

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

*katedra biologie ekosystémů*



Bakalářská práce

**Studie vlastností DET, metody pro vzorkování pórové vody  
v sedimentech**

Zuzana Jarolímová

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Borovec, Ph.D. (HBÚ)

České Budějovice 2010



Jarolímová, Z. (2011): **Studie vlastností DET, metody pro vzorkování pórové vody v sedimentech.** [Study of properties DET, a method for pore water for sediment sampling. Bc. Thesis, in Czech] - 53 p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

Annotation:

The aim of this thesis was find out chosen properties of DET (diffusive equilibration in thin films), method for pore water for sediment sampling. This properties were:

- 1) the time require for equilibration between:
  - a) distilled water in gel within DET and pore water
  - b) sample of pore water within DET and distilled water
- 2) the comparison of samples pore water sampling with DET and other method
- 3) determination of DET properties in practice

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Analýzy na iontovém chromatografu prováděl prom. chem. Karel Murtinger.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích 3. ledna 2011

Zuzana Jarolímová

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli Jakubu Borovcovi za vedení této práce, velkou trpělivost při vysvětlování studované problematiky a nesmírnou ochotu pomoci. Poděkování patří také mé rodině, bez které bych tu ani nemohla být, mým přátelům a jmenovitě nejlepším kamarádkám Alče a Jitce. Jedno z největších poděkování patří Tomáši Beckovi, který mě nenechal podlehnout chmurám či skončit v péči psychiatrů a vždy mě dokázal podpořit ve chvílích nejtěžších.



# Obsah

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1. Úvod</b> .....                                                                  | 1  |
| <b>2. Literární rešerše</b> .....                                                     | 3  |
| 2.1. Sediment .....                                                                   | 3  |
| 2.2. Pórová voda .....                                                                | 5  |
| 2.2.1. <i>Způsoby odběru pórové vody</i> .....                                        | 6  |
| 2.2.1.1. Nepřímé metody pro odběr pórové vody .....                                   | 7  |
| 2.2.1.2. Přímé metody pro odběr pórové vody .....                                     | 10 |
| 2.2.1.3. Srovnání metod pro odběr pórové vody .....                                   | 15 |
| 2.3. Důvody ke zkoumání vlastností DET .....                                          | 17 |
| <b>3. Metodika</b> .....                                                              | 18 |
| 3.1. DET .....                                                                        | 18 |
| 3.2. Vlastní pokusy s DET .....                                                       | 18 |
| 3.2.1. <i>Kinetika ustálení rovnováhy v gelu</i> .....                                | 18 |
| 3.2.2. <i>Vliv způsobu skladování a porovnání DET s jinou konvenční metodou</i> ..... | 20 |
| 3.2.2.1. Peeper .....                                                                 | 21 |
| 3.2.3. <i>Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu</i> .....                     | 21 |
| 3.3. Analýzy .....                                                                    | 22 |
| <b>4. Výsledky</b> .....                                                              | 25 |
| 4.1. Kinetika ustálení rovnováhy v gelu .....                                         | 25 |
| 4.2. Vliv způsobu skladování a porovnání DET s jinou konvenční metodou .....          | 26 |
| 4.3. Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu .....                              | 28 |
| <b>5. Diskuze</b> .....                                                               | 30 |
| 5.1. Kinetika ustálení rovnováhy v gelu .....                                         | 30 |
| 5.2. Vliv způsobu skladování a porovnání DET s jinou konvenční metodou .....          | 31 |
| 5.3. Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu .....                              | 33 |
| <b>6. Závěr</b> .....                                                                 | 34 |
| <b>7. Literatura</b> .....                                                            | 35 |
| <b>8. Přílohy</b> .....                                                               | 42 |

# 1. Úvod

Voda je jedna z nejzajímavějších a také nejdůležitějších látek na této planetě. Její vysoké specifické teplo udržuje stálé klima. Voda také ovlivňuje počasí, a protože vyplňuje 75% povrchu planety (což činí asi 1 bilion km<sup>3</sup> vody), žije ve vodě více než polovina všech druhů rostlin a živočichů (Smol 2008).

Z obrovského množství vody tvoří sladkovodní jezera pouze 0,3 % sladké vody na zemi. A právě na tuto oblast se bude tato práce zaměřovat.

Nádrže se sladkou vodou (jezera, přehradní nádrže, rybníky atd.) byly a jsou velmi znečišťovány. Tím dochází ke zhoršování kvality vody a ke změnám v procesech probíhajících v těchto ekosystémech.

