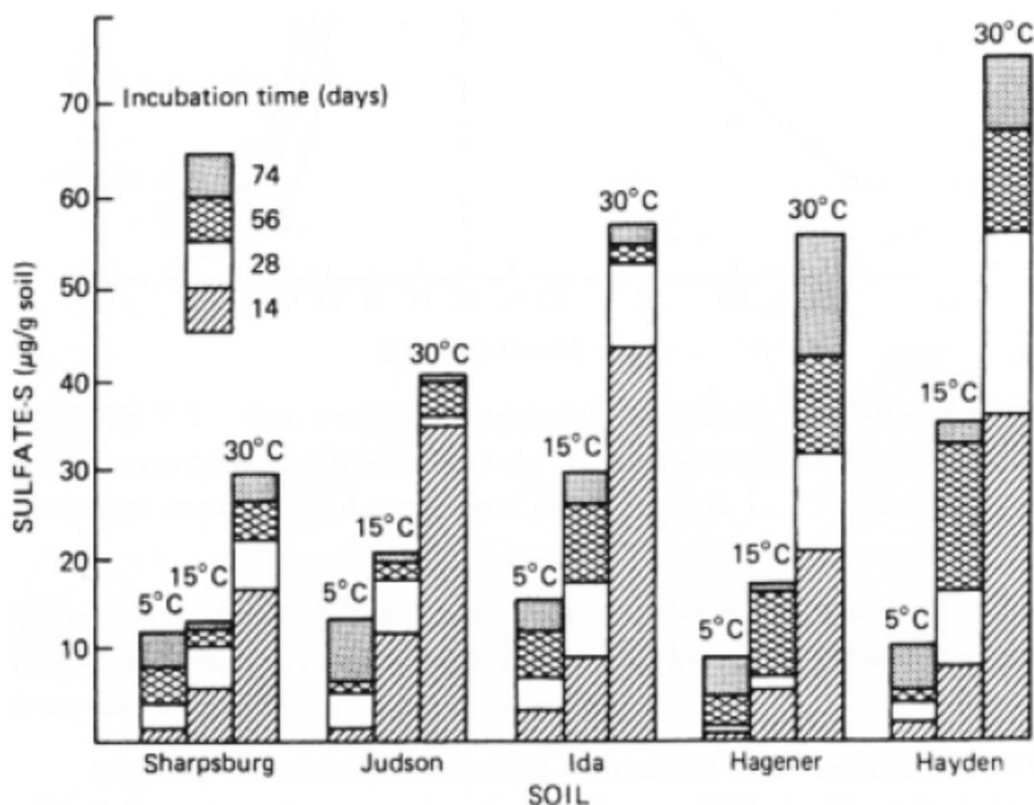
Rod *Acidithiobacillus*, původně označovaný jako *Thiobacillus*, zastřešuje několik druhů, které významně zasahují do oxidačních transformací sirných sloučenin. Jsou to chemolitotrofní *At. denitrificans*, *At. ferrooxidans* nebo *At. thiooxidans*. *Acidithiobacillus ferrooxidans* je detailně prostudovaným acidofilním druhem oxidujícím železo a síru. Je schopný metabolizovat za aerobních i anaerobních podmínek a dokáže přijímat elektrony z elementární síry, dvojmocného železa i vodíku. Elektrony z redukovaných forem síry a železa jsou zdrojem energie pro syntézu ATP a NAD(P)H v organismu bakterií [14].

Zajímavou skupinou mikroorganismů, která se podílí na oxidaci sirných sloučenin, jsou fototrofní bakterie. Purpurové (*Chromatium*) a zelené (*Chlorobium*) sírné bakterie jsou obligátně anaerobní organismy, využívající světlo jako zdroj energie. Vyskytují se převážně ve stojatých vodách vystavených světlu nebo v močálech obsahujících H₂S. Právě sulfan slouží jako donor elektronů při fotosyntéze místo vodíku [15]. Mechanismus probíhajících pochodů u fototrofních sirných bakterií je znázorněn rovnicí (2) [8].



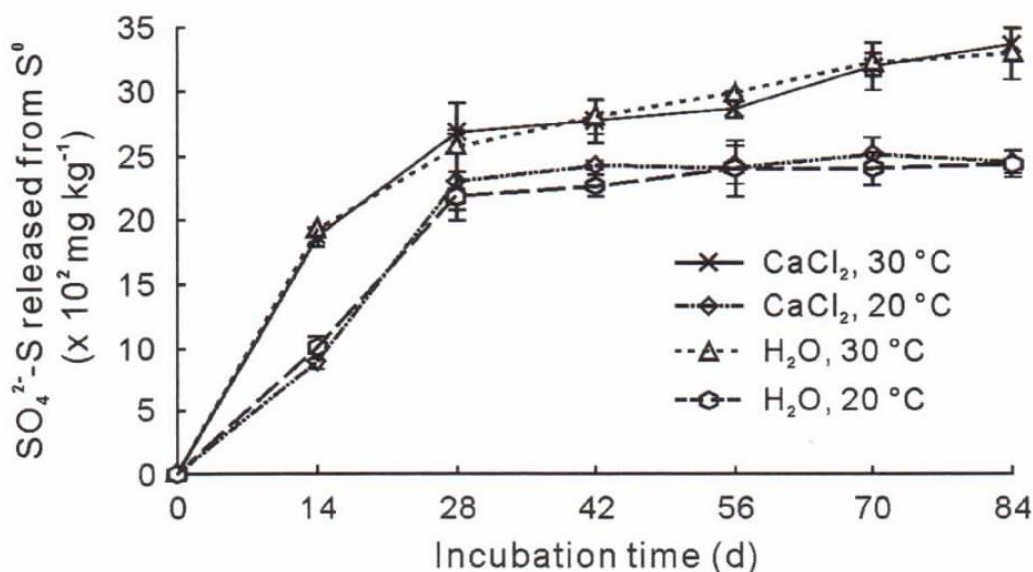
2.4.2 Teplota půdy

Biooxidace může probíhat v širokém rozsahu teplot a složení mikrobiální populace oxidující železo a síru je na tomto faktoru závislé. Oxidace síry začíná při teplotách vyšších než 5°C a její rychlost roste s teplotou, jak je naznačeno na Obrázku 9. Metabolicky nejaktivnější jsou půdní mikroorganismy od 20 do 45°C a při teplotách vyšších než 55°C obvykle hynou [8,14].



Obrázek 9: Vliv teploty a délky inkubace na oxidaci elementární síry v půdě [8].

Rovněž z experimentu, který byl založen na inkubaci dvou vzorků při teplotách 20 a 30°C, vyplývá, že rychlost oxidace elementární síry úzce souvisí s teplotou. Po 14 dnech inkubace se zoxidovalo 6% a 12,4% původního obsahu elementární síry při 20, resp. 30°C, po čtyřech týdnech inkubace to bylo 15,3% a 17,8% síry. Oxidace probíhala rychle v prvních čtyřech týdnech, poté se její rychlost zpomalila (viz Obrázek 10) [16]. Z literárních údajů [8] je zřejmé, že v reálných polních podmínkách by oxidace probíhala pomaleji než při experimentální inkubaci.



Obrázek 10: Časové průběhy oxidace elementární síry v půdě při různých teplotách (extrakce vodou a roztokem CaCl₂) [16].

2.4.3 Půdní reakce

Optimální hodnota pH pro oxidaci síry úzce souvisí s charakterem bakteriální populace v půdě. Zatímco *Thiobacillus thiooxidans* je extrémně acidofilní bakterie a dokáže přežít i při pH 2 až 3, *Thiobacillus thioparus* má optimální pH mezi 4,5 – 5, a v kyseljším prostředí není schopen růstu. Během oxidace může docházet k poklesu pH i o několik jednotek, jak je zřejmé z Tabulky 2. Okyselení půdy může mít pozitivní účinek z hlediska potlačení infekce v podobě houbových patogenů. V písčitéch půdách o vysokém pH může oxidace síry zmírnit špatnou dostupnost esenciálních stopových živin. Acidifikace půd musí být vyvážená vápněním, aby se předešlo strukturním problémům, zejména u půd s vysokým obsahem jílu [16].

Tabulka 2: Hodnoty pH půdních výluhů při různých teplotách a dobách inkubace [16].

Temperature	S ⁰ application	pH						
		0 d	14 d	28 d	42 d	56 d	70 d	84 d
°C								
20	With	6.98	3.41	3.00	2.97	2.95	2.97	2.93
	Without	7.02	6.94	7.00	6.96	6.99	6.96	6.99
30	With	6.98	2.89	2.99	2.94	2.85	2.84	2.82
	Without	7.02	6.91	6.94	6.89	6.94	6.83	6.86

2.4.4 Vlhkost a provzdušnění půdy

Převážná většina sirných bakterií jsou aerobní mikroorganismy, které pro svůj metabolismus potřebují kyslík. Množství kyslíku v půdě se mění vlivem zamokření a souvisí s pórovitostí a kapilární kapacitou půdy. Vzduch se drží v nekapilárních pórech, které po zamokření voda rychle opouští a při nedostatečném provzdušnění se brzdí výměna plynů, důležitá pro aktivitu půdních bakterií. Oxidaci sirných sloučenin neprospívá ani příliš mokrá ani příliš suchá zemina. Z mnohých experimentů bylo zjištěno, že optimální průběh oxidace síry probíhá v blízkosti polní vodní kapacity. Polní vodní kapacita představuje takovou vlhkost půdy, při níž je voda zadržována v kapilárách a gravitační voda odtéká do podloží.

Hodnota půdní vlhkosti se udává v hmotnostních procentech několika různými charakteristikami, které se liší experimentálním stanovením i výslednými hodnotami. Jejich příklady jsou uvedené a popsány níže [8].

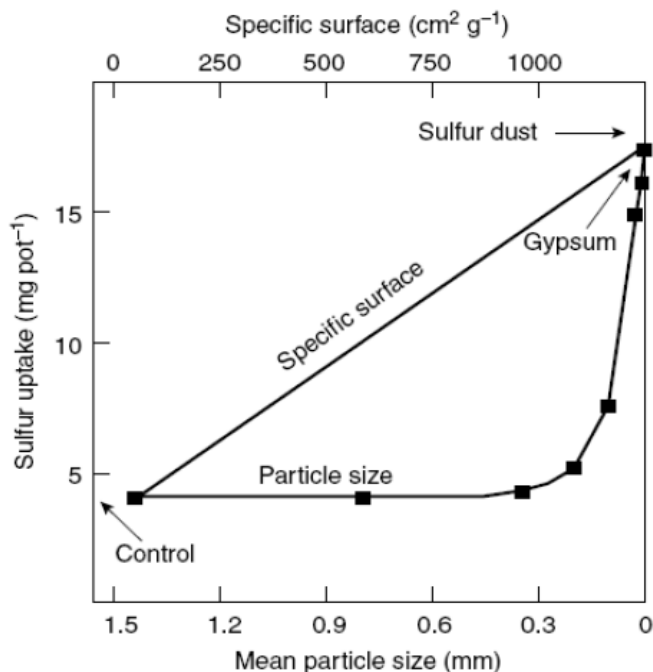
- *Plná vodní kapacita (nasáklivost)* udává maximální množství vody, které může půda pojmout při zaplnění všech pórů vodou. V půdě nastává bezprostředně po dešti.
- *Retenční vodní kapacita (maximální kapilární vodní kapacita)* představuje největší množství vody zadržené v kapilárách, přičemž gravitační voda odtéká do podloží.
- *Absolutní půdní vlhkost* udává obsah vody v zemině stanovený sušením při 105°C.
- *Relativní půdní vlhkost* vyjadřuje poměr absolutní půdní vlhkosti a retenční vodní kapacity.
- *Vzdušná půdní kapacita* vyjadřuje obsah vzduchu v půdě (pórovitost) při retenční vodní kapacitě (kapiláry vyplněné vodou).
- *Bod vadnutí* odpovídá stavu půdní vlhkosti, kdy rostliny svojí sací silou nestačí překonat síly, kterými je půdní voda poutána a vadnou [18,19].

2.4.5 Velikost částic elementární síry

Velikost částic elementární síry je zásadní, rychlost řídicí faktor její oxidace na sírany. Rychlost oxidace síry na sírany a tedy její dostupnost (přijatelnost) pro rostliny se zvyšuje s rostoucím povrchem částic. Protože vztah mezi povrchem částic a jejich průměrem je při konstantní hmotnosti inverzní, rychlost oxidace se s klesajícím průměrem částic exponenciálně zvyšuje. Vztah mezi zmíněnými faktory je graficky znázorněn na Obrázku 11. Jemně namletá síra zapracovaná do půdy s vysokou oxidační schopností může za určitých podmínek svou dostupností konkurovat i síranovým hnojivům [8]. Doporučené velikosti částic síry pro maximální agronomickou účinnost za různých podmínek jsou shrnuty v Tabulce 3.

Tabulka 3: Doporučené velikosti částic elementární síry pro maximální agronomickou účinnost [20].

Klimatická zóna	mírně chladná	teplá a vlhká
Každoroční aplikace	< 150 μm	< 250 μm (50% < 150 μm)
Aplikace jednou za dva roky	< 250 μm (50% < 150 μm)	< 500 μm (50% < 250 μm)



Obrázek 11: Závislost příjmu síry kukuřicí na velikosti částic a jejich specifickém povrchu [1].

2.5 Stanovení síry v půdě

Síru rostliny přijímají především kořenovým systémem z půdního roztoku, a proto je pro případné hnojení sírou významnou informací její aktuální zásoba v půdě. Podle studií jsou nejlépe dostupnou formou síry v půdě vodorozpustné sírany, následují adsorbované sírany a sulfátové estery. Tyto frakce lze považovat za doporučený indikátor stavu zásobenosti půd sírou. Ostatní formy mají jen malý význam pro výživu rostlin ale pro charakterizaci půdy je vhodné znát i celkový obsah této živiny [9].

2.5.1 Stanovení celkové síry

Množství celkové síry v půdě se pohybuje v širokém intervalu hodnot, a to především v závislosti na půdním typu a hloubce odebraného vzorku. Organické půdy mohou obsahovat až 0,5% síry. Metody pro stanovení celkové síry v půdě zahrnují dva po sobě jdoucí kroky. Nejprve je třeba převést veškerou půdní síru na jednotnou formu, a to buď oxidací na síran, nebo redukcí na sulfid. Druhým krokem je samotné stanovení vzniklých síranů nebo sulfidů.

Zásadní vliv na množství síry v měřeném výluhu má výběr extrahovačla. Každé extrahovačlo má totiž jinou schopnost uvolňovat sírné sloučeniny do výluhu. Použitím různých extrakčních postupů lze rozlišit zastoupení lehce a obtížně rozpustných síranů ve vzorku. Například vodný výluh extrahuje z půdy mnohem méně síry než extrakční roztok dle Melicha 3 (NH_4F , NH_4NO_3 EDTA, HNO_3 CH_3COOH) nebo roztok dihydrogenfosforečnanu vápenatého (MCP). Jako nejvhodnější se pro stanovení síry přístupné rostlinám jeví vodný výluh v poměru půda - voda 1:5, který je také doporučován ČSN ISO 11048.

Ve většině případů je síra z půdy vyextrahována ve formě síranů, které se detekují. Výše uvedená mezinárodní norma ISO zahrnuje pouze postup gravimetrického stanovení síranů, ale připouští i jiné analytické metody. Doporučuje se emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES), která dokáže v extraktu stanovit organickou i anorganickou síru velice přesně. Dále se používá metoda fotometrická, při které se redukuje veškerá síra na sulfan a ten je stanoven metodou metylenové modři. Pro stanovení celkové síry je možné použít i iontovou chromatografii [21,22].

2.5.2 Stanovení síranů

Norma ISO 11048 zahrnuje stanovení síranů v půdě po extrakci vodou (půda : voda = 1:2, popřípadě 1:5) nebo kyselinou chlorovodíkovou zředěnou 1:1 (půda : kyselina = 1:5). Norma uvádí pouze gravimetrické stanovení síranů v půdě, při kterém se sírany sráží roztokem chloridu barnatého v kyselém prostředí na síran barnatý. Při nižších koncentracích síranů než je 10 mg.l^{-1} v roztoku, norma připouští i stanovení ICP-OES, nepřímou fotometrickou průtočnou vstříkovací analýzu (FIA), turbidimetrické FIA stanovení, iontovou chromatografii nebo kapilární zónovou elektroforézu.

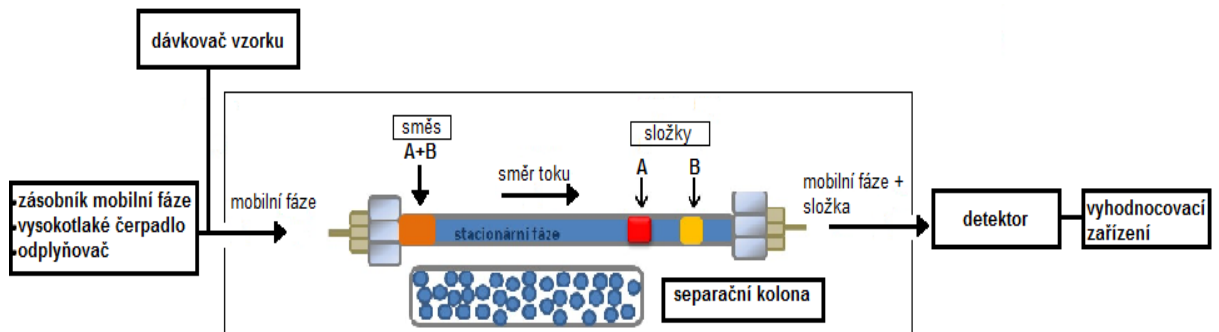
Při stanovení síranů v půdě iontovou chromatografií, se z pohledu stanovení množství síry přijatelné rostlinami jeví jako nejvhodnější extrahovadlo voda. Dalšími možnými extrakčními činidly jsou roztoky NaCl, LiCl nebo CaCl₂. Roztok NaHCO₃ a CaCO₃ v suspenzi jsou účinná vyluhovadla, ale mohou částečně extrahovat i organickou síru, a tím ovlivnit výsledky. Roztok KH₂PO₄ extrahuje částečně i adsorbované sírany, ale nevýhodou je obtížná filtrace výluhu [21,22].