Sedimenty jsou jednou z významných částí vodního ekosystému a jako součást cyklů všech makroprvků, ovlivňují celý ekosystém.

V sedimentech probíhá mnoho chemických a biochemických procesů, a tak je potřebné je zkoumat za účelem vytvoření komplexního pohledu o pochodech v jezeře, nádrži nebo v rybníku. To znamená také možnost tyto procesy přes sediment ovlivnit.

Sedimenty se skládají nejen z částic, ale také z vody vyplňující prostory mezi částicemi sedimentu. Tato voda se nazývá pórová. Obsahuje rozpuštěné látky ze sedimentu a zároveň má mnohem vyšší koncentraci těchto látek, než okolní vodní sloupec. Zkoumání právě této vody je jedním ze základních klíčů k pochopení chování sedimentů ve vodním ekosystému.

Způsobů odebrání pórové vody je mnoho. Všechny mají své klady a zápory, ale neexistuje žádná metoda, která by byla univerzálně použitelná na všechny typy sedimentů (jemnozrný, písčítý, nezpevněný, atd.) a látek. Proto se stále vyvíjejí nové metody.

Tato práce je zaměřena na poznání poměrně nového způsobu odebrání pórové vody, nazvaného DET (diffusive equilibration in thin-films).

## **Cíle práce:**

- 1) zjistit dobu potřebnou k ustálení rovnováhy:
  - a) mezi pórovou vodou v sedimentu a destilovanou vodou v DET
  - b) mezi vodou v DET (obsahující vzorek pórové vody) a destilovanou vodou
- 2) prověřit účinky kyslíku v gelu v DET na koncentraci stanovovaných látek
- 3) porovnat DET s jinou konvenční metodou
- 4) prověřit vlastnosti DET v praxi při dlouhodobém pokusu a za různých podmínek v sedimentu



## 2. Literární rešerše

### 2.1. Sediment

Ve většině ekosystémů existuje místo, kde je „zapsána“ jeho historie. Ve vodním ekosystému je tímto místem právě sediment. Ten obsahuje informace o vývoji tohoto místa, o toxických a jiných látkách, které se v něm uložily, ale např. i o globálních změnách klimatu.

Co je to vlastně sediment? Jedná se o částice a vodu vyplňující prostory mezi těmito částicemi (pórová voda). Tvoří podklad vodního ekosystému. Částice jsou tvořeny zejména (Wetzel 1983):

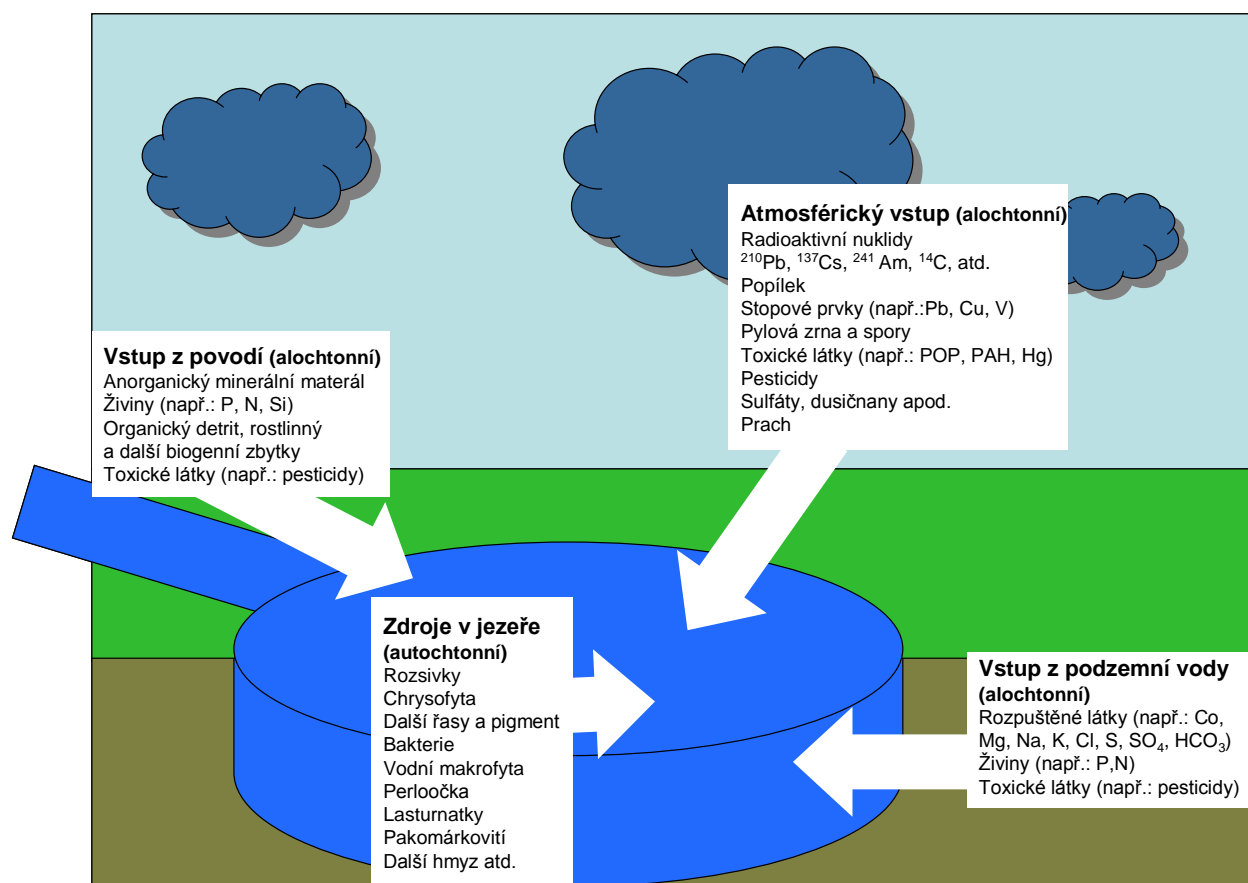
- 1) organickou hmotou v rozdílných stádiích dekompozice
- 2) minerální hmotou, včetně jílu, uhličitánů a nejílových křemičitanů
- 3) anorganickými složkami biogenního původu, schránkami rozsivek a některými formami uhličitanu vápenatého

Částice sedimentu mohou být autochtonního (vznikly uvnitř vodního tělesa) nebo alochtonního původu (vznikly mimo vodní těleso). Původ a zdroje sedimentu jsou zobrazeny na Obr. 1.

Složení sedimentu je velmi různé a vypovídá o mnoha vlastnostech povodí i samotné nádrže. **Hloubka** umožňuje využití sedimentujících částic ve vodním sloupci předtím, než se stanou součástí sedimentu. Čím větší hloubka, tím méně profundálních organismů. Také ovlivňuje dostupnost kyslíku. Podle množství **zákalu** dokáže světlo proniknout do určité hloubky. Zákal je tvořen půdními částicemi, planktonem a detritem. **Světlo** je hlavní faktor ovlivňující zonální stratifikaci (Smol 2008). Rozděluje vodní nádrž na svrchní část eufotickou (vrstva, kde převládá fotosyntéza nad respirací) a spodní část afotickou (převládá respirace). S těmito vrstvami také souvisí množství **kyslíku**, který se vyskytuje díky fotosyntéze především v zóně eufotické. Výjimku tvoří jarní a podzimní míchání, kdy se kyslík vyskytuje v celém vodním sloupci. To ovšem neplatí pro velmi hluboká jezera. Kyslík působí nejen na množství a složení druhů ve vodním prostředí, ale i na rychlost dekompozice sedimentu. **Teplota vodního tělesa** ovlivňuje rozpustnost plynů (čím nižší, tím lepší rozpustnost).

**Velikost vodní plochy** a **tvár jezera** ovlivňují mimo jiné sílu větrné disturbance, přísun kyslíku a depozitů z atmosféry.

**Vlastnosti přítoku a povodí** jsou velmi důležité pro složení sedimentu. Nejvíce jej ovlivňuje zemědělství v povodí (přísun živin) a množství rostlin kolem toku (více detritu, zástin atd.). Vlastnosti půdy v povodí rozhodují o tom, k jak velkému vyluhování iontů dochází. Čím tvrdší hornina, tím nižší odnos iontů. Existuje korelace mezi částicemi exportovanými z půdy a kvantitou P, N, Fe a dalších živin, které jsou součástí rostlinné biomasy obklopující vnitrozemské vody.