2.6 Iontová chromatografie

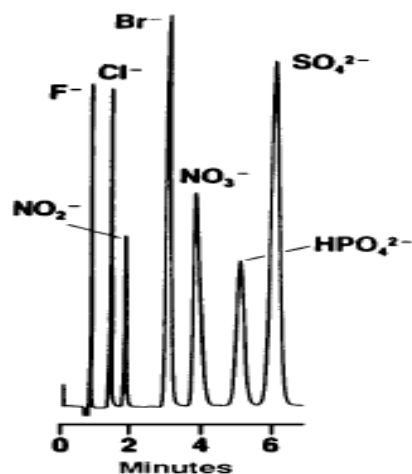
2.6.1 Princip metody

Iontová chromatografie je kvalitativní a kvantitativní separační technika, založená na dělení látek mezi dvě fáze - mobilní (roztok elektrolytu) a stacionární (ionex). Mechanismus separace je založen na principu iontové výměny mezi iontovými látkami obsaženými v mobilní fázi a iontově výměnnými skupinami vázanými na nosiči. Ionex je tvořen makromolekulární maticí, nejčastěji polystyrenovou, styren-divinylbenzenovou nebo akrylátovou, modifikovanou kyselými nebo bazickými iontově výměnnými skupinami. Při průchodu vzorku separační kolonou jsou jeho iontové složky na ní více či méně zadržovány dle jejich afinity k funkčním skupinám ionexu a v souladu s neustále se obnovující a porušující se iontově výměnnou rovnováhou. Oddělené složky vzorku jsou na výstupu z kolony detekovány vhodnou metodou. Podle retenčního času je konkrétní látka identifikována a podle intenzity signálu kvantifikována. Schéma iontového chromatografu je uvedeno na Obrázku 12. Obrázek 13 pak zobrazuje příklad chromatogramu směsi aniontů (závislost detekovaného signálu na čase) [23,24].

Podle separačního mechanismu může být iontová chromatografie rozdělena do tří skupin: iontově výměnná chromatografie (IEC), vytěšňovací iontová chromatografie (ICE) a iontová chromatografie s aktivní mobilní fází (MPIC) [24].



Obrázek 12: Schéma iontového chromatografu [23].



Obrázek13: HPIC chromatogram směsi aniontů [24].

Při iontově výměnné chromatografii jsou analyzované ionty zadržovány na aktivních centrech stacionární fáze, která jsou v případě anexu obvykle tvořena bazickými amoniovými nebo aminovými skupinami a v případě katexu kyselými karboxylovými nebo sulfoskupinami. Po celou dobu se ustavuje iontově výměnná rovnováha mezi mobilní fází, vzorkem a skupinami ionexu.

Iontově vytěšňovací chromatografie pracuje se separační kolonou tvořenou mikroporézní kationickou ionexovou pryskyřicí s vysokým obsahem sulfonových skupin. Na povrchu je vytvořena polopropustná nabitá vrstva. Silné anionty jsou povrchem odpuzovány a procházejí kolonou nejrychleji. Složky neutrální až kyselé, jako jsou organické kyseliny, touto vrstvou difundují a reagují s ionexem. Elučním činidlem je obvykle některá ze silných alkylsulfonových kyselin.

K separaci hydrofóbních iontů se používá iontová chromatografie s aktivní mobilní fází. Separovaný kationt vytvoří iontový pár s některou z alifatických sulfonových kyselin, nebo obdobně separovaný aniont s kvarterní amoniovou bází. Vzniklé páry působí relativně neutrálně a interagují s neutrálním povchem ionexu, přičemž rozsah interakce závisí na hydrofobnosti páru [24].

2.6.2 Metody detekce

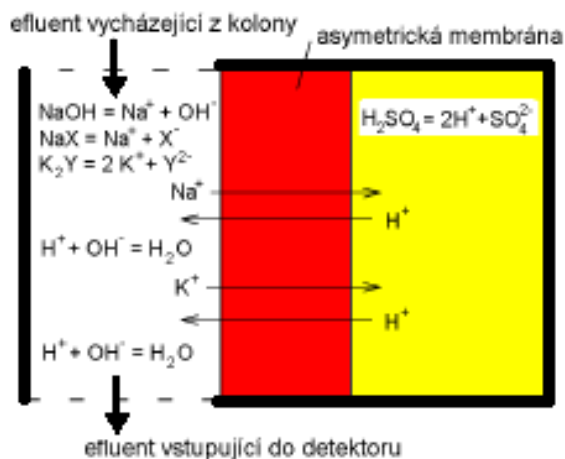
Metoda detekce v iontové chromatografii by měla být volena tak, aby byla selektivní pro analyt a málo citlivá pro mobilní fází (pokud jde o přímou metodu). Používané metody lze rozdělit na přímé, při kterých se detekuje vlastnost analytu, a nepřímé, u kterých probíhá detekce analytické vlastnosti eluentu. V tomto případě při eluci sledovaného iontu dochází k poklesu koncentrace elučního činidla, což je detekováno vhodnou metodou. Eluce dělených aniontů se tak projeví negativními píky. Pro účely nepřímé detekce se obvykle používají refraktometrické nebo fotometrické detektory [24].

Vodivostní detekce

Přímá vodivostní detekce je velice univerzální a v iontové chromatografii nejvíce používaná detekční metoda. Detektory měří elektrickou vodivost eluátu v průtokové cele mezi dvěma elektrodami, na něž je vkládáno střídavé napětí, aby se zabránilo polarizaci těchto elektrod. Přítomnost iontů vzorku v mobilní fází se projeví změnou vodivosti. Pro vysokou citlivost detekce by se měla volit pokud možno nevodivá mobilní fáze, musí ovšem analyzované látky dostatečně rozpouštět a mít dostatečnou permitivitu. Pro splnění těchto přísných podmínek se používají kolony plněné ionexy s nízkou kapacitou, aby bylo možné použít mobilní fáze s nízkým obsahem elektrolytů [24].

Rušivý vliv vodivosti mobilní fáze může být potlačen vložením tzv. supresoru mezi separační kolonu a vodivostní detektor. Jeho funkce spočívá ve výměně silně vodivých iontů

mobilní fáze za ionty, se kterými vzniká velmi málo disociovaná a tedy omezeně vodivá sloučenina. Např. při chromatografii aniontů, která byla využívána v diplomové práci, jsou složkami mobilní fáze nejčastěji NaHCO_3 a Na_2CO_3 , výměnou iontů Na^+ za H^+ vzniká místo vodivého roztoku těchto solí málo disociovaná a téměř nevodivá kyselina uhličitá, která má jen minimální rušivý vliv na konečnou detekci. Supresor může mít podobu kolony s vysokou výměnnou kapacitou, která je v případě chromatografie aniontů plněná katexem ve vodíkovém cyklu. Tato kolona je ale zdrojem určitého rozšiřování elučních zón separovaných iontů a její náplň se musí regenerovat. Moderní přístroje proto obsahují dvě kolony a před vyčerpáním výměnné kapacity jedné kolonky dojde automaticky k její výměně za druhou, zregenerovanou. Další možností, jak potlačit při aniontové chromatografii vodivost eluentu, je použití membránového supresoru. V supresoru dochází k difúzi kationtů analytu i elučního činidla asymetrickou iontově výměnnou membránou do zředěného roztoku kyseliny sírové, odkud výměnou difundují vodíkové kationty do eluentu. Je-li účinnou složkou mobilní fáze roztok hydroxidu sodného, reagují ionty H^+ s hydroxylovými ionty za vzniku molekul prakticky nedisociované vody [21,24]. Rovnicemi popsany proces, který probíhá v supresoru, je naznačen na Obrázku 14.



Obrázek 14: Procesy probíhající v membránovém supresoru [24].

Fotometrická detekce

Fotometrický detektor pracuje na principu měření absorbance monochromatického záření eluátem, vycházejícím z chromatografické kolony. V případě přímé fotometrické detekce se měří absorbance stanovované látky, přičemž použitá mobilní fáze ve zvolené

oblasti spektra prakticky neabsorbuje. Nepřímá detekce je založena na měření absorbance eluentu, přičemž ionty vzorku při zvolené vlnové délce neabsorbují. V mobilní fázi obsahující ionty vzorku tak dochází k poklesu koncentrace její účinné složky, což je detektorem zaznamenáno. Nepřímá fotometrická detekce je citlivější nežli přímá, protože obchází problémy související s čistotou mobilní fáze a kvalitou detektoru [24,25].

Další druhy detekcí

Amperometrické detektory měří proud vyvolaný průchodem redukované nebo oxidované látky průtokovou celou detektoru. Měřený elektrický proud je přímo úměrný koncentraci elektrochemicky aktivního analytu.

Coulometrické detektory měří náboj potřebný k oxidaci či redukci stanovované látky při jejím průtoku měrnou celou detektoru.

Hmotnostní spektrometrie je všestranná, rychlá a citlivá analytická metoda, která je často využívána ke kvalitativní i kvantitativní chemické analýze, protože poskytuje velké množství informací o vzorku a jeho složení. Jako detekční metoda iontové chromatografie tak představuje účinný analytický nástroj.

Fluorescenční detektor je založen na principu fluorescence, což je schopnost látek absorbovat UV záření a následně emitovat záření o vyšší vlnové délce. Toto záření se detekuje na fotonásobiči umístěném kolmo na směr vstupujícího záření.

Refraktometrický detektor měří rozdíly mezi indexem lomu eluátu a čisté mobilní fáze, v okamžiku přítomnosti vzorku v měrné cele tak dojde ke změně výstupního signálu detektoru. Důležitou roli hraje neměnná teplota při analýze. [26].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Síra krystalická, PARAMO, a.s. Pardubice
- Síra srážená, Lachema, s. p. Brno, závod Neratovice
- Síran sodný bezvodý p.a., Lach-Ner, s.r.o. Neratovice
- Uhličitan sodný bezvodý Suprapur, Merck KGaA, Germany
- Hydrogenuhlíčan sodný p.a., Merck KGaA, Germany
- Chlorid draselný p.a., Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- PENTANAL pufr ftalátový pH4, Penta, s.r.o, ČR
- PENTANAL pufr fosfátový pH7, Penta, s.r.o, ČR
- PENTANAL pufr borátový pH9, Penta, s.r.o, ČR
- Hydroxid sodný p.a., Penta, s.r.o, ČR
- Kyselina chlorovodíková 35% p.a., Penta, s.r.o, ČR
- Chlorid železitý, Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- Chlorid železnatý tetrahydrát, Fluka Chemie AG, Switzerland
- Dusičnan amonný, Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- Močovina, Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- DTPA, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany
- Triethanolamin, Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- Chlorid vápenatý dihydrát, Lachema, s.p. Brno, závod Neratovice
- Standardní roztok železa 1000mg/l, Merck KGaA, Germany
- Acetylen, vzduch, Linde Gas, a.s. Praha

3.2 Použité přístroje a zařízení

- Laboratorní analytické váhy ABJ 120-4M, Kern & Sohn GmbH, Germany
- Laboratorní analytické váhy Adventurer Pro AV 264C, Ohaus Corporation, USA
- pH metr pHi 04, Labio a.s., ČR
- Iontový chromatograf (čerpadlo LC-10AD, vodivostní detektor CDD-6A), SHIMADZU, Japonsko
- Nástříkové zařízení 9010, Rheodyne, USA
- Termostat kolony CTO-10A, SHIMADZU, Japonsko
- Autosupresor Eris 1000HP, Alltech Associates, USA
- Kolona Separon HEMA-S 1000 Q-L, 10 μ m, 150x3mm, Tessek, s.r.o.ČR
- Injekční stříkačka plastová 2 ml
- Chromatografická stanice Clarity, DataApex, spol. s.r.o., ČR
- Sušárna UNB 400, MEMMERT, Germany
- Membránové filtry Porafil 0,45 μ m, 50 mm, Macherey-Nagel, Germany
- Membránové filtry Synpor 0,40 μ m, 60 mm, Barvy a laky, s.p. Praha
- Filtrační teflonové vakuové nálevky pro filtry o průměru 50 mm
- Klimatizační skříň KPK 400 V, VEB Neutron Greiz, Germany
- Laboratorní termostat ST3+/70, POL-EKO APARATURA, Polsko
- Sítovací stroj NTS1,VIPO, ČR
- Síto o velikosti ok 2 mm, Stavební strojírenství n.p. Brno, závod Ivančice
- Třepačka laboratorní LT 2, Sklárný Kavaliér a.s., ČR
- Míchačka překlenná Reax 2, Heidolph, Germany
- Atomový absorpční spektrofotometr AA Elite 906, GBC, Austrálie
- Teploměr VWR, EU 620-2133
- Exsikátor SIMAX, ČR
- Běžné laboratorní nádoby

3.3 Pracovní postupy

3.3.1 Měření na iontovém chromatografu

Pro měření obsahu síranů v půdních výluzech byla zvolena metoda iontové chromatografie s vodivostní detekcí. K měření byla použita kolona HEMA-S 1000 Q-L 10 μ m, 150x3 mm, temperovaná na 30°C a iontový chromatograf s vodivostní detekcí a potlačenou vodivostí eluentu. Vodný roztok směsi uhličitanu a hydrogenuhličitanu sodného v poměru 8 mmol/l Na₂CO₃ ku 8 mmol/l NaHCO₃ byl vybrán jako mobilní fáze. Uvedené složení eluentu bylo zvoleno jako nejvhodnější na základě předběžných experimentů, při nichž byly obměňovány poměry i koncentrace jeho složek. Mobilní fáze byla připravena navážením 0,4240 g Na₂CO₃ a 0,3360 g NaHCO₃, rozpuštěním v demineralizované vodě a doplněním na 500 ml. Dále byla převedena do zásobní lahve z tmavého skla, ze které byla čerpána do přístroje. Objem nástřikové smyčky činil 20 μ l a průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,5 ml/min. Dvě iontově výměnné kolony autosupresoru se automaticky přepínaly po 20 minutách, vždy po ukončené regeneraci jedné z nich. Regenerace byla uskutečněna prostřednictvím vodíkových kationtů, které byly produkovány elektrochemickým rozkladem eluátu přiváděného z cely detektoru. Jeho citlivost byla nastavena na hodnotu 0,1 μ S.

Před zapnutím čerpadla přístroje byl uvolněn průtok vody hadičkou, která ji přiváděla na písky čerpadla, které tak byly během jeho chodu nepřetržitě oplachovány. Po zapnutí chromatografu, detektoru a termostatu kolony následovalo spuštění čerpadla mobilní fáze na kolonu a zapnutí autosupresoru. Déle než 1 hodinu probíhalo ustalování nulové linie. Poté bylo zahájeno vlastní měření.

Do plastové injekční stříkačky byly nataženy 1 až 2 ml analyzovaného vzorku, který byl poté vtlačen do nástřikové smyčky dávkovacího zařízení. Otočením ventilu byl nástřík vyplaven do kolony a zároveň byl automaticky spuštěn záznam signálu detektoru na chromatografické stanici. Nástřík byl proveden asi 3 minuty po výměně pracovní a regenerované kolony autosupresoru. Měření bylo manuálně ukončeno v době, kdy se na chromatogramu mohl bezpečně identifikovat konec síranového píku a zároveň před další výměnou supresorových kolonek. Nástřikový ventil byl opět uveden do polohy, umožňující vnesení vzorku do nástřikové smyčky a tím byl přístroj připraven k dalšímu měření. Ze záznamu chromatogramu pak byla odečtena plocha pod křivkou síranového píku. Pro citlivost

0,1 μS byla za stejných podmínek proměřena a vyhodnocena kalibrační řada od $1 \cdot 10^{-3}$ mol/l do $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l Na_2SO_4 .

Po ukončení série měření byla aparatura postupně vypnuta v následujícím pořadí: vypnutí autosupresoru, zastavení čerpání mobilní fáze, vypnutí řídicí jednotky chromatografu, detektoru a termostatu. Nakonec byla propláchnuta nástřiková smyčka demineralizovanou vodou a byl zastaven průtok vody oplachující píсты pumpy.

3.3.2 Odběr a úprava vzorků půdy pro inkubační testy

Půda použitá pro experiment byla odebrána z pozemku trvale využívaného pro pěstování brambor či česneku. Z pole o výměře 4000 m^2 byly odebrány dílčí vzorky. Jednotlivé odběry byly provedeny z vrchních 20 cm půdního profilu a následně byly důkladně homogenizovány. Výsledný reprezentativní vzorek byl zbaven hrubých částí a vysušen na vzduchu. Poté byla zemina vsypána na síto o velikosti ok 2 mm a na síťovacím stroji 10 minut prosévána. Postup úpravy vzorku byl v souladu s normou ISO 11464, Kvalita půdy - Příprava vzorků pro fyzikálně-chemické rozbory [22]. Výsledný vzorek (asi 3000 g) byl uchováván v polyetylenovém uzavíratelném pytli v suchu a temnu.

3.3.3 Stanovení půdních charakteristik

Obsah železa

Vzorky půdy upravené podle kapitoly 3.3.2 byly extrahovány roztokem DTPA-TEA podle Lindsaye a Norvella, v poměru půda : extrakční roztok = 1 : 2. Postup přípravy extrakčního činidla vychází z normy ISO 14 870 a je popsán v literatuře [27]. Do 100 ml polyetylenových nádobek bylo naváženo 10 g vzorku a přidáno 20 ml extrahovadla. Na rotační třepačce byla suspenze 120 minut vyluhována při 20°C. Po ukončení extrakce byla suspenze filtrována přes membránový filtr o velikosti pórů 0,45 μm . Vzniklý filtrát byl připraven k analýze.

Obsah železa v získaných vyluzích byl stanoven metodou plamenové atomové absorpční spektrofotometrie při vlnové délce 372 nm. Analýze půdních vzorků předcházelo proměření kalibrační řady, připravené ze zásobního standardního roztoku železa o koncentraci 1000 mg/l. Obsah železa byl vypočítán metodou kalibrační přímky.

Půdní pH

Hodnota půdní reakce byla proměřena pH metrem se skleněnou elektrodou ve dvou druzích půdního výluhu: ve vodném výluhu a v roztoku 1 mol/l KCl. Odměření 10 ml zeminy a přidáním 50 ml extrahovačla do 100 ml Erlenmayerových baněk byly připraveny výluhy v souladu s normou ISO 10 390. Vzniklé suspenze byly jednu hodinu extrahovány na horizontální třepačce, hodinu se nechaly stát, poté byly promíchány a jejich pH bylo měřeno na pH metru tak, jak je popsáno v literatuře [22]. Měření předcházela kalibrace přístroje tlumivými roztoky o hodnotách pH = 3, 7 a 9. Mezi jednotlivými stanoveními byla skleněná elektroda oplachována demineralizovanou vodou. Po ustálení byly hodnoty pH odečteny s přesností na jedno desetinné místo.