**Obr.1:** Původ a zdroje jezerních sedimentu. Přepřacováno podle Smol et al. (2001).

Existují také rozdíly mezi sedimenty v **podélném profilu nádrže**, a to u přítoku a u hráze. Přítok může být charakterizovaný jako místo, kam přitékají látky z povodí. Kyslíkový profil je zde jiný než u hráze, avšak velmi záleží na umístění výpusti. Směrem ke hrázi se zvětšuje hloubka a zmenšuje množství látek z povodí, které jsou rozkládány ve vodním sloupci, či sedimentují dříve, než se dostanou k hrázi. Možnost výskytu kyslíku u dna snižuje při zvětšující se hloubce a v případě, že hráz nádrže nevypouští vodu ode dna, je zde většinou anoxie a v mezních případech anaerobie.

Dalšími faktory ovlivňující složení sedimentu jsou **pH, redoxní potenciál a tlak**. K ovlivnění dochází přes rychlost dekompozice, rozpustnost a srážení látek, ale také přes rozpustnost plynů ve vodě a hydrogenuhličitanovou rovnováhu.

Jeden z nejdůležitějších faktorů je však faktor biotický. **Příbřežní vegetace** tvoří zástin, což způsobuje nižší biomasu perifytonu. Zadržuje živiny a její odstranění může vést od zhoršení kvality vody až k úbytku ryb a bentosu. Může také snižovat větrnou disturbanci.

Významnou úlohu v sedimentu plní také **houby, bakterie** a někdy i **volné enzymy**, které se vyskytují u většiny typů sedimentu. Nejprve je rozkládán snadno rozložitelný organický materiál a zůstávají pouze odolná huminová rezidua. K tomu je ovšem nutná přítomnost kyslíku (Mortimer 1971) a proto je jejich největší výskyt do 10 cm sedimentů (Simpson et al. 2005). Zde se odehrává většina biochemických procesů a největší změny nastávají na rozhraní sediment/voda.

Tato hranice je předělem mezi dvěma velmi rozdílnými sférami. Je to dáno pohybem iontů, který je v sedimentu pomocí difúze zprostředkován jen prvních několik mm, zatímco ve vodě nad sedimentem je tento pohyb daleko větší a je vyvolán turbulentními pohyby vody (Mortimer 1971). Také je to způsobeno několikanásobně vyšším obsahem látek v sedimentu, ale i v pórové vodě sedimentu. Tato voda se nazývá pórová voda.

## 2.2. Pórová voda

Pórová, nebo také často intersticiální voda, je voda, vyplňující prostory mezi částicemi sedimentu. Většinou zaujímá 20-99% objemu sedimentu, ale záleží na jeho složení. Písečné sedimenty i směsi písku a jílu mají okolo 30% a jemnozrnné sedimenty obsahující velké množství organické hmoty až 99% pórové vody (Mudroch & Azcue 1995, Simpson et al. 2005, Teasdale et al. 1995). Tato voda je odpovědná za naprostou většinu interakcí na rozhraní sediment/voda. Je to místo přechodné retence a biologických a chemických transformací látek.

Zkoumání chemických látek v pórové vodě může pomoci pochopit rozkladné procesy. Podává informace o chemických změnách v sedimentech, o reakcích mezi pevnou fází (sedimenty) a vodou nad sedimentem, o transportu a toku kontaminantů na rozhraní sediment/voda a voda nad sedimentem a o dostupnosti živin a toxických látek pro faunu a floru v dané oblasti (Bufflap & Allen 1995, Teasdale et al 1995).

Obsahuje mnohem vyšší koncentrace látek než voda nad sedimenty, ale její koncentrace se mění velmi rychle a ukazuje tak na pochody, které se v sedimentu právě odehrávají.

Interakcí způsobujících přenos látek na rozhraní sediment/voda, a tudíž ovlivňující složení pórové vody, je hned několik (Mortimer 1971):

- A) sorpční procesy (adsorpce, absorpce, chemisorpce, desorpce)
- B) iontové výměny (difúze, chelatační činidla)
- C) redoxní interakce
- D) aktivita mikroorganismů (bentos, houby a bakterie)

### ***2.2.1. Způsoby odběru pórové vody***

První způsob odběru pórové vody začal být používán již v roce 1895 a to J. Murray a R. Irvin, kteří začali s lisováním kapaliny z mělkých skotských pobřežních sedimentů (Mannheim 1976). Ale teprve od 60. let minulého století se začala metoda lisování používat k získávání pórové vody ze sedimentu (Reeburgh & Erickson 1982).

Další metoda centrifugace původně sloužila k odstranění tekutin z různě nasycených geologických materiálů. Ale teprve v 70. letech minulého století se začala používat ke vzorkování pórové vody (Mudroch & Azcue 1995).

Od 70. let minulého století nastal značný rozvoj těchto metod. Postupně se objevovaly metody, které nevyžadovaly vyjmutí sedimentu z jeho přirozeného prostředí, ale mohly být použity přímo in situ. Jedná se o přímé sání, dialyzační vzorkovač (neboli peeper) a od 90. let minulého století i DET a DGT.

Všechny tyto metody mají své výhody i nevýhody a výběr správného způsobu odběru ovlivňuje další analýzu látek. Proto je důležité vhodně zvolit techniku vzorkování.

Při rozhodování záleží hlavně na látce, kterou chceme stanovovat, na druhu sedimentu, na koncentraci látky v pórové vodě a především na požadovaném vertikálním rozlišení profilu sedimentu.

### 2.2.1.1 Nepřímé metody pro odběr pórové vody

Základem nepřímých metod je nejprve odebrání sedimentu k tomu určenými vzorkovači (různé typy vrtáků, rypadel, drapáků, sedimentových kórů, atd) a následné získání pórové vody z tohoto vzorku.

Velká výhoda tohoto způsobu vzorkování je simultánní odebrání sedimentu, což umožňuje srovnání koncentrací analytů v pórové vodě a v sedimentu. Naopak nevýhoda je při odebrání nezpevněného sedimentu pomocí kóru nebo drapáku, kdy může dojít ke ztrátě pórové vody ze vzorku (Teasdale et al. 1995). A největší problém těchto metod spočívá ve vytažení sedimentu z jeho dosavadního prostředí. To může zapříčinit změnu chemických látek vlivem rozdílu teplot, tlaku a oxidace kyslíkem, které lze předejít prací se sedimentem v inertní atmosféře (Beck et al. 2007, Troup et al. 1974).

### Lisování

Lisování je první technika pro odebrání pórové vody.

V minulosti byla metoda obvykle založena na principu nižšího nebo vyššího tlaku vyvolaného pouze mechanicky a nebo na principu nižšího tlaku vyvolaného mechanicky a pomocí plynu (vyšší nebo nižší tlak oproti atmosférickému).

První zařízení byla z nerezové oceli a některá měla navíc na povrchu chrom, který se později ukázal jako zdroj kontaminace.

Presley et al. (1967) sestrojili zařízení z nerezové oceli potažené teflonem®. Ten zabránil kontaminaci vzorku. Zařízení pracovalo za podtlaku vyvolaného plynem. Získaný vzorek bylo nutné dále filtrovat.

Reeburgh (1967) sestrojil první lis bez použití kovu. K lisování docházelo pouze na základě působení plynu, takže přístroj neobsahoval žádné písty ani jiné pohyblivé části. Tlak plynu (He, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>), který mohl dosáhnout až k 200 psi (cca 14 bar), tlačil na gumovou přepážku a tak stlačoval sediment. Díky tomu docházelo k vytlačování pórové vody skrz filtr do vzorkovací nádoby. Získání vzorků bylo relativně rychlé.

Jako velký problém se ukázalo ohřátí vzorků na pokojovou teplotu, což ovlivňovalo výnos některých iontů až o  $\pm 13\%$ . Platilo to zejména pro K, Ca, Cl, Mg (Bischoff et al. 1970).

Tento problém vyřešili Kalil and Goldhaber (1973), jenž sestrojili lis pracující při teplotách vyskytujících se na dně jezer a oceánů.

Princip lisování byl použit na dalších přístrojích přizpůsobených dané oblasti zájmu a potřeby. Velký objem vzorku (Sasseville et al. 1974), modifikace lisu od Reeburgh (1967) k použití na nezpevněných a jemnozrnných sedimentech (Robbins and Gustinis 1976), lisování sedimentu v dusíkem naplněném boxu k zabránění přístupu kyslíku (Matisoff et al. 1980), celokórový lis k použití na palubě lodi s velkým rozlišením u rozhraní sediment/voda (Bender et al. 1987).

Bollinger et al. (1992) zjistili, že při dostatečně vysokém tlaku docházelo k navýšení koncentrace  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_4\text{SiO}_4$ ,  $\text{NO}_2^-$  a DOC (rozpuštěný organický uhlík). Toto zvýšení bylo způsobeno rozdrčením částic detritu nebo mikroorganismů žijících v sedimentu. Také došli k názoru, že tyto přísady mohou být u různých typů sedimentů rozdílné a mohou být experimentálně stanoveny (možnost využití v mikrobiologii).