Obsah vody

Vlhkost půdních vzorků upravených podle kapitoly 3.3.2 byla stanovena gravimetricky podle postupu převzatého z literatury [22], který odpovídá normě ISO 11 465. Na analytických vahách byl navážen vzorek půdy o hmotnosti 10-15 g s přesností na čtyři desetinná místa a ve vytemperované sušárně byl sušen při 105°C do konstantní hmotnosti. Po ukončení sušení byl vzorek vložen do exsikátoru, kde vychladl, a znovu byl zvážen. Vlhkost byla zjištěna z úbytku hmotnosti vzorku po jeho vysušení a byla vyjádřena v procentech.

Další charakteristiky půdy

Následující parametry půdy použité k inkubačním experimentům byly zjištěny v diplomové práci Jakuba Mitáše [29].

- Obsah organické hmoty byl stanoven metodou ztráty žíháním, popsanou v literatuře [28].
- Obsah vodorozpustné síry byl stanoven, ve vodném výluhu metodou iontové chromatografie s vodivostní detekcí.
- Obsahy celkového dusíku a fosforu byly stanoveny fotometricky po předchozí mineralizaci dle Kjeldahla s využitím selenu jako katalyzátoru [28].
- Obsah uhličitánů byl stanoven gravimetricky rozkladem kyselinou chlorovodíkovou [22].
- Obsah vápníku ve výluhu půdy 2 mol/l kyselinou dusičnou byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie [27].
- Vodivost půdního výluhu byla stanovena podle postupu uvedeného v literatuře [22].
- Byla stanovena sypná hmotnost zeminy.

- Bylo provedeno měření plné vodní kapacity a maximální kapilární kapacity.
- Zrnitostní složení použité jemnozeme I a obsah jíloviny byly stanoveny podle literatury [29].

3.3.4 Extrakce síranů z půdy

Extrakce síranů z půdy byla prováděna v kónických baňkách, jako extrahovadlo byla zvolena voda přidávaná k půdě v poměru 5 : 1, čili 50 ml vody na 10 g suché půdy.

Do 100 ml Erlenmayerových baněk bylo naváženo 10,2 g analyzované půdy, k tomu pipetou odměřeno 50 ml demineralizované vody, hrdlo baňky bylo uzavřeno plastovou zátkou a obsah baňky byl promíchán. Baňky byly uchyceny na horizontální třepače (viz Obrázek 15), kde byly extrahovány po dobu 18 hodin při zhruba 120 kyvech za minutu a amplitudě 5 cm.



Obrázek 15: Extrakce síranů z půdy na horizontální třepače.

3.3.5 Frakcionace elementární síry

Krystalická síra byla rozdrcena tloučkem v třecí misce a vysypána na soustavu sít o velikosti ok 56 a 63 mikrometrů umístěných na síťovací stroji. Prosévání probíhalo 5 minut. Jednotlivé frakce síry byly uchovávány v uzavíratelných polyetylenových sáčcích.

3.3.6 Stanovení počtu bakterií v půdě

V Mikrobiologickém ústavu Akademie věd České republiky v.v.i. (MBÚ) v Praze bylo provedeno stanovení počtu bakterií v inkubovaných půdních vzorcích a stanovena suchá hmotnost zeminy.

Do 500 ml kultivační baňky bylo předloženo 100 ml sterilního fyziologického roztoku, (8 g NaCl v 1 litru destilované vody) a vneseny 3 g zeminy. Po 1 h vytřepávání na rotačním třepacím stroji byl výluh naředěn sterilním fyziologickým roztokem tak, aby po výsevu na misky s LB agarem byly kolonie bakterií odečitatelné. Na LB misku bylo vyseto 0,1 ml výluhu, rozetřeno hokejkou a inkubováno 72 h při 28 °C. Po-té byly kolonie spočítány a současně byla stanovena suchá hmotnost zeminy. Počty bakterií jsou uváděny v KTJ/1g_{s.h.} zeminy (= kolonie tvořící jednotky v jednom gramu suché hmotnosti zeminy) [30].

3.3.7 Inkubační testy

Inkubované vzorky půdy byly připravovány navážením 10,2 g půdy, upravené podle kapitoly 3.3.2 do kónických baněk o objemu 100 ml. Podle potřeby byly přidávány další složky: elementární síra, demineralizovaná voda pro zvlhčení půdy, roztok obsahující živiny Fe a N, nebo roztok HCl či NaOH o určité koncentraci. Erlenmayerovy baňky byly překryty hliníkovou fólií, zváženy a umístěny do klimatizační skříně při teplotě 25°C. V průběhu inkubace docházelo k odparu vody ze vzorků, proto byla jejich vlhkost jednou týdně kontrolována vážením a udržována přidávkou demineralizované vody tak, aby se pohybovala kolem požadované hodnoty plné vodní kapacity půdy.

3.3.7.1 Stanovení vlivu půdní vlhkosti na rychlost oxidace elementární síry

Bylo stanoveno množství zoxidované síry na sírany v půdních vzorcích při pěti různých hodnotách vlhkosti zeminy (2%, 25%, 50%, 75% a 100% plné vodní kapacity). Vzorky byly analyzovány vždy po týdnu inkubace po dobu pěti týdnů. Pro každou inkubační dobu byl experiment prováděn paralelně se dvěma vzorky.

Do 100 ml kónických baněk bylo naváženo $10,2 \pm 0,001$ g jemnozeme, byly přidány 4 mg elementární síry velikostní frakce 56-63 μm . Půda se sírou byla opatrně promísena tak, aby nedocházelo k jejímu ulpívání na stěnách baňky a síra byla v půdě rovnoměrně rozptýlena. Každý vzorek byl rovnoměrně ovlhčen tak, aby dosahoval předem určené hodnoty

vlhkosti. Z Tabulky 4 je patrné, jaké množství přidané demineralizované vody do vzorku odpovídalo požadované vlhkosti.

Tabulka 4: Přídavek vody odpovídající zvolené vlhkosti půdy.

% plné vodní kapacity	2	25	50	75	100
Množství demineralizované vody (ml)	0	1,2	2,4	3,6	4,7

Baňky byly překryty hliníkovou fólií 10x10 cm a dobře utěsněny okolo hrdla. Vzorek připravený k inkubaci je znázorněn na Obrázku 16.

Pro každou vlhkost půdy bylo nasazeno 12 vzorků (tj. 6 inkubačních časů po 2 vzorcích). Každá série vzorků obsahovala 5 různých vlhkostí. První série vzorků byla analyzována ihned po nasazení, poslední pak za 5 týdnů. Vzhledem k časové náročnosti byly u tohoto experimentu stanoveny vždy pouze dva paralelní vzorky. Celkově bylo proměřeno 60 vzorků.

Extrakce vodorozpustné (síranové) síry po ukončení inkubace byla provedena postupem popsaným v kap. 3.3.4 s demineralizovanou vodou jako extrahovadlem. Hmotnostní poměr půda : voda byl 1 : 5. Suspenze byla zfiltrována na teflonových odsávacích filtračních nálevkách o průměru 50 mm, přes membránové filtry Porafil s velikostí pórů 0,45 μm nebo Synpor 0,40 μm . Filtrační nálevky byly připojeny k vodní vývěvě a filtrát odtékal do nasazených 100 ml odměrných baněk. Po promytí filtru se zeminou destilovanou vodou byl objem filtrátu doplněn na 100 ml a extrakt analyzován na iontovém chromatografu.



Obrázek 16: Vzorek půdy připravený k inkubaci.

3.3.7.2 Stanovení vlivu půdní reakce na rychlost oxidace elementární síry

Bylo stanoveno množství zoxidované síry na sírany v půdních vzorcích při pěti různých hodnotách půdní reakce. Vzorky byly analyzovány vždy po týdnu inkubace po dobu čtyř týdnů. Každé měření bylo prováděno paralelně na dvou vzorcích.

Do 100 ml kónických baněk bylo naváženo $10,2 \pm 0,001$ g jemnozeme, byly přidány 4 mg elementární síry velikostní frakce 56-63 μm , slepé vzorky síru neobsahovaly. Půda se sírou byla opatrně promísena tak, aby nedocházelo k jejímu ulpívání na stěnách baňky a síra byla v půdě rovnoměrně rozptýlena. Vzorky byly rovnoměrně ovlhčeny 3,5 ml roztoku o pěti různých hodnotách pH (0,6; 1,6; 9,5; 11,0; 12,4). Tyto roztoky byly připraveny pomocí kyseliny chlorovodíkové, hydroxidu sodného a demineralizované vody. Ke srovnávacím vzorkům půdy obsahujícím síru a ke slepým vzorkům (bez síry) bylo přidáno 3,5 ml demineralizované vody bez úpravy pH (pH = 6,1), což odpovídá 75% plné vodní kapacity půdy. Baňky byly překryty hliníkovou fólií 10x10 cm a dobře utěsněny okolo hrdla.

Pro každou hodnotu pH bylo nasazeno 10 vzorků (tj. 5 inkubačních časů po 2 vzorcích). Každá série vzorků obsahovala 5 různých hodnot pH, srovnávací vzorek obsahující síru ovlhčený vodou bez úpravy pH a slepý vzorek. První série vzorků byla analyzována ihned po nasazení, poslední pak za 4 týdny. Z časových důvodů byly stanoveny vždy pouze dva paralelní vzorky. Celkově bylo proměřeno 70 vzorků.

Extrakce vodorozpustné (síranové) síry po ukončení inkubace byla provedena postupem popsaným v kap. 3.3.4 a výluh zpracován dle kap. 3.3.7.1. Naředěný extrakt o objemu 100 ml byl analyzován na iontovém chromatografu a bylo změřeno jeho pH.

3.3.7.3 Stanovení výměnné půdní reakce inkubovaných vzorků půdy

Se vzorky půdy, jejíž půdní reakce byla upravena přidávkou roztoků HCl a NaOH a u nichž byl stanovován obsah síranů (viz kap. 3.3.7.2) bylo současně inkubováno dalších 35 vzorků půdy připravených stejným způsobem, tj. 5 s upravenou půdní reakcí, vzorek se sírou a bez ní (oba vlhčené vodou bez úpravy pH), u nichž byla měřena tzv. výměnná půdní reakce.

Inkubace probíhala rovněž po dobu čtyř týdnů. Jako extrahovadlo byl použit roztok 1 mol/l KCl v poměru půda : extrakční roztok = 1 : 5. Suspenze byly jednu hodinu extrahovány na horizontální třepače a hodinu se nechaly stát. Poté byly promíchány a jejich pH bylo měřeno na pH metru tak, jako je popsáno v kapitole 3.3.3.

3.3.7.4 Stanovení vlivu železa na rychlost oxidace elementární síry

Bylo stanoveno množství zoxidované elementární síry na sírany při různém obsahu železa v půdě. Vzorky byly analyzovány vždy po týdnu inkubace po dobu čtyř týdnů. Každé měření bylo prováděno paralelně na dvou vzorcích půdy.

Do 100 ml kónických baněk bylo naváženo $10,2 \pm 0,001$ g jemnozeme, byly přidány 4 mg elementární síry velikostní frakce 56-63 μm , slepé vzorky síru neobsahovaly. Půda se sírou byla opatrně promísena tak, aby nedocházelo k jejímu ulpívání na stěnách baňky a byla v půdě rovnoměrně rozptýlena. Vzorky byly ovlhčeny 1 ml roztoku, který obsahoval požadované množství železa, a 2,5 ml demineralizované vody. Ke srovnávacím vzorkům obsahujícím síru bez přídavku roztoku železa, a ke slepým vzorkům (bez síry) bylo přidáno 3,5 ml demineralizované vody, což odpovídá 75% plné vodní kapacity půdy. Baňky byly překryty hliníkovou fólií 10x10 cm a dobře utěsněny okolo hrdla.

Obsah železa v půdě byl stanoven metodou atomové absorpční spektrometrie ve výluhu půdy extrakčním roztokem DTPA-TEA, postupem popsáním v kapitole 3.3.3. Vzhledem k původnímu množství železa v zemině byly určeny tři přídavky solí železa, které způsobily zvýšení koncentrace tohoto prvku ve vzorku na konečné hodnoty 100, 150 a 200 mg Fe/kg půdy. Do půdy bylo železo vnášeno ve formě $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a FeCl_3 v demineralizované vodě.

Pro každou koncentraci železa v půdě bylo nasazeno 20 vzorků (tj. 5 inkubačních časů po 2 vzorcích s přídavkem Fe^{2+} a 2 vzorcích dopovaných Fe^{3+}). Každá série vzorků obsahovala tři různé koncentrace dvojmocného železa a tři koncentrace železa trojmocného, dále srovnávací vzorek (obsahující síru, bez přídavku roztoku železa) a slepý vzorek (bez síry). První série vzorků byla analyzována ihned po nasazení, poslední pak za 4 týdny. Z časových důvodů byly nasazovány a měřeny pouze dva paralelní vzorky. Celkově bylo v těchto experimentech proměřeno 80 vzorků.

Extrakce vodorozpustné (síranové) síry po ukončení inkubace byla provedena postupem popsáním v kap. 3.3.4 a extrakt zpracován jak je uvedeno v kap. 3.3.7.1. Každý naředěný filtrát o objemu 100 ml byl analyzován na iontovém chromatografu a bylo změřeno jeho pH.

3.3.7.5 Stanovení vlivu dusíku na rychlost oxidace elementární síry

Bylo stanoveno množství zoxidované elementární síry na sírany při různém obsahu dusíku v půdě. Vzorky byly analyzovány vždy po týdnu inkubace po dobu čtyř týdnů. Každé měření bylo prováděno paralelně na dvou vzorcích půdy.

Do 100 ml kónických baněk bylo naváženo $10,2 \pm 0,001$ g jemnozeme, byly přidány 4 mg elementární síry velikostní frakce 56-63 μm , slepé vzorky síru neobsahovaly. Půda se sírou byla opatrně promísena tak, aby nedocházelo k jejímu ulpívání na stěnách baňky a byla v půdě rovnoměrně rozptýlena. Vzorky byly ovlhčeny 1 ml roztoku, který obsahoval požadované množství dusíku, a 2,5 ml demineralizované vody. Ke srovnávacím vzorkům obsahujícím síru, bez přídavku dusíku, a ke slepým vzorkům bylo přidáno 3,5 ml demineralizované vody, což odpovídá 75% plné vodní kapacity půdy. Baňky byly překryty hliníkovou fólií 10x10 cm a dobře utěsněny okolo hrdla.

Vzhledem k původnímu množství dusíku v zemině byly určeny čtyři přídavky, které způsobily zvýšení koncentrace dusíku ve vzorku na konečné hodnoty 1000, 1190, 1440 a 1940 mg N/kg půdy. Dusík byl do půdy vnášen ve dvou formách: buď jako dusičnanový+ amoniakální (roztok dusičnanu amonného) nebo amidický (roztok močoviny).

Pro každou koncentraci dusíku v půdě bylo nasazeno 20 vzorků (tj. 5 inkubačních časů po 2 vzorcích dusičnanového/amoniakálního a po 2 vzorcích močovinného dusíku). Každá série vzorků obsahovala čtyři různé každé z forem dusíku, dále srovnávací vzorek (obsahující síru, bez přídavku dusíku) a slepý vzorek. První série vzorků byla analyzována ihned po nasazení, poslední pak za 4 týdny. Z časových důvodů byly nasazovány pouze dva paralelní vzorky. Celkově bylo proměřeno 100 vzorků.

Extrakce vodorozpustné (síranové) síry po ukončení inkubace byla provedena postupem popsáním v kap. 3.3.4 a výluh zpracován podle kap. 3.3.7.1.

U všech analyzovaných vzorků byla změřena hodnota pH vodného výluhu po jeho doplnění na objem 100 ml. Jeden vodný výluh každého vzorku tak posloužil jak ke chromatografickému stanovení síranů, tak i pro určení jeho pH.

3.3.7.6 Stanovení vlivu půdních podmínek na četnost mikrobiální populace v půdě

Popis přípravy a inkubace vzorků, u kterých byla stanovena četnost mikrobiální populace, je uveden v kapitolách 3.3.7.2, 3.3.7.4 a 3.3.7.5.

35 vzorků bylo připraveno a inkubováno současně s experimenty, při nichž byl studován vliv půdní reakce na rychlost oxidace elementární síry. Vzorky byly připraveny identickým postupem, jaký je popsán v kap. 3.3.7.2. Jedna série obsahovala pět vzorků půdy se sírou ovlhčených roztokem HCl nebo NaOH o různém pH, srovnávací vzorek obsahující síru a demineralizovanou vodu a slepý vzorek (pouze půda ovlhčená vodou). První série vzorků byla zpracována ihned po nasazení, další čtyři pak v týdenních intervalech.

40 vzorků bylo připraveno a inkubováno současně s experimenty, při nichž byl studován vliv obsahu železa na rychlost oxidace elementární síry. Vzorky byly připraveny identicky, jak popisuje kapitola 3.3.7.4. Jedna série obsahovala šest vzorků vlhčených roztoky o třech různých koncentracích železa přítomného v oxidačním stavu Fe^{2+} nebo Fe^{3+} , srovnávací vzorek se sírou a demineralizovanou vodou a slepý vzorek. První série vzorků byla zpracována ihned po nasazení, další čtyři pak v týdenních intervalech.

50 vzorků bylo připraveno a inkubováno současně s experimenty, jejichž cílem bylo stanovení vlivu půdního dusíku na rychlost oxidace elementární síry. Vzorky byly připraveny stejně, jako je popsáno v kap. 3.3.7.5. Jedna série obsahovala osm vzorků ovlhčených roztoky o čtyřech různých koncentracích dusíku, který byl přítomen ve formě dusičnanu amonného nebo močoviny, srovnávací vzorek obsahující síru a demineralizovanou vodu a slepý vzorek bez síry. První série vzorků byla zpracována ihned po nasazení, další čtyři pak v týdenních intervalech.