Aby v pórové vodě docházelo k minimu změn při práci s ní, je nutno skladovat vzorky sedimentu chlazené, a to až do lisování, a manipulovat s nimi co nejméně k předcházení disturbancí. Kvůli možnosti rozdrčení bakterií a detritu přítomných v sedimentu je nutné provádět lisování co nejšetrněji.

## **Centrifugace**

V 70. letech minulého století se centrifugace začala používat k vzorkování pórové vody. Avšak tehdy používaná metoda se vyznačovala mnoha problémy, mezi které patřila hlavně pomalá rychlost centrifugace, která značně prodloužila její délku. Vzorky byly přehřívány, docházelo tak ke změnám látek ve vzorku, ale také ke kontaminaci z použitého zařízení.

Pomalá rychlost centrifugace nesla také další nevýhody v podobě nízkých výnosů (Edmunds and Bath 1976).

Další vývoj:

Emerson (1976) zlepšil centrifugační techniku, aby mohla být použita na anaerobní jezerní sedimenty.

Carignan et al. (1985) porovnali techniku centrifugace a dialýzy a zjistili, že centrifugace při 5000 ot/min následovaná filtrováním supernatantu přes 0,45  $\mu\text{m}$  filtr měla stejný obsah Co,

Ni, Cr, Fe a Mn jako dialýza. Ale v případě Cu, Zn a organického uhlíku byl tento obsah vyšší nebo více variabilní. Při zvýšení rychlosti na 11000 ot/min a použití filtru 0,2 - 0,03  $\mu\text{m}$  byly výsledky srovnatelné.

Během let se centrifugace neustále vyvíjela a různily se druhy zařízení a rychlost centrifugace podle charakteru sedimentu. Nicméně je několik rad pro zacházení se sedimentem pro tuto metodu (Mudroch and Azcue 1995): Je nutno snížit operace se sedimentem na minimum a držet kór ve vertikální poloze, aby se předešlo disturbancím. Všechny práce provádět při in situ teplotě. Zamezit přístupu kyslíku, nejlépe prací v inertní atmosféře.

### **Extrakce plynem a extrakce podtlakem**

Při extrakci plynem prochází sedimentem plyn o relativně vysoké vlhkosti a tím je ze sedimentu vyháněna pórová voda. Plyn může procházet na základě vytváření podtlaku, a nebo je poháněn vytvořením podtlaku přímo při vzorkování. Poté, co je voda vytlačena ze sedimentu, je odváděna do kryté nádoby k zabránění evaporace (Scholl 1963). Technika filtrace podtlakem je natolik pomalá, že není vhodná pro kvantitativní metody. Dále rychlost této metody způsobuje evaporaci, které je nutno zabránit. Další negativní faktor této metody je její nedostatečná účinnost pro sediment tvořený pískem o relativně malé prodyšnosti. Tento nedostatek lze obejít zvýšením tlaku a to až na 20 psi (Scholl 1963).

Další možnosti získání pórové vody, a to za použití stejné aparatury (a tudíž i podtlaku), lze dosáhnout protékáním nemísitelné kapaliny. I zde se opět klade důraz na zabránění evaporace, a proto by tato kapalina měla být chemicky inertní. Další charakteristika této kapaliny by měla být její menší hustota a značně vyšší viskozita než vzorek, aby byla jasně zřetelná hranice tekutých fází (Scholl 1963).

Extrakce podtlakem byla modifikována i na extrakci přímo v kóru. Na tuto metodu se používala polyetylenová trubka obsahující bavlněnou přízi. Jeden konec trubky byl vložen do kóru a druhý konec ústil do láhve s gumovou zátkou. Otevřením ventilu na láhvi vznikl podtlak, který způsobil nasávání vody. Délka vzorkování závisela na složení sedimentu, ale průměrně na 5 ml bylo potřeba 2-3 dny (van Raaphorst and Brinkman 1984).

### 2.2.1.2. Přímé metody pro odběr pórové vody

Přímé metody, jsou takové metody, kdy se nepoužívá vyjmutí sedimentu a následné ex situ zpracování. Pórová voda je odebírána přímo ve svém přirozeném prostředí. To s sebou nese mnoho nevýhod, ale hlavně výhody. Největší z nich jsou minimalizace disturbance sedimentu, úplné odstranění teplotních změn v sedimentu a hlavně snížení působení kyslíku (Fanning & Pilson 1971, Ho and Lane 1973).

Od 70. let minulého století, kdy byla poprvé použita in situ