Ihned po inkubaci byly všechny výše uvedené půdní vzorky odesílány v uzavíratelných polyetylenových sáčcích do Mikrobiologického ústavu AV ČR, kde byly analyzovány postupem popsaným v kap. 3.3.6.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Vliv studovaných půdních faktorů na rychlost oxidace elementární síry

Na oxidaci elementární síry v půdě má vliv nespočet faktorů. Do jaké míry ovlivňují proces oxidace síry vlhkost půdy, půdní reakce, množství železa a dusíku ve vzorku, bylo vyhodnoceno po stanovení koncentrace vodorozpustné síry v inkubovaných vzorcích půdy metodou iontové chromatografie.

4.1.1 Vliv půdní vlhkosti

Mikroorganismy oxidující elementární síru v půdě jsou převážně aerobní bakterie, jejichž aktivita klesá se snižujícím se obsahem kyslíku v půdě vlivem zamokření. Lze předpokládat, že ke vzrůstu oxidační aktivity nebude docházet ani ve velmi suché půdě. Cílem tohoto experimentu bylo ověřit, do jaké míry může půdní vlhkost ovlivnit rychlost oxidace elementární síry při zvolených podmínkách a na základě získaných výsledků vybrat vhodnou vlhkost půdy pro experimenty, které měly studovat vliv dalších faktorů na rychlost oxidace.

V diplomové práci Jakuba Mitáše [29] byla stanovena hodnota plné vodní kapacity používané půdy, ze které se vycházelo při nastavení a udržování vlhkosti inkubovaných vzorků. Popis pracovního postupu je uveden v kap. 3.3.7.1. Inkubace půdních vzorků v kónických baňkách překrytých hliníkovou fólií probíhala v klimatizační komoře při $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

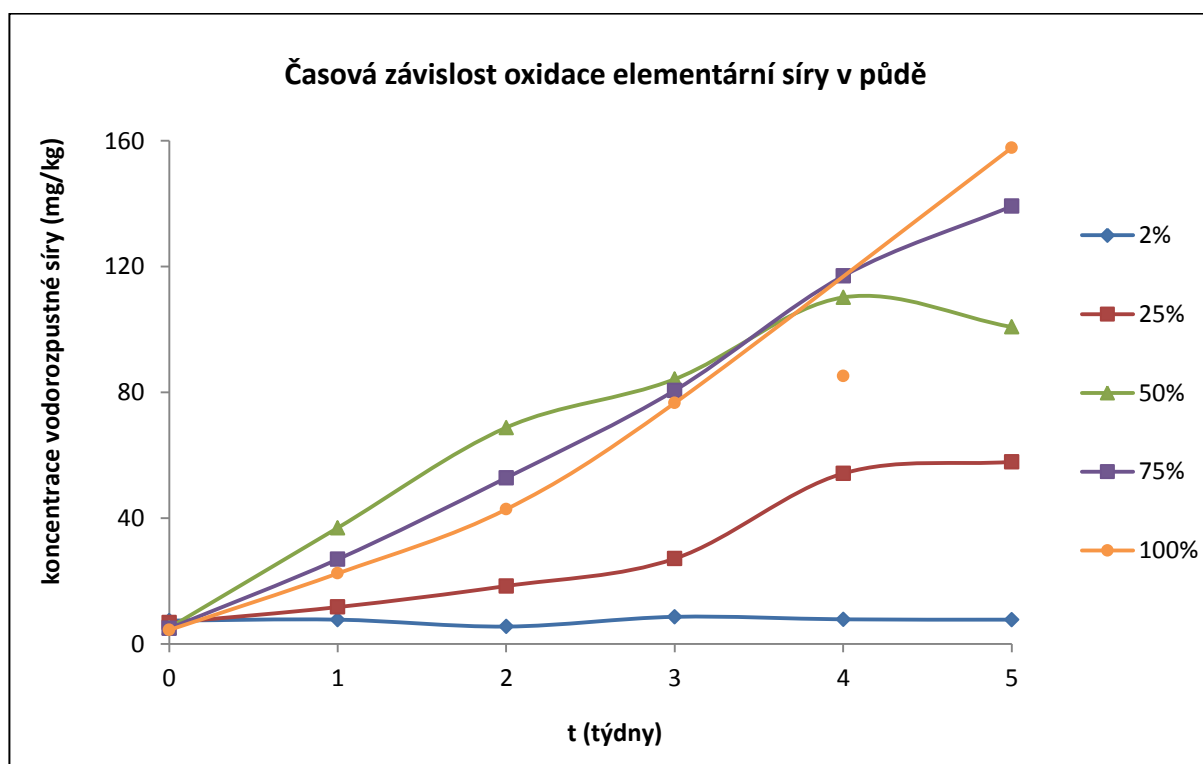
Bylo nasazeno 6 sérií půdních vzorků, přičemž každá obsahovala 10 vzorků o pěti různých vlhkostech, které byly zpracovány podle kap. 3.3.7.1 a v každém vzorku byl stanoven obsah síranů iontovou chromatografií (viz kap. 3.3.1).

Obsah síranů ve vzorcích půdy dotované elementární sírou se s dobou inkubace zvyšuje. Po prvním týdnu inkubace nejvýrazněji vzrostlo množství síranů ve vzorcích vlhčených 2,4 ml demineralizované vody, což odpovídá hodnotě 50% plné vodní kapacity analyzované půdy (viz Tabulka 5 a Obrázek 17). U vzorků s vlhkostí 75% a 100% plné vodní kapacity půdy je sice patrný pomalejší nárůst obsahu síranů, po pátém týdnu inkubace už ale vykazují mnohem větší obsah síranů než vzorky vlhčené na 50% plné vodní kapacity půdy. Vlhkost 25% plné vodní kapacity odpovídá přidavku 1,2 ml demineralizované vody do půdních vzorků. Nárůst obsahu síranů u těchto vzorků je v porovnání s vlhčími velmi pomalý a na

konci experimentu vykazují téměř poloviční hodnoty množství síranů. Vzorčky půdy nevlhčené, podle gravimetrického měření (viz kap. 3.3.3) obsahující asi 2% vody, se za 5 týdnů inkubace v obsahu síranů téměř neodlišují od hodnot v nultém týdnu, oxidace prakticky neprobíhala. Koncentrace síranů, přepočtené na obsah vodorozpustné síry v půdě v mg/kg, jsou pro jednotlivé vlhkosti a doby inkubace zaznamenány v Tabulce 5 a graficky znázorněny na Obrázku 17.

Tabulka 5: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na době inkubace

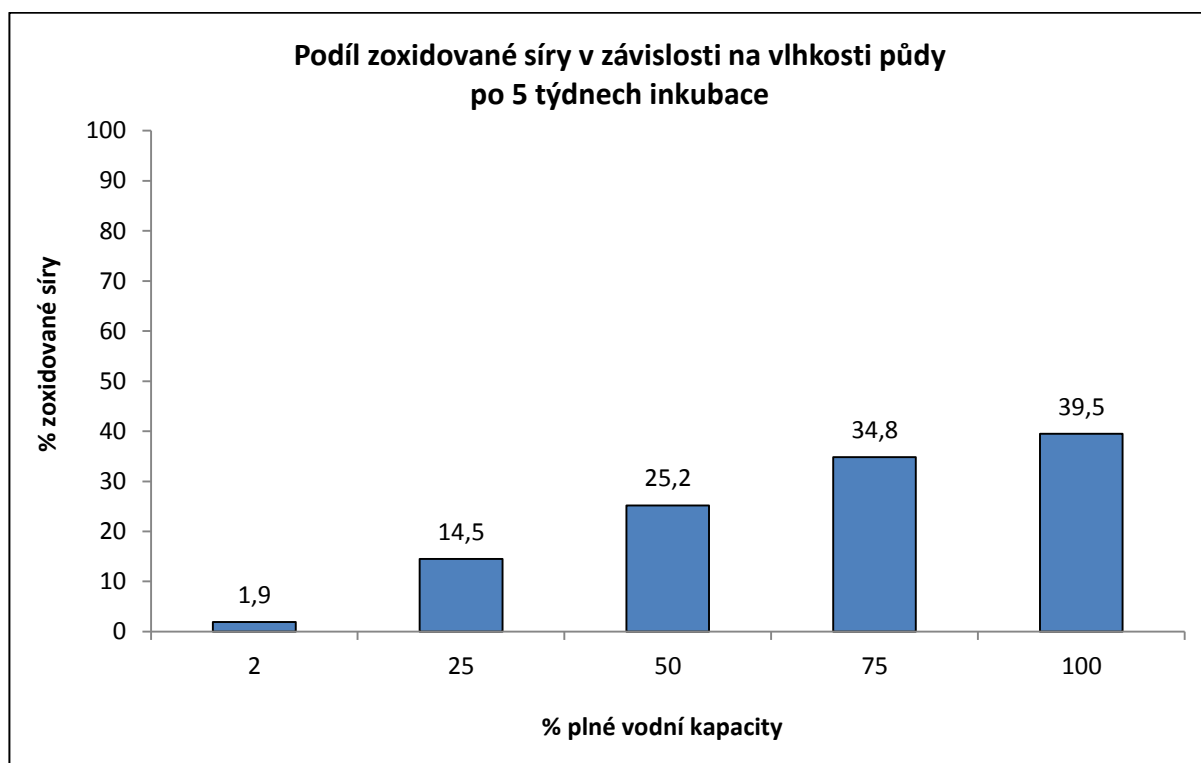
% plné vodní kapacity	Týdny inkubace/Koncentrace vodorozpustné síry (mg/kg)					
	0	1	2	3	4	5
2	7,4	7,7	5,5	8,6	7,8	7,7
25	6,7	11,7	18,4	27,1	54,2	57,9
50	5,1	36,9	68,8	84,2	110,2	100,8
75	4,9	26,9	52,8	80,6	117,0	139,2
100	4,4	22,4	42,8	76,6	85,1	157,8



Obrázek 17: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na době inkubace a půdní vlhkosti.

Inkubované vzorky byly dotovány elementární sírou v množství 400 mg/kg půdy. Z uvedených výsledků vyplývá, že ve vzorcích s vlhkostí 100% plné vodní kapacity půdy se během 5 týdnů inkubace zoxidovalo 157,8 mg síry na kilogram půdy, což odpovídá 39,5% přidané síry. U vzorků s vlhkostí 75% a 50% plné vodní kapacity je nárůst vodorozpustné síry roven 139,2 mg/kg a 100,8 mg/kg, což představuje 34,8% a 25,2% přidané síry. Vzorky půdy ovlhčené na 25% plné vodní kapacity vykazují za pět týdnů inkubace oxidaci pouze z 14,5% (57,9 mg/kg). Vzorky nevlhčené mají téměř nulový nárůst obsahu síranů a po pětítýdenní inkubaci se oxidují pouze z 1,9% (7,7 mg/kg). Při výpočtu zoxidovaného podílu elementární síry byl uvažován obsah vodorozpustné síry v původním vzorku půdy 6,5 mg/kg. Zoxidované podíly elementární síry v inkubovaných vzorcích jsou graficky znázorněny na Obrázku 18.

Je zřejmé, že pro rychlou dosažitelnost síry rostlinami v půdě má význam vlhkost pohybující se kolem 75% plné vodní kapacity půdy, při které je elementární síra z významné části zoxidována už během několika týdnů. Pro další pokusy byla zvolena vlhkost 75% plné vodní kapacity půdy, a to nejen z důvodu rychlé oxidace síry v půdě během prvních pěti týdnů ale také kvůli dostatečnému objemu (3,6 ml) přidávané vody do vzorků, který zajistí rovnoměrné ovlhčení inkubovaných vzorků.



Obrázek 18: Podíl zoxidované síry v půdě v závislosti na půdní vlhkosti po pěti týdnech inkubace.

4.1.2 Vliv půdní reakce

Je známo, že mikrobiální oxidace elementární síry v půdě probíhá v širokém intervalu hodnot půdní reakce. Do jaké míry může ovlivnit půdní pH rychlost oxidace síry při zvolených podmínkách, bylo předmětem níže vyhodnocených inkubačních testů.

Postup přípravy a zpracování inkubovaných vzorků je popsán v kap. 3.3.7.2. Vzorky byly vlhčeny na 75% plné vodní kapacity použité půdy, což odpovídá 3,6 ml přidávaného roztoku o zvoleném pH.

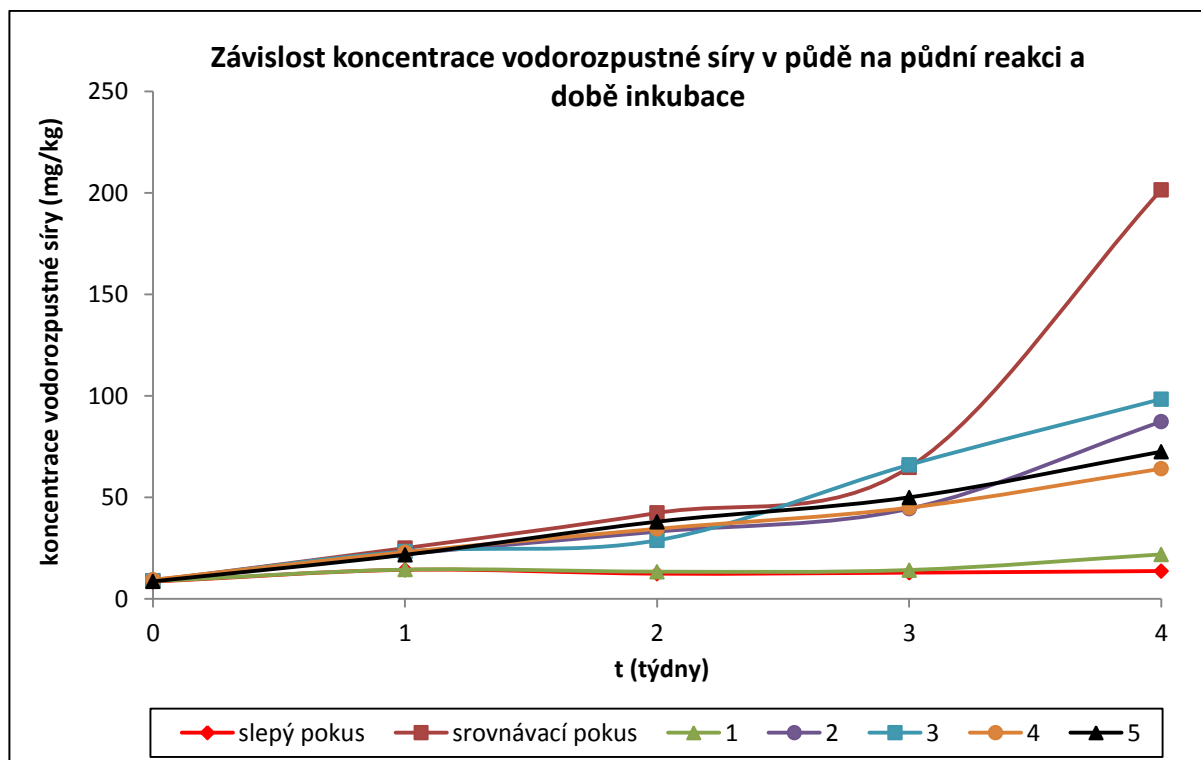
Bylo nasazeno 5 sérií půdních vzorků, přičemž každá obsahovala vzorky ovlhčené pěti roztoky o různém pH (roztoky HCl nebo NaOH), srovnávací vzorek dotovaný sírou a slepý vzorek bez síry ovlhčené demineralizovanou vodou o pH = 6,1 (viz Tabulka 6). Po týdenních intervalech byl ve vzorcích dané série stanoven obsah síranů postupem dle kapitoly 3.3.7.2. Současně byla na paralelní sérii vzorků v týdenních intervalech měřena hodnota půdní reakce, a to ve výluhu čistou vodou (aktivní půdní reakce, pH/H₂O) viz kap. 3.3.7.2 a v extraktu roztokem 1M KCl (výměnná půdní reakce, pH/KCl) – viz kap. 3.3.7.3.

Tabulka 6: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na pH zvlhčovacího roztoku a době inkubace.

Inkubované vzorky	pH přidávaného roztoku	Týdny inkubace/Koncentrace vodorozpustné síry (mg/kg)				
		0	1	2	3	4
slepý pokus	6,1	8,5	14,3	12,4	12,9	13,7
srovnávací pokus	6,1	9,0	25,0	42,3	64,8	201,5
1	0,6	8,7	14,4	13,4	14,2	21,9
2	1,6	9,3	22,0	33,1	44,4	87,3
3	9,5	9,0	23,3	28,8	66,0	98,4
4	11,0	9,4	23,0	34,5	44,9	64,1
5	12,4	8,6	21,7	38,0	50,0	72,5

Z Tabulky 6 a Obrázku 19 je zřejmé, že se obsah síranů ve vzorcích půdy dotované elementární sírou s dobou inkubace zvyšuje, pouze vzorek 1 s přidavkem velmi kyselého roztoku o pH = 0,6 téměř kopíruje hodnoty slepého vzorku bez síry, oxidace síry za těchto podmínek velmi kyselé půdní reakce (viz Tabulka 7) prakticky neprobíhá. Během prvních tří týdnů inkubace je nárůst obsahu síranů u vzorků č. 2-5 i vzorku srovnávacího podobný. Po čtvrtém týdnu inkubace nejvýrazněji vzrostlo množství vodorozpustné síry ve srovnávacím vzorku (přídavek vody o pH = 6,1), vzorku 3 (přídavek roztoku o pH = 9,5) a vzorku 2 (přídavek roztoku o pH = 1,6). Koncentrace síranů, přepočtená na obsah vodorozpustné síry v půdě v mg/kg, je pro vybrané hodnoty půdní reakce ve vzorcích a doby inkubace vypsána

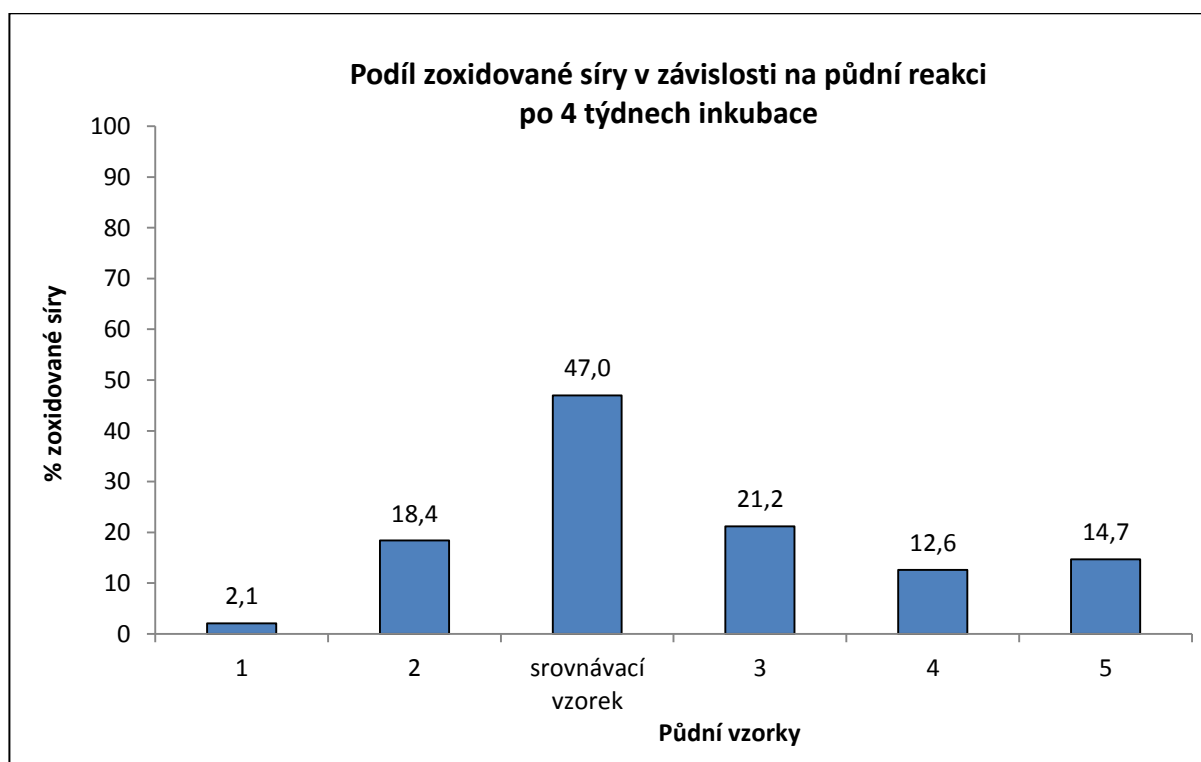
v Tabulce 6 a graficky znázorněna na Obrázku 19. Pro vysvětlení vysokého obsahu síranů ve srovnávacím vzorku po 4 týdnech inkubace by bylo žádoucí měření zopakovat a vyloučit případnou náhodnou chybu, což však z časových důvodů nebylo možné.



Obrázek 19: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na půdní reakci a době inkubace (označení vzorků a hodnoty jejich půdní reakce viz Tabulka 7).

Množství 400 mg/kg elementární síry přidávané do půdních vzorků se ve vzorku srovnávacím během čtyřech týdnů inkubace zoxidovalo z 47%, což odpovídá 187,8 mg/kg (uvažována korekce na obsah síranů ve slepém vzorku). U vzorku 3 vlhčeného zásaditým roztokem NaOH (pH = 9,5) je nárůst vodorozpustné síry roven 84,7 mg/kg, čili 21,2%. Vzorek 2 okyselený roztokem HCl (pH = 1,6) se zoxidoval z 18,4%, což představuje 73,6 mg/kg. Nižší rychlost oxidace síry se projevila u vzorků, které byly vlhčeny silně bazickými roztoky hydroxidu – vzorek 4 (pH = 11) a vzorek 5 (pH = 12,4). Tyto vzorky se během čtyřtýdenní inkubace zoxidovaly pouze z 12,6% a 14,7% (50,4 mg/kg a 58,8 mg/kg). Nejmenší nárůst obsahu síranů v půdě se projevila u vzorku 1 okyseleného roztokem o pH 0,6. V tomto extrémně kyselém prostředí se dotovaná síra zoxidovala pouze z 2,1% (8,2 mg/kg). Ve slepých vzorcích se během 4 týdnů inkubace zvýšil obsah vodorozpustné síry z 8,5 na 13,7 mg/kg. Zoxidované podíly elementární síry v inkubovaných vzorcích po korekci na

obsahy síranů ve slepých vzorcích, jsou graficky znázorněny na Obrázku 20. Z výsledků vyplývá, že rychlost oxidace elementární síry v půdě nejlépe podpořily přídavky roztoků o neutrálním nebo mírně kyselém pH. Přídavky zásaditých roztoků oxidaci síry poněkud zpomalily, velmi kyselý roztok (pH = 0,6) vytvořil v půdě takové prostředí, ve kterém oxidace elementární síry téměř neprobíhá.



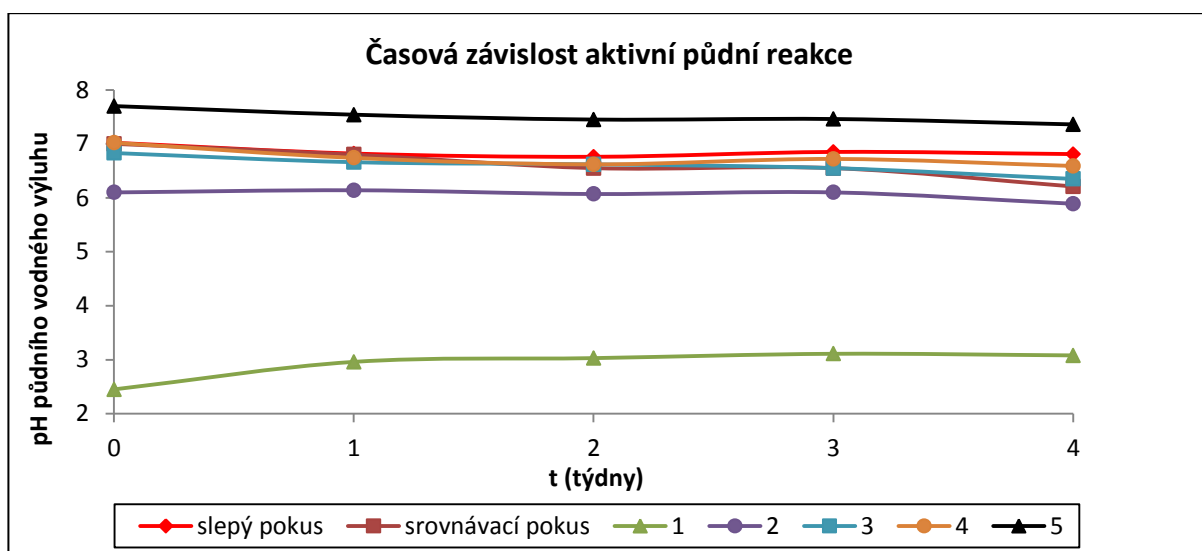
Obrázek 20: Podíl zoxidované síry v půdě v závislosti na půdní reakci vzorků po čtyřech týdnech inkubace (označení vzorků a jejich půdní reakce viz Tabulka 7).

Tabulka 7: Závislost půdní reakce vzorků na době inkubace a použitým extrahovadlem.

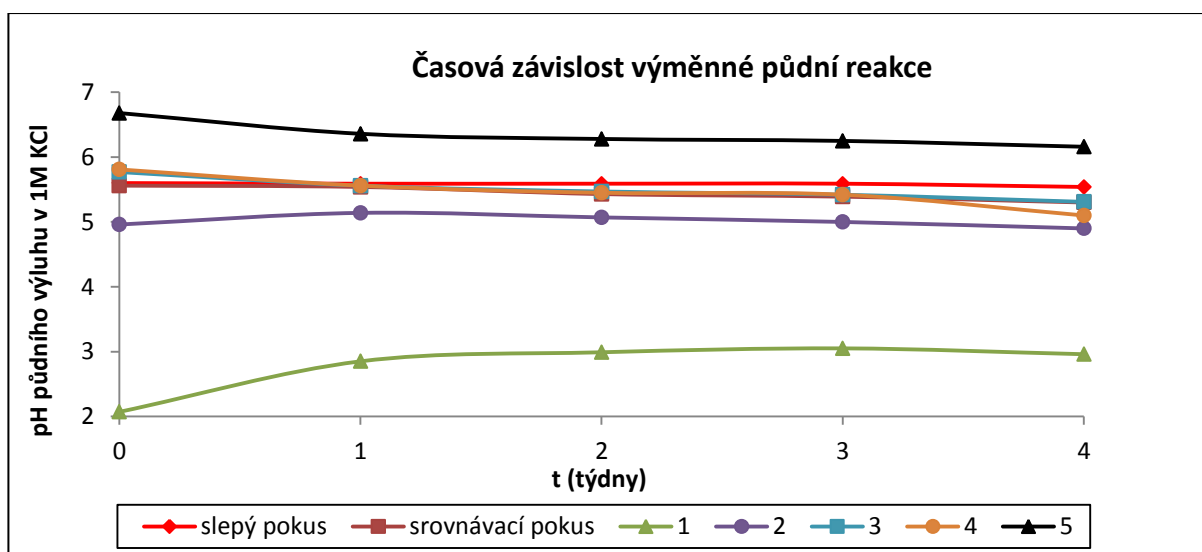
Označení vzorků	pH přidávaného roztoku	Týdny inkubace/Extrahovadlo/pH									
		0		1		2		3		4	
		H ₂ O	KCl	H ₂ O	KCl	H ₂ O	KCl	H ₂ O	KCl	H ₂ O	KCl
slepý pokus	6,1	7,0	5,6	6,8	5,6	6,8	5,6	6,9	5,6	6,8	5,5
srovnávací pokus	6,1	7,0	5,6	6,8	5,5	6,6	5,4	6,6	5,4	6,2	5,3
1	0,6	2,5	2,1	3,0	2,9	3,0	3,0	3,1	3,1	3,1	3,0
2	1,6	6,1	5,0	6,1	5,1	6,1	5,1	6,1	5,0	5,9	4,9
3	9,5	6,8	5,8	6,7	5,6	6,6	5,5	6,6	5,4	6,4	5,3
4	11,0	7,0	5,8	6,7	5,6	6,6	5,5	6,7	5,4	6,6	5,1
5	12,4	7,7	6,7	7,5	6,4	7,5	6,3	7,5	6,3	7,4	6,2

Naměřené hodnoty půdní reakce jednotlivých vzorků v obou typech výluhů a v závislosti na době inkubace jsou shrnuty v Tabulce 7 a graficky znázorněny na Obrázcích 21 a 22. Půdní reakce vzorku 1 vlhčeného nejkyselějším roztokem o $\text{pH} = 0,6$ se pohybovala v obou výluzích kolem hodnoty 3, hodnoty půdní reakce ostatních vzorků, včetně slepého a srovnávacího, se pohybovaly v neutrální nebo slabě kyselé oblasti. To svědčí o velké pufrovací schopnosti použité půdy, pH zvlhčovacích roztoků bylo korigováno do neutrální či mírně kyselé oblasti půdní reakce (s výjimkou silně kyselého roztoku o $\text{pH} = 0,6$).

S dobou inkubace se hodnoty pH výluhů jednotlivých půdních vzorků příliš neměnily (Obrázky 21 a 22), nicméně je zde patrný jejich mírný pokles, což může být důsledek postupného okyselování půdy v důsledku oxidace síry na kyselinu sírovou.



Obrázek 21: Závislost aktivní půdní reakce vzorků na době inkubace.



Obrázek 22: Závislost výměnné půdní reakce vzorků na době inkubace.

4.1.3 Vliv obsahu a oxidačního stavu železa

Železo, prvek, který hraje důležitou roli v mechanismu biooxidace síry v půdě, se vyskytuje ve dvou oxidačních stavech. Trojmocné železo se v půdě uplatňuje jako anorganické oxidační činidlo siřných sloučenin a jeho redukována forma je půdními bakteriemi znovu recyklována na Fe^{3+} . Cílem inkubačních testů s přidavkem železa do půdních vzorků bylo zjistit, jestli přidávané množství tohoto prvku podpoří rychlost oxidace elementární síry či nikoliv.

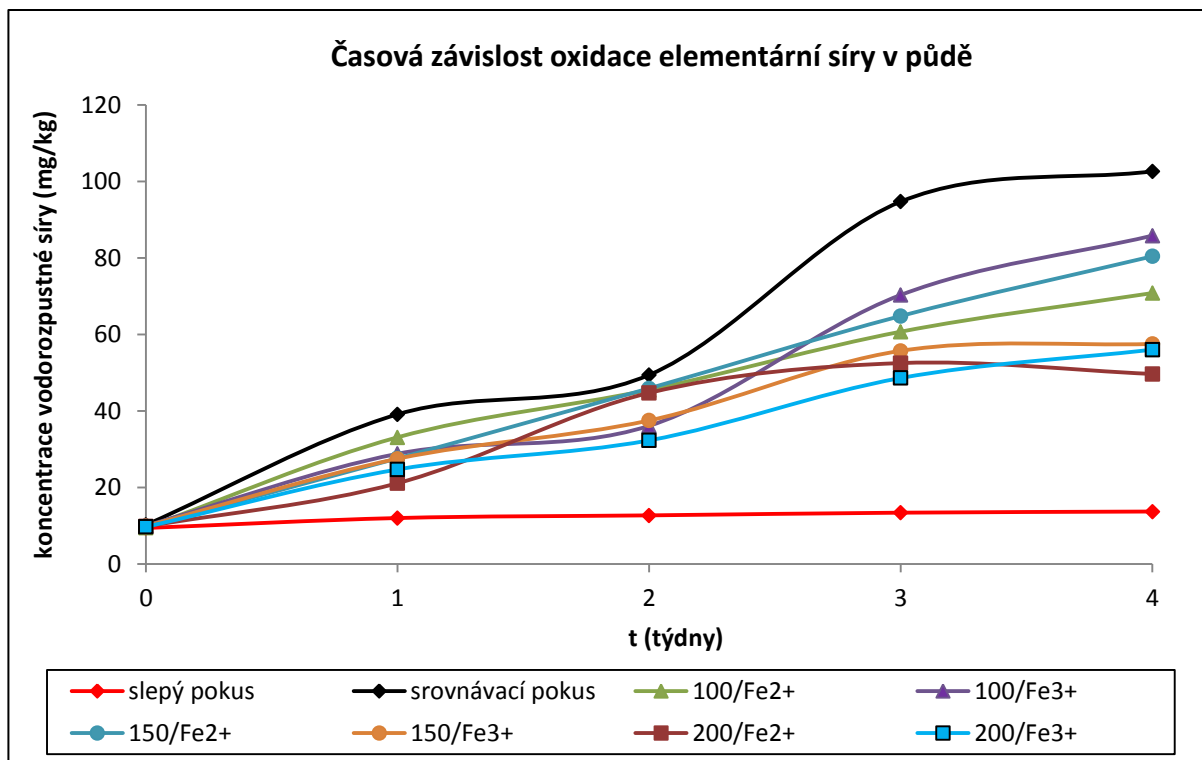
Podle kap. 3.3.3 byl stanoven původní obsah železa v používané půdě (45 mg Fe/kg) a následně byly zvoleny velikosti přidavků FeCl_3 a $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ do vzorků půdy. Celkový obsah železa v půdě po aplikaci tří zvolených přidavků byl 100, 150 a 200 mg železa/kg půdy. Roztoky železa o přesné koncentraci byly na vzorek půdy aplikovány v objemu 1 ml a dalšími 2,6 ml demineralizované vody byl vzorek ovlhčen a udržován na 75% plné vodní kapacity půdy. Postup přípravy vzorků a jejich zpracování po inkubaci jsou popsány v kap. 3.3.7.4.

Pět nasazených sérií obsahovalo vždy vzorky se třemi různými přidavky železa, a to jak v oxidačním stavu Fe^{3+} , tak jako železo dvojmocné. Samozřejmě u každé série nechyběly vzorky slepé bez síry a vzorky srovnávací se sírou ovlhčené pouze demineralizovanou vodou. Ve všech vzorcích byl stanoven obsah síranů iontovou chromatografií, vždy po týdenním intervalu.

Vzrůstající hodnoty koncentrace vodorozpustné síry v půdě (mg/kg) s dobou inkubace jsou sepsány v Tabulce 8 a graficky znázorněny na Obrázku 23. Po celou dobu trvání experimentu vzorky dotované železem nepřesáhly obsahem síranů hodnoty srovnávacího vzorku. Zároveň je patrné, že s velikostí přidavku železa rychlost oxidace síry spíše klesá.

Tabulka 8: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na obsahu železa a době inkubace.

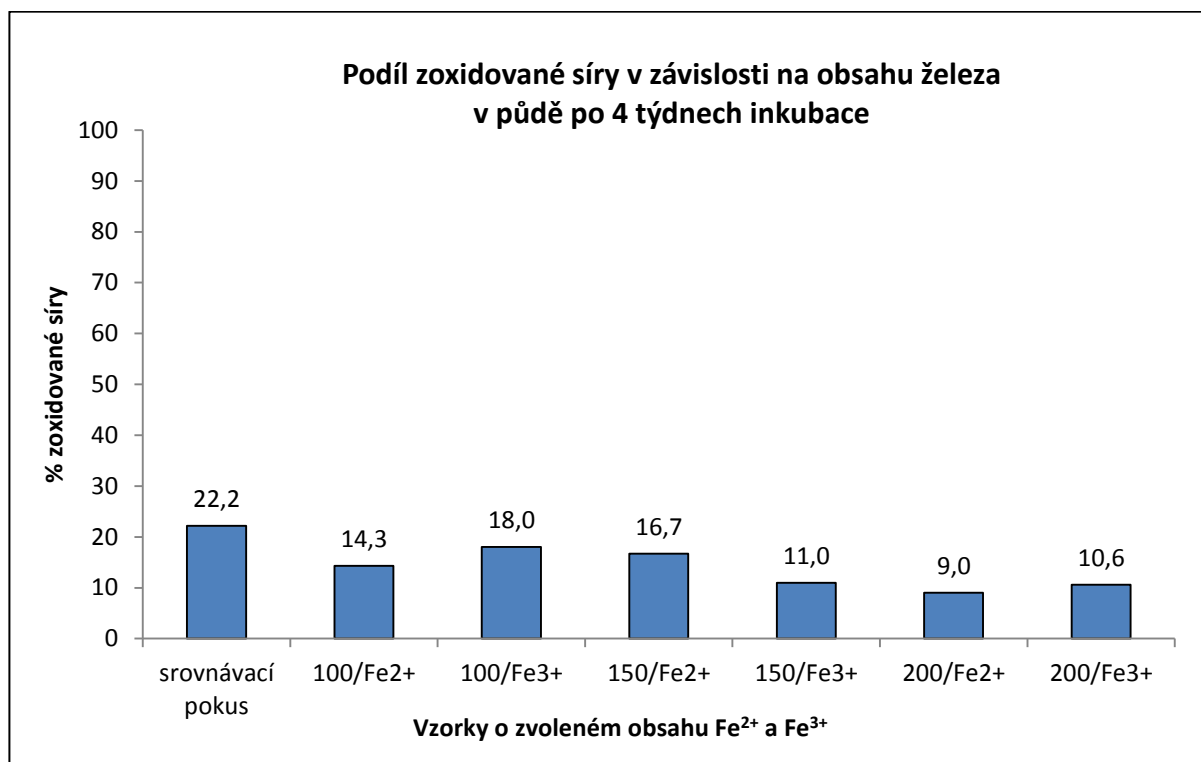
Inkubované vzorky	Týdny inkubace/Koncentrace vodorozpustné síry (mg/kg)				
	0	1	2	3	4
slepý pokus	9,4	12,0	12,7	13,4	13,7
srovnávací pokus	10,2	39,1	49,4	94,7	102,6
100/ Fe^{2+}	9,5	33,1	45,5	60,7	70,8
100/ Fe^{3+}	10,0	28,8	36,1	70,3	85,8
150/ Fe^{2+}	9,9	27,6	45,9	64,8	80,4
150/ Fe^{3+}	9,9	27,5	37,5	55,7	57,5
200/ Fe^{2+}	9,8	21,1	44,7	52,5	49,7
200/ Fe^{3+}	9,7	24,7	32,3	48,6	56,0



Obrázek 23: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na obsahu železa a době inkubace.

Po čtyřtýdenní inkubaci se ve srovnávacím vzorku bez přídavku železa dotované elementární sírou (400 mg/kg) zoxidovalo 88,9 mg síry/kg, což představuje 22,2%. Nejbližší této hodnotě se ukazuje vzorek dotovaný nejmenším přídavkem železa v trojmocném oxidačním stavu, který je oxidován z 18% (72,1 mg/kg). Stejný přídavek železa dvojmocného vedl po stejné době k oxidaci 14,3% síry (57,1 mg/kg). Ve vzorcích obsahujících 150 mg železa na kilogram půdy se v případě Fe²⁺ oxidovalo 66,7 mg síry/kg (16,7%) a u Fe³⁺ pouze 43,8 mg síry/kg (11%). U vzorků dotovaných největším přídavkem železa je patrné podstatné snížení rychlosti oxidace síry. Přídavek tohoto množství železa ve formě Fe²⁺ iontů způsobil oxidaci 9% síry (35,9 mg/kg), v případě železitých iontů to bylo 10,6% síry (42,3 mg/kg). Ve slepých vzorcích se během čtyřtýdenní inkubace zvýšil obsah vodorozpustné síry z 9,4 na 13,7 mg/kg. Zoxidované podíly elementární síry v inkubovaných vzorcích po korekci na obsahy síranů ve slepých vzorcích, jsou graficky znázorněny na Obrázku 24. Je vidět, že přídavek dvojmocného či trojmocného železa nemá na rychlost zpřístupnění síry rostlinám na použité půdě a za zvolených experimentálních podmínek významnější vliv. Množství železa pro danou půdu přirozené (bez další dotace) je zřejmě z pohledu rychlosti oxidace síry dostatečné. Hodnota aktivní půdní reakce všech analyzovaných vzorků nepřekročila rozdíl

jednotky a pohybovala se v intervalu pH = 6 - 7. Kyselost přidávaných roztoků železa by tedy na výsledné hodnoty zoxidované síry neměla mít větší vliv.



Obrázek 24: Podíl zoxidované síry v závislosti na obsahu a oxidačním stavu železa v půdě po čtyřech týdnech inkubace.

4.1.4 Vliv obsahu a formy dusíku

Dusík jako jedna z nejdůležitějších živin pro správný růst plodin byl přidáván do půdních vzorků ve čtyřech různých množstvích, a to vždy ve dvou formách. U takto dotovaných vzorků dusíkem bylo zjišťováno, do jaké míry mají jeho obsah a forma vliv na rychlost oxidace elementární síry v půdě po dobu čtyř týdnů inkubace.

Dusík byl do půdy vnášen buď jako dusičnanový + amoniakální (roztok dusičnanu amonného) nebo amidický (roztok močoviny). Popis přípravy a zpracování vzorků po inkubaci jsou uvedeny v kap. 3.3.7.5. Pět nasazených sérií obsahovalo vždy vzorky se čtyřmi různými přídávky dusíku v obou zmiňovaných formách, u každé série nechyběly vzorky slepé bez síry a vzorky srovnávací se sírou ovlhčené pouze demineralizovanou vodou. Ve všech vzorcích byly stanovovány obsahy síranů iontovou chromatografií vždy v týdenních intervalech.

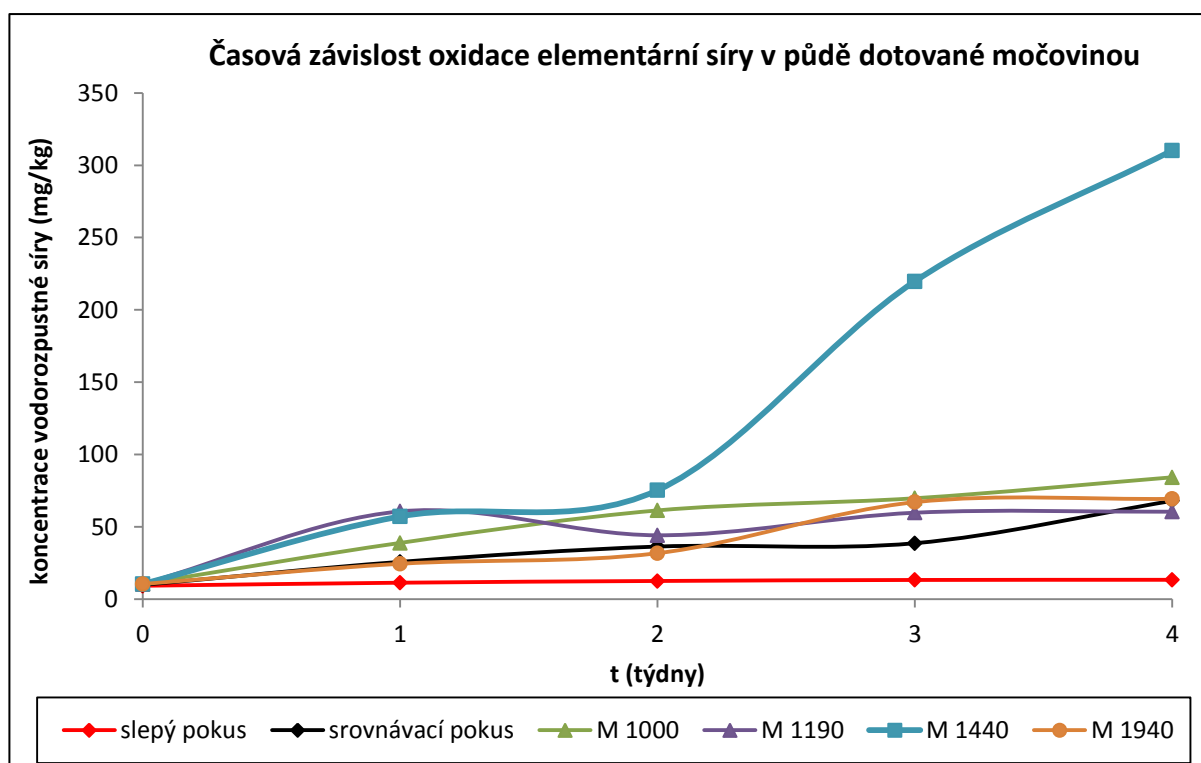
V Tabulce 9 jsou zaznamenány hodnoty koncentrací vodorozpustné síry ve vzorcích půdy, které jsou označeny písmenem M (přídavek roztoku močoviny) nebo D (přídavek roztoku dusičnanu amonného). Číslo, které následuje po písmenu označujícím formu dusíku, udává množství celkového dusíku v tomto vzorku (mg N/kg půdy). Slepý a srovnávací vzorek obsahují pouze množství dusíku, které bylo stanoveno v rámci diplomové práce Jakuba Mitáše [29] a činí 940 mg N/kg. Naměřené hodnoty obsahu vodorozpustné síry ve vzorcích v závislosti na době inkubace jsou graficky znázorněny na Obrázcích 25 a 26.

Z těchto údajů je zřejmé, že hned od prvního týdnu inkubace je síra ve vzorcích s přídavky močoviny oxidována rychleji než vzorek srovnávací. Přídavky dusičnanu amonného do vzorků zvýšení rychlosti oxidace nezpůsobily, spíše naopak, ke konci experimentu byla rychlost oxidace síry potlačována. Při aplikaci druhého největšího přídavku močoviny do vzorků (500 mg/kg) se naměřené hodnoty koncentrace vodorozpustné síry viditelně odlišují od ostatních hodnot. Pokus byl tedy zopakován s tím, že bylo docíleno naprosto totožných výsledků a chyba měření je tedy málo pravděpodobná. Tento přídavek dusíku ve formě močoviny společně s dusíkem původním a ostatními vlastnostmi použité půdy zřejmě vytváří optimální podmínky pro mikrobiální oxidaci elementární síry.

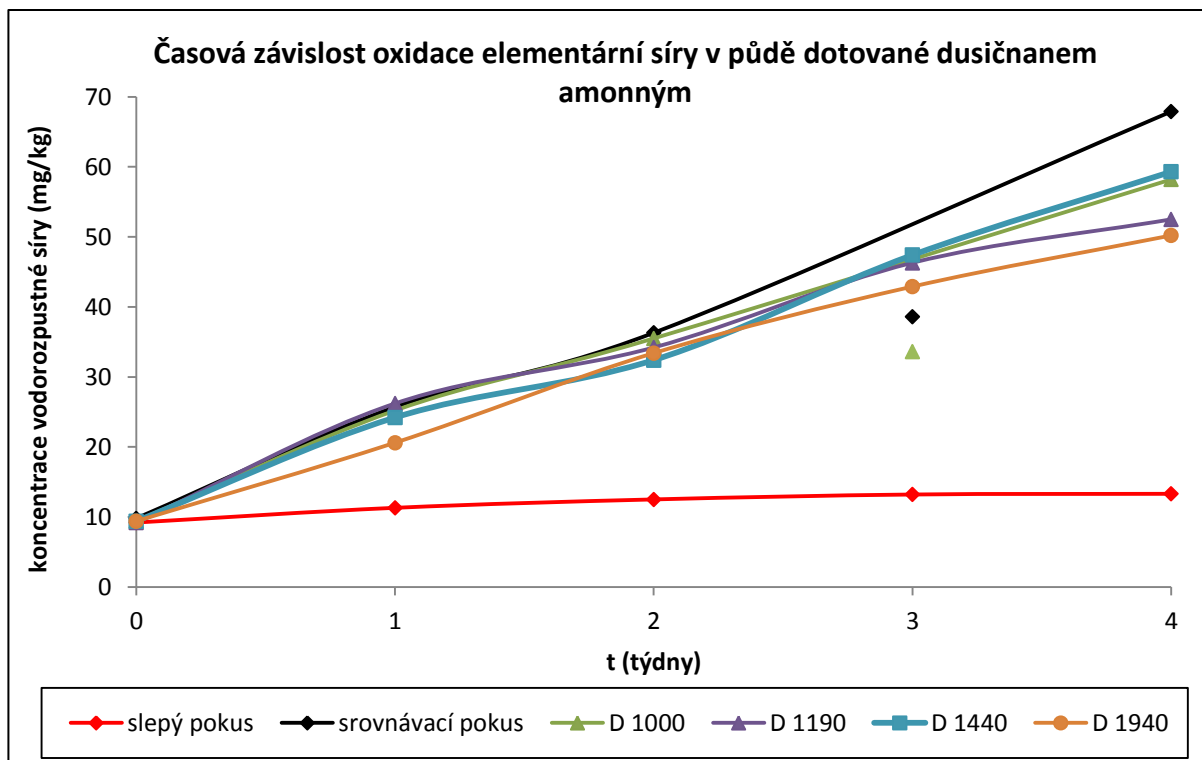
Tabulka 9: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě na obsahu dusíku a době inkubace.

	Inkubované vzorky	Týdny inkubace/Koncentrace vodorozpustné síry (mg/kg)				
		0	1	2	3	4
	Slepý pokus	9,2	11,3	12,5	13,2	13,3
	Srovnávací pokus	9,8	25,7	36,3	38,6	67,9
CH₄N₂O (mg/kg)	M 1000	10,5	38,8	61,3	69,7	84,2
	M 1190	10,4	60,6	44,1	59,7	60,4
	M 1440	10,4	57,1	75,2	219,7	310,2
	M 1940	10,4	24,4	31,7	67,0	69,3
NH₄NO₃ (mg/kg)	D 1000	9,4	25,2	35,5	33,6	58,2
	D 1190	9,2	26,2	34,2	46,3	52,5
	D 1440	9,4	24,2	32,4	47,4	59,3
	D 1940	9,4	20,6	33,4	42,9	50,2

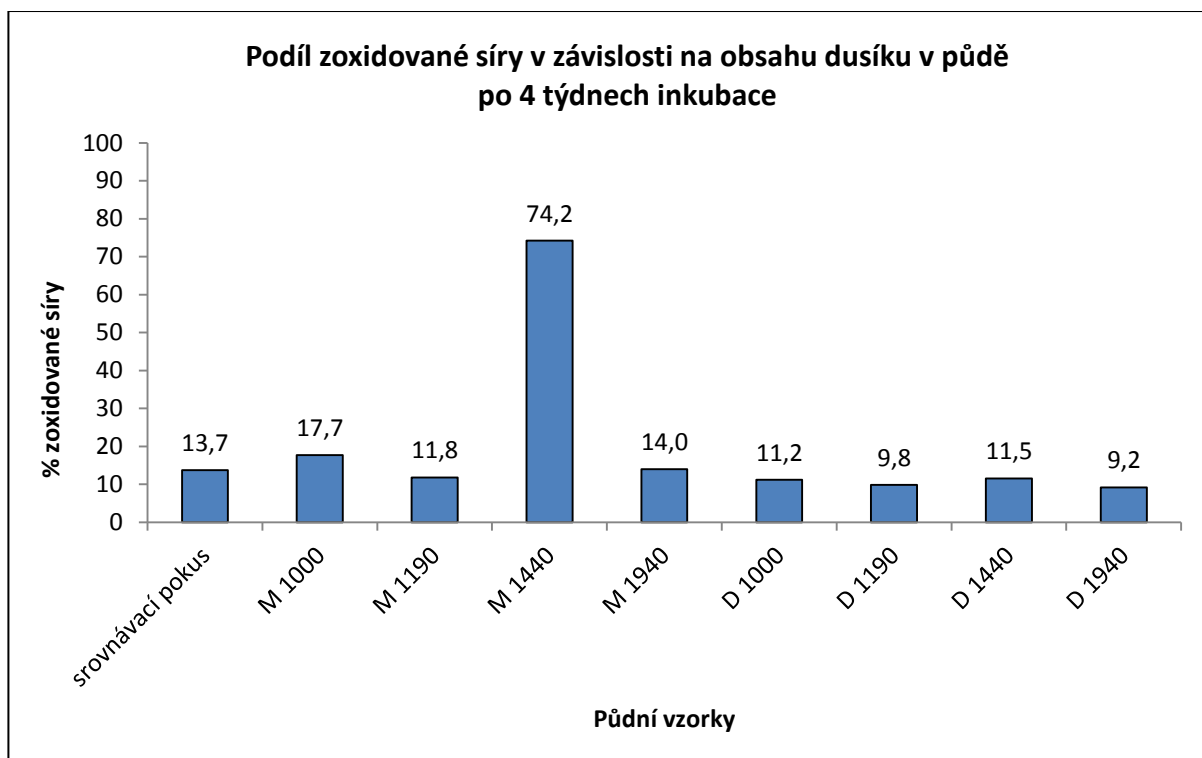
Zoxidované podíly elementární síry v inkubovaných vzorcích po korekci na obsahy síranů v slepých vzorcích, jsou graficky znázorněny na Obrázku 27. Ve slepých vzorcích se během 4 týdnů inkubace zvýšil obsah vodorozpustné síry z 9,2 na 13,3 mg/kg půdy. Síra ve vzorcích dotovaných 60, 250, 500 a 1000 mg močovinného dusíku byla zoxidována po čtyřech týdnech inkubace ze 17,7%, 11,8%, 74,2% a 14,0%, což odpovídá množství 70,9 mg/kg, 47,1mg/kg, 296,9 mg/kg a 56 mg/kg v daném pořadí. Přidávky dusičnanu amonného vedly po čtyřtýdenní inkubaci k mnohem nižším hodnotám síranů, nežli v případě močoviny. V pořadí od nejmenšího přídatku dusíku v této podobě byla přidaná síra zoxidována z 11,2%, 9,8%, 11,5% a 9,2% (44,9 mg/kg, 39,2mg/kg, 46 mg/kg a 36,9 mg/kg). Z těchto údajů lze usuzovat, že z hlediska pozitivního vlivu na rychlost oxidace síry je vhodnější formou přidávané živiny dusík močovinný. Oproti tomu dusík ve formě dusičnanu amonného za daných podmínek neměl při oxidaci síry v půdě žádný význam a její rychlost spíše inhiboval.



Obrázek 25: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě dotované močovinou na době inkubace.



Obrázek 26: Závislost koncentrace vodorozpustné síry v půdě dotované dusičnanem amonným na době inkubace.



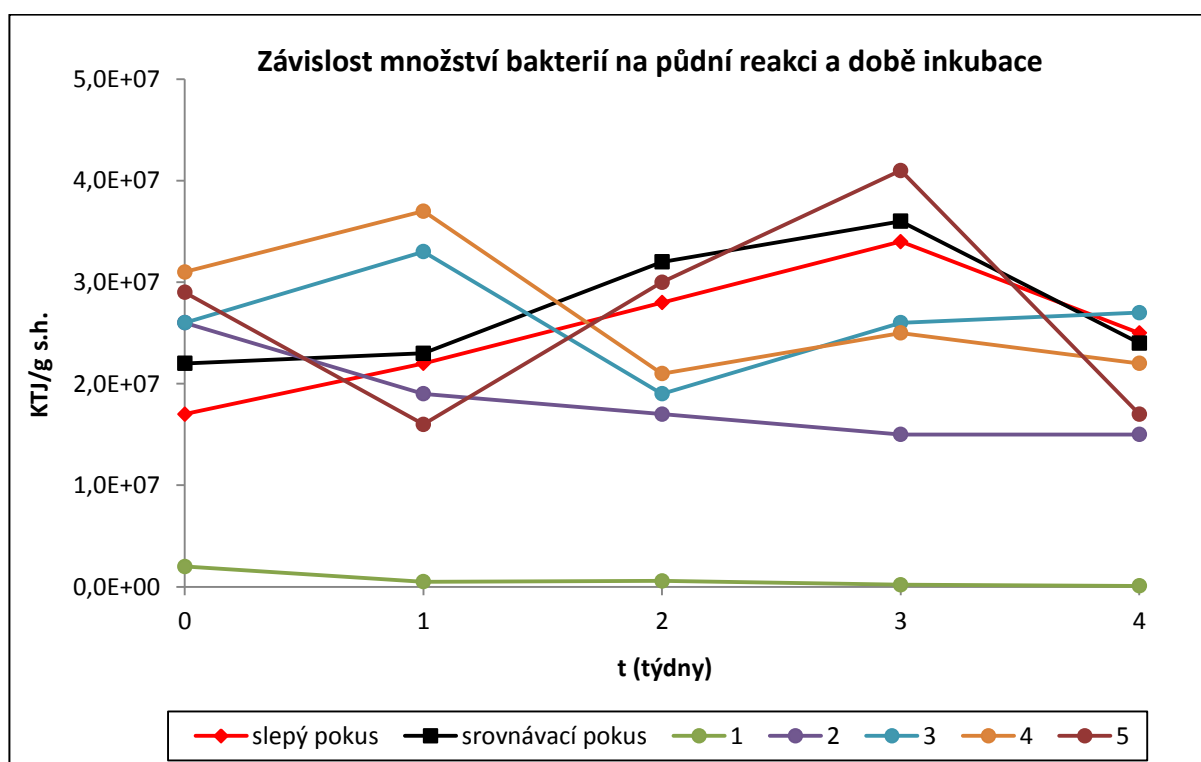
Obrázek 27: Podíl zoxidované síry v půdě v závislosti na množství a formě přidávaného dusíku (označení vzorků viz Tabulka 9).

4.2 Vliv studovaných půdních faktorů na četnost mikrobiální populace

Ve spolupráci s MBÚ AV ČR bylo zjišťováno, jak se změny studovaných půdních podmínek promítanou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace, která úzce souvisí s mechanismy biooxidace elementární síry v půdě.

4.2.1 Vliv půdní reakce

Pracovní postup přípravy vzorků je popsán v kap. 3.3.7.6 a jejich zpracování v kap. 3.3.6. Každý týden byly na MBÚ poslány vzorky, u kterých bylo provedeno stanovení počtu bakterií v KTJ (kolonie tvořící jednotky) na gram suché hmotnosti půdy (KTJ/g_{s.h.}), a také byla sledována heterogenita bakteriálních kolonií vyrostlých na LB agaru. Všechny vzorky obsahovaly převážně sporulující bacily a toto druhové zastoupení se po celou dobu experimentu nezměnilo. Časová závislost množství bakterií v KTJ/g suché hmotnosti půdy ve vzorcích o různé půdní reakci je graficky znázorněna na Obrázku 28, přiřazení hodnot půdní reakce jednotlivým vzorkům je obsaženo v Tabulce 7.

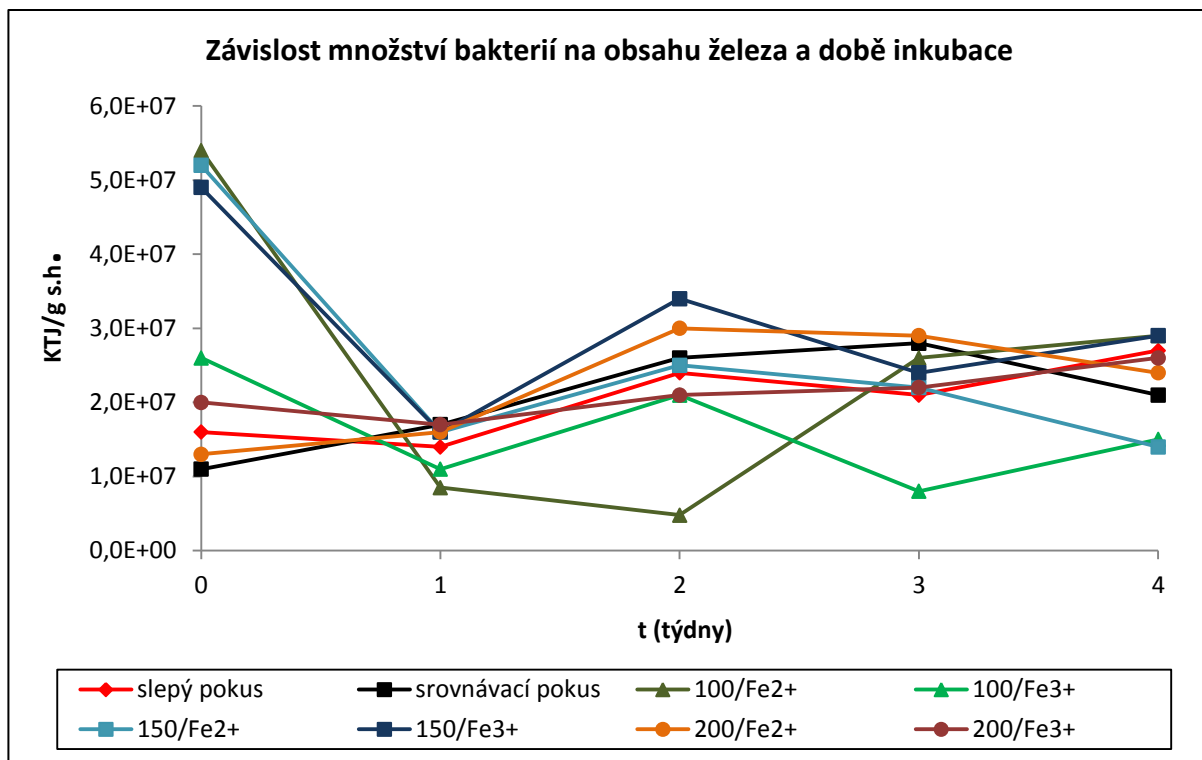


Obrázek 28: Závislost počtu bakterií ve vzorcích o různé půdní reakci na době inkubace (označení vzorků a jejich půdní reakce viz Tabulka 7).

S výjimkou vzorku 1 změna počtu bakterií během čtyřtýdenní inkubace nepřesáhla u žádného z ostatních vzorků ani jeden celý řád, stejně tak nevýznamné byly rozdíly mezi počty bakterií ve vzorcích č. 2 – 5, jejichž aktivní půdní reakce ležela v rozmezí $\text{pH}/\text{H}_2\text{O} = 5,9 - 7,7$ a odpovídající výměnná půdní reakce v oblasti $\text{pH}/\text{KCl} = 5,0 - 6,7$. Lze proto říci, že půdní reakce ležící v uvedených mezích nemá u použité půdy na počet bakterií během celého měření vliv. U vzorku 1, který byl ovlhčený silně kyselým roztokem o $\text{pH} = 0,6$ ($\text{pH}/\text{H}_2\text{O} = 2,5 - 3,1$ a $\text{pH}/\text{KCl} = 2,1 - 3,1$), byla na počátku pokusu naměřena hodnota $2,0 \cdot 10^6$ KTJ/g_{s.h.}, která se během čtyřtýdenní inkubace snížila na $8,1 \cdot 10^4$ KTJ/g_{s.h.}. Je zřejmé, že toto extrémně kyselé prostředí je pro půdní mikroflóru nevyhovující a zastoupení mikrobiální populace s dobou inkubace klesá. Z uvedených výsledků tedy vyplývá, že pokud se počty bakterií v použité půdě udržují na hodnotách řádově kolem 10^7 a vyšších, probíhá oxidace síry během inkubace přibližně konstantní rychlostí, jestliže poklesnou na úroveň o 2 - 3 řády nižší, oxidace již prakticky neprobíhá (porovnej Obrázky 19 a 28). Z toho vyplývá, že půdní reakce je faktor, který může nepřímo ovlivnit rychlost oxidace síry v půdě tím, do jaké míry bude vytvářet vyhovující či nevhodné prostředí pro mikrobiální půdní populaci.

4.2.2 Vliv obsahu a oxidačního stavu železa

Inkubované vzorky půdy se sírou a s přidavkem zvoleného množství železa ve dvou oxidačních stavech (Fe^{2+} , Fe^{3+}), jeden srovnávací vzorek dotovaný sírou bez přidavku železa a jeden slepý vzorek bez síry byly v týdenních intervalech odesílány na MBÚ, kde bylo provedeno stanovení počtu bakterií v KTJ na gram suché hmotnosti půdy. Příprava a zpracování vzorků jsou podrobně popsány v kapitole 3.3.7.6. Z hlediska heterogenity se bakteriální kolonie vyrostlé LB agaru od experimentů popsaných v kap. 4.2.1 nelišily, stále se jednalo o sporulující bacily a řádově se nezměnilo ani jejich množství ($1 \cdot 10^7 - 5 \cdot 10^7$ KTJ/g_{s.h.}). Časová závislost množství bakterií v KTJ/g suché hmotnosti půdy je graficky znázorněna na Obrázku 29.



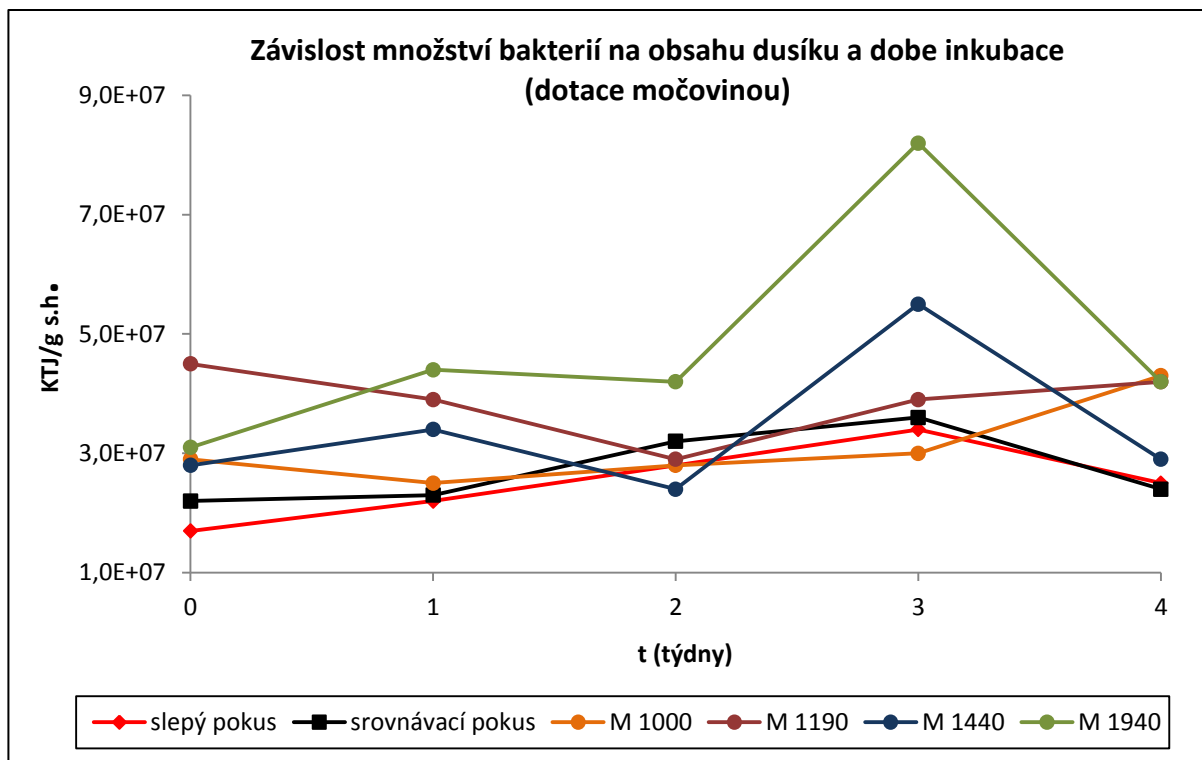
Obrázek 29: Závislost počtu bakterií v půdních vzorcích na obsahu železa a době inkubace.

Jak je z něho patrné, rozdíly v počtech bakterií u jednotlivých vzorků půdy dotované různými dávkami dvoj- a trojmocného železa nepřekračují půl řádu ($5 \cdot 10^7$ KTJ/g s.h.), z časového průběhu není patrný žádný trend. Ihned po nasazení se sice zdál počet bakterií v některých vzorcích s přidavkem železa vyšší než u vzorku srovnávacího a slepého, tyto hodnoty se ale během krátké doby vyrovnaly a po čtyřtýdenní inkubaci leží v úzkém intervalu hodnot. Z naměřených dat není možné jednoznačně vyhodnotit vliv obsahu a oxidačního stavu přidávaného železa na množství bakterií ve vzorcích, ani prokázat souvislost mezi zastoupením mikrobiální populace a množstvím zoxidované síry (viz kap. 4.1.3). Nicméně je velmi pravděpodobné, že zvolené dávky železa v obou oxidačních stavech neměly na počet bakterií ve vzorcích půdy výraznější vliv, ani nepodpořily rychlost oxidace elementární síry přidávané do vzorků. Přírozený obsah železa v použité půdě je pro oxidační aktivitu mikroorganismů dostatečný a dodatečné vnášení této živiny jako akceleratoru mikrobiální oxidace by bylo neefektivní.

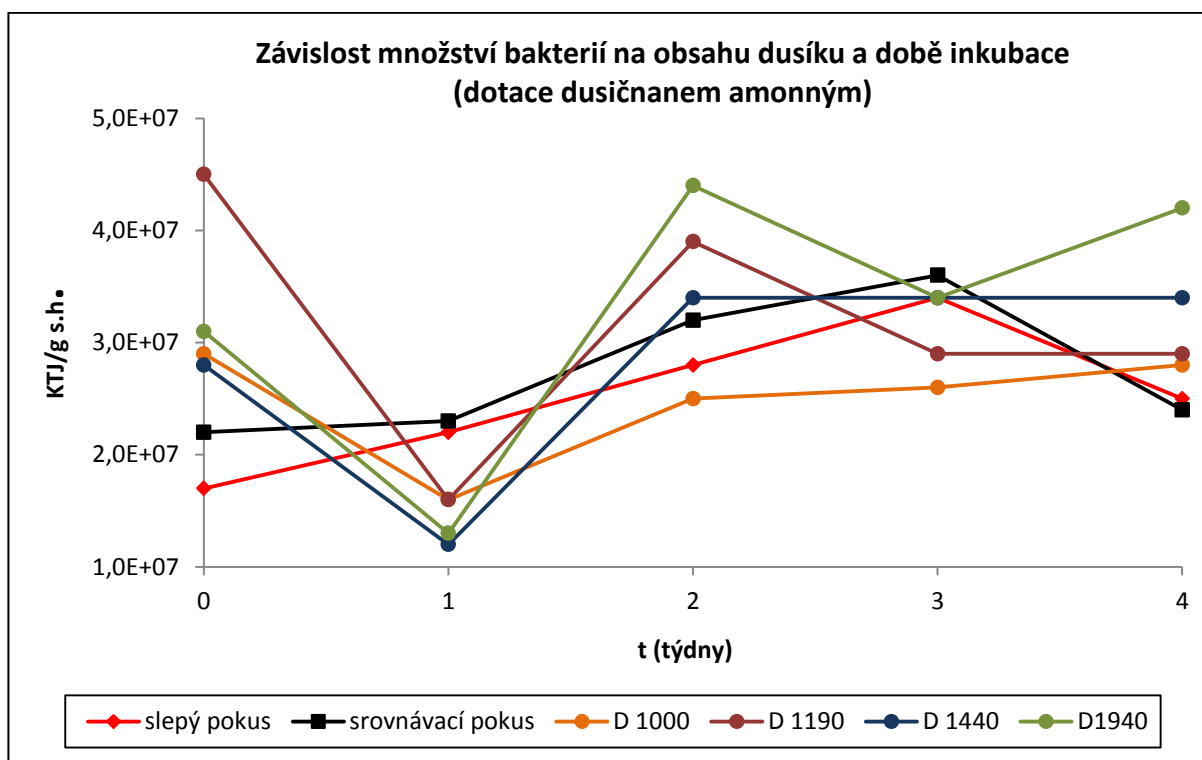
4.2.3 Vliv obsahu a formy dusíku

Podle MBÚ je dusík živinou, která podporuje růst počtu bakterií v půdě. Doporučené přidané množství bylo 60 mg N/kg půdy, tj. na celkový obsah 1000 mg/kg. Podle kapitoly 3.3.7.6 byly připraveny vzorky se čtyřmi různými přídávky dusíku, přičemž nejnižší přírůstek byl výše doporučený. Celkové množství dusíku v půdě bylo po aplikaci jednotlivých přírůstků 1000, 1190, 1440 a 1940 mg/kg. Vzorky označené písmenem M byly dotované močovinou a do vzorků označených D byl přidáván dusičnan amonný. V týdenních intervalech byly inkubované vzorky posílány na MBÚ, kde bylo provedeno stanovení počtu bakterií a následně byly sestaveny časové závislosti množství bakterií, které jsou graficky zpracovány na Obrázku 30 (vzorky půdy dotované močovinou) a na Obrázku 31 (vzorky s přírůstkem dusičnanu).

Přesto, že přírůvky dusíku nevedly ke změnám v počtu bakterií v půdních vzorcích alespoň o jeden řád a zjištěné rozdíly tak mohou být způsobeny náhodnými chybami během experimentů, lze spatřit určitou souvislost mezi počtem bakterií v půdě a množstvím zoxidované síry během inkubace. Obsahy síranů ve vzorcích půdy vlhčené roztokem močoviny totiž převyšují hodnoty vzorků srovnávacích bez dotace dusíku (Obrázek 25) a rovněž počty bakterií u močovinou dotovaných vzorků jsou vyšší, nežli u vzorku srovnávacího (Obrázek 30). V případě vzorků s přírůvkem dusičnanu amonného se množství bakterií pohybuje v blízkosti hodnot vzorku srovnávacího (Obrázek 31) obdobně je tomu i v případě množství zoxidované síry u těchto vzorků (Obrázek 26). U obou forem dusíku, zejména močovinného, pak platí, že s velikostí jejich přírůvku mírně vzrůstá počet půdních bakterií, který se s dobou inkubace prakticky nemění. Pro potvrzení těchto závěrů založených na subjektivním posouzení experimentálních dat by však bylo nutné provést více pokusů a vyhodnotit je pomocí statistické analýzy.



Obrázek 30: Závislost počtu bakterií v půdních vzorcích dotovaných močovinou na době inkubace.



Obrázek 31: Závislost počtu bakterií v půdních vzorcích dotovaných dusičnanem amonným na době inkubace.

4.3 Vlastnosti použité půdy

Většina charakteristik půdy použité k inkubačním testům byla stanovena v předchozí diplomové práci J. Mitáše [29], v této práci byla provedena pouze stanovení těch vlastností, jejichž vliv na oxidaci síry a přítomnost mikrobiální populace byly studovány (s výjimkou stanovení celkového dusíku).

4.3.1 Obsah železa

Obsah železa v půdě použité k inkubačním testům byl stanoven postupem uvedeným v kapitole 3.3.3 metodou atomové absorpční spektrofotometrie po předchozí extrakci půdy roztokem DTPA-TEA [27].

Použitý roztok DTPA-TEA podle Lindsaye a Norvella slouží především ke stanovení železa, manganu, mědi nebo zinku přijatelných pro rostliny. Koncentrace železa ve výluhu půdy byla změřena pomocí řady kalibračních roztoků a výpočtem regresních koeficientů kalibrační přímky. Výsledná hodnota 0,04% hm. je aritmetickým průměrem výsledků pěti paralelních analýz.

4.3.2 Půdní reakce

Půdní pH bylo měřeno dvěma způsoby - ve vodném výluhu a v 1 mol/l KCl. Stanovení proběhlo dle normy ISO 10 390 (viz kapitola 3.3.3), výsledky jsou shrnuty v Tabulce 10. Důležitým údajem je tzv. výměnná půdní reakce (pH/KCl), při níž draselné ionty vyluhovacího roztoku vytěsňují ze sorpčního komplexu půdy vodíkové ionty. Tato hodnota je tedy nižší, nežli údaj tzv. aktivní půdní reakce stanovené změřením pH vodného výluhu a používá se při zjišťování potřeby vápnění. Naměřená hodnota 5,8 se nachází na spodní hranici slabě kyselých půd (pH = 5,6 - 6,5), půda by se tedy měla více vápnit.

Tabulka 10: Hodnoty pH půdních výluhů

Extrahovadlo	pH výluhu
voda	6,8
1 mol/l KCl	5,8

4.3.3 Stanovení obsahu vody

Obsah vody v půdě použité k experimentům byl zjišťován gravimetrickou metodou sušení do konstantní hmotnosti (viz kapitola 3.3.3). Ve vzorcích upravených podle kap. 3.3.2 ponechané k volnému vyschnutí na vzduchu při okolní teplotě cca 20 – 23°C, zůstalo 1,9% vody. Tato hodnota je důležitá pro inkubační testy, protože vzorky půdy byly navažovány tak, aby obsahovaly 10 g sušiny. Bylo tedy navažováno $10,2\text{g} \pm 0,001\text{g}$.

4.3.4 Ostatní půdní charakteristiky

Pro úplnost jsou v Tabulce 11 uvedeny další parametry použité půdy stanovené v diplomové práci J. Mitáše [29].

Tabulka 11: Vlastnosti půdy použité k inkubačním testům.

Půdní vlastnosti	Výsledky
Obsah organické hmoty	4,8% (středně až silně humózní půda)
Obsah vodorozpustné síry	6,5mg vodorozpustné síry/kg půdy
Obsah celkového dusíku	937mg N/kg půdy (0,094%)
Obsah celkového fosforu	2,016g P ₂ O ₅ /kg půdy (0,20%)
Obsah uhličitanů	0,60% CaCO ₃ v půdě
Obsah vápníku	0,21% Ca v půdě
Vodivost půdního výluhu	70,7 μS/cm (zvýšený obsah solí)
Sypná hmotnost	1,14 g/cm ³
Plná vodní kapacita	31,70%
Maximální kapilární kapacita	23,20%
Obsah jílovin	velikost částic <0,01mm: 35,8%; <0,001mm: 14,2%; 0,001-0,01mm: 21,6%

5 ZÁVĚR

Úkolem této diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši věnovanou oxidaci elementární síry v půdě a na základě teoretických znalostí a ověřené metodiky stanovení síranů iontovou chromatografií provést inkubační testy pro zjištění rychlosti oxidace síry v půdě v závislosti na půdní vlhkosti, půdní reakci, obsahu železa a hnojení dusíkem. Dalším úkolem bylo ve spolupráci s MBÚ AV ČR zjistit, jak se změny studovaných půdních podmínek promítnou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace.

Teoretická část byla věnována především příjmu síry rostlinou, jejímu metabolismu v rostlinném organismu, sirným sloučeninám přítomným v půdě, sirným hnojivům a také symptomům deficitu síry u zemědělských plodin. Velká pozornost byla věnována faktorům ovlivňujícím oxidaci síry v půdě, především těm, které byly studovány v této práci.

Tato práce navazuje na diplomovou práci Jakuba Mitáše [29], který navrhl a ověřil vhodnou metodiku stanovení síranů iontovou chromatografií s vodivostní detekcí a potlačenou vodivostí eluentu při použití mobilní fáze 8mmol/l NaHCO₃ a 8mmol/l Na₂CO₃. Jako vhodné extrahovadlo rostlinami přijatelných síranových aniontů byla zvolena voda v poměru půda : voda = 1:5. K inkubačním experimentům byla použita frakce krystalické síry o velikosti částic 56-63μm u níž bylo ověřeno, že se za daných půdních podmínek oxiduje dostatečně rychle a bude tedy možné detekovat přírůstky obsahu síranů již během prvních týdnů inkubace.

Při studiu vlivu půdní vlhkosti na rychlost oxidace síry byly půdní vzorky o pěti různých vlhkostech inkubovány po dobu 5 týdnů při 25°C v klimatizační komoře. Zvolená a udržovaná vlhkost vzorků pokrývala hodnoty od téměř nulové po plnou vodní kapacitu používané půdy (obsah vody v půdě 31,7%). Obsah síranů ve vzorcích dotovaných elementární sírou v množství 400 mg/kg půdy se s dobou inkubace zvyšoval. Vzorky o 50% a 75% plné vodní kapacity se rychle oxidovaly už během prvního týdne od nasazení a na konci inkubačního období u nich bylo zoxidováno 25,2%, resp. 34,8% vnesené síry na sírany. Ve vzorcích o vlhkosti odpovídající 100% plné vodní kapacity se síra zpočátku oxidovala pomaleji, ale po 5 týdnech inkubace u nich bylo zoxidováno nejvíce přidávané síry, a to 39,5%. Ve vzorcích o nízké vlhkosti probíhala oxidace výrazně pomaleji, ve vzorcích nevlhčené půdy obsahující asi 2% vody oxidace prakticky neproběhla. Z těchto výsledků je zřejmé, že pro rychlou dosažitelnost síry rostlinami v půdě má význam vlhkost pohybující se kolem 75% plné vodní kapacity půdy, při které je elementární síra z významné části

zoxidována už během několika týdnů. 75% vlhkost byla v tomto případě zvolena jako optimální pro další experimenty.

Dále byl studován vliv půdní reakce na průběh oxidace půdní síry. Bylo zjištěno, že v použité půdě oxidace úspěšně probíhá za podmínek mírně kyselé až neutrální půdní reakce. Poněkud nižší rychlost oxidace síry se projevila u vzorků, které byly vlhčeny silně bazickými roztoky hydroxidu sodného. V extrémně kyselém prostředí ($\text{pH}/\text{H}_2\text{O} = 3$) se dotovaná síra zoxidovala pouze z nepatrné části (2,1%), obsah síranů v těchto vzorcích se příliš nelišil od vzorku slepého. S dobou inkubace docházelo k mírnému poklesu hodnot pH půdních výluhů, což může být důsledek okyselování půdy vlivem oxidace síry na kyselinu sírovou.

Při posuzování vlivu obsahu železa v půdě na rychlost oxidace přidávané síry byly vzorky půdy upraveny tak, aby obsahovaly tři různá množství železa: 100, 150 a 200 mg Fe/kg půdy. Původní (srovnávací a slepý) vzorek půdy obsahoval 45 mg Fe/kg. V inkubovaných vzorcích půdy s přidavkem síry dotovaných železem nepřesáhly obsahy síranů hodnoty vzorku srovnávacího (tj. bez přidavku železa), ve kterém bylo po 4 týdnech inkubace zoxidováno 22,2% přidané síry. Z výsledků vyplývá, že s velikostí přidavku železa rychlost oxidace síry spíše klesá. Ve vzorcích půdy s obsahem 100 mg Fe/kg bylo po 4 týdnech inkubace zoxidováno 14,3% (přídavek Fe^{2+}), resp. 18% síry (přídavek Fe^{3+}), u půdy obsahující 150 mg Fe/kg se zoxidovalo 16,7%, resp. 11% síry a u vzorků s největším obsahem železa (200 mg Fe/kg) pouhých 9%, resp. 10,6%. Z těchto výsledků je rovněž zřejmé, že oxidační stupeň železa nemá na rychlost oxidace síry v použité půdě za zvolených podmínek významnější vliv a množství železa pro danou půdu přirozené je zřejmě z pohledu rychlosti oxidace síry dostatečné.

Z výsledků stanovení rychlosti oxidace elementární síry v půdě v závislosti na obsahu dusíku vyplývá, že přídavek této živiny ve formě močoviny podpořil rychlost oxidace elementární síry, jako optimální se jeví dotace 500 mg močovinného N/kg (celkový obsah dusíku v půdě činil 1440 mg/kg), kdy bylo po 4 týdnech inkubace zoxidováno 74,2% přidané síry. Toto množství a forma dusíku zřejmě za daných podmínek vytváří optimální prostředí pro mikrobiální oxidaci elementární síry. Přidávky dusičnanu amonného do půdních vzorků rychlost oxidace prakticky neovlivnily, naopak rychlost oxidace byla spíše potlačována. Lze tedy konstatovat, že z hlediska pozitivního vlivu na rychlost oxidace síry je vhodnější formou přidávané živiny dusík močovinný.

Ve spolupráci s MBÚ bylo zjišťováno, jak se změny studovaných podmínek (půdní reakce, obsah železa a dusíku) promítnou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace

v inkubovaných vzorcích půdy. Všechny vzorky obsahovaly převážně sporulující bacily a toto druhové zastoupení se během všech inkubačních experimentů neměnilo. Přídavky železa a dusíku k půdě, do níž byla vnesena elementární síra, nevedly během čtyřtýdenní inkubace k významnějším změnám v počtu bakterií v těchto půdních vzorcích, stanovená množství bakterií kolísala v rozmezí jednoho řádu (10^7 KTJ/kg_{s.h.}), což může být důsledek náhodných chyb během experimentů. Přesto byl pozorován určitý trend vypovídající o pozitivním vlivu hnojení močovinou na růst bakteriální populace v půdě, u hnojení dusičnanem amonným tento efekt nebyl prokazatelný. Výsledkem experimentů, jejichž cílem bylo posoudit, jak je četnost mikrobiální půdní populace závislá na půdní reakci, bylo zjištění, že v mírně kyselých a neutrálních podmínkách ($\text{pH}/\text{H}_2\text{O} = 6 - 8$) jsou množství bakterií v půdě řádově srovnatelná (10^7 KTJ_{s.h.}), zvýšením kyselosti na $\text{pH}/\text{H}_2\text{O} = 3$ a nižší počty půdních bakterií výrazně klesají, což vede i k podstatnému poklesu rychlosti oxidace elementární síry. Je zřejmé, že toto extrémně kyselé prostředí je pro půdní mikroorganismy nevyhovující.

Závěrem je třeba poznamenat, že uvedené závěry platí pro půdy podobných vlastností, jaké má půda použitá k experimentům v této diplomové práci, u jiných půdních typů mohou být více či méně odlišné.

Další výzkum v oblasti využití elementární síry pro výživu rostlin by se měl zabývat studiem vlivů fyzikálně chemických vlastností půdy (teplota, obsah organické hmoty a některých biogenních prvků v půdě, např. fosforu) na mechanismus mikrobiální oxidace síry. Jelikož se z časových důvodů nepovedlo zjistit do jaké míry se změny půdní vlhkosti promítnou do kvality a kvantity půdní mikrobiální populace, bylo by vhodné i tuto závislost objasnit.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BARKER A. V., PILBEAM D. J.: Handbook of Plant Nutrition. Taylor & Francis, Boca Raton, 2007.
- [2] TABATABAI M. A.: Encyclopedia of Soils in the Environment. Sulfur in soils. Iowa State University, USA, 2005, 91-97. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B0123485304002435>.
- [3] LEAGREID M., BOCKMAN O. C., KAARSTAD O.: Agriculture, Fertilizers and the Environment. CABI Publishing, Wallingford, UK, 1999.
- [4] RAI M. K.: Handbook of microbial biofertilizers. Haworth Press, Inc., New York, 2006.
- [5] RYANT P.: Význam síry. Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně; 2004. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/pdf/biogenni_prvky/sira_teorie.pdf.
- [6] RICHTER R.: Význam síry. Ústav agrochemie a výživy rostlin, MZLU v Brně; 2004. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/biogenni_prvky/s.htm.
- [7] CALDERWOOD A., KOPRIVA S.: Hydrogen sulfide in plants: From dissipation of excess sulfur to signaling molecule. Nitric Oxide, 2014. Dostupné z <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860314000081>.
- [8] HAVLIN J. L., BEATON J. D., TISDALE S. L., NELSON W. R.: Soil fertility and fertilizers. Prentice Hall, New Jersey, 1999.
- [9] Síra v půdě. Mendelova univerzita v Brně. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/pdf/agrochemie_pudy/s_puda.pdf
- [10] NÄVEKE R.: Bacterial leaching of ores and other materials. Technische Universität Braunschweig, Germany, 1986. Dostupné z <http://www.spaceship-earth.org/REM/Naeveke.htm>.
- [11] Účinek různých hnojiv s obsahem síry ve vztahu k obsahu síry a přírůstku výnosu u řepky olejné. Leading Farmers, 2006. Dostupné z <http://www.leadingfarmers.cz/library/?ix=28&link=>
- [12] Elementární síra jako hnojivo pro méně náročné plodiny. Leading Farmers, 2006. Dostupné z <http://www.leadingfarmers.cz/library/?ix=10&link=>

- [13] National Iranian Gas Company. Elemental Sulfur Fertilizers. Iran. Dostupné z <http://sulfur.nigc.ir/en/sulfuruses/agricultural/sulfurfertilizers/elementalsulfurfertilizers>
- [14] URÍK M., LITTERA P., MIKUŠOVÁ P.: Mikrobiální oxidácia sulfidov. Chemické Listy 107, 292-297, 2013.
- [15] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ J.: Koloběh síry. Encyklopedie hydrobiologie, VŠCHT Praha, 2007. Dostupné z http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=K013
- [16] YANG Z. H., STÖVEN K., HANEKLAUS S., SINGH B. R., SCHNUG E.: Elemental sulfur oxidation by *Thiobacillus* spp. and aerobic heterotrophic sulfur-oxidizing bacteria. *Pedosphere*, 20(1): 71-79, 2010.
- [17] PELCZARSKI Z., TURBIARZ H., KRAWCZYK B.: Sulphur fertilizer and granulated sulphur fertilizer manufacturing method. Patent WO 2008024007, 2008. Dostupné z <http://www.google.com/patents/WO2008024007A2?cl=en>
- [18] Nabídka mapových a datových produktů – Hydrologické charakteristiky. Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i. Praha, 2013. Dostupné z http://www.vumop.cz/sites/File/Katalog_Map/20130529_katalogMap_Hydrologicke_characteristiky.pdf
- [19] JANDÁK J.: Vybrané půdní parametry a vodní režim v půdě. Mendelova univerzita v Brně, prezentace přednášek 2014.
- [20] MESSICK D. L.: Sulfur production and use in North America and the world. 2013. Dostupné z <https://dl.sciencesocieties.org/publications/meetings/download/pdf/2011am/64429>
- [21] TABATABAI M. A.: Sulphur Cycling on the Continents. Methods of Measurement of Sulphur in Soils, Plant Materials and Waters. Iowa State University, USA. Dostupné z <http://www.scopenvironment.org/downloadpubs/scope48/appendix.html>.
- [22] ZBÍRAL J.: Analýza půd I, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 2002.
- [23] SCIENCE ZOOM. Kapalinová chromatografie, 2014. Dostupné z <http://www.sciencezoom.cz/hry-a-kvizy/kapalinova-chromatografie>
- [24] SKÁCEL F., TEKÁČ V.: Podklady pro MŽP k provádění Protokolu o PRTR. VŠCHT Praha, MŽP Praha, 2007.
- [25] VAŠÍČEK O.: Využití Metod kapalinové chromatografie k separaci oligonukleotidů modifikovaných genotoxickými látkami. Masarykova univerzita v Brně, 2007.

- [26] Kapalinová chromatografie s různými typy detekce pro analýzu biologicky významných látek. Mendelova univerzita v Brně. 2013. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanobiometalnet/ucebni-pumucky/UP_6_Kapalinova%20chromatografie%20s%20ruznymi%20typy%20detekce%20pro%20analyzu%20biologicky%20vyznamnych%20latek.pdf
- [27] ZBÍRAL J. a kol.: Analýza půd II. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 2003.
- [28] ZBÍRAL J., HONSA I., MALÝ S., ČIŽMÁR D.: Analýza půd III. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 2004.
- [29] MITÁŠ J.: Studium vlivu půdních mikroorganismů na rychlost oxidace elementární síry. Diplomová práce, Pardubice, 2013.
- [30] KYSLÍKOVÁ E., MBÚ AV ČR: Soukromé sdělení, 2014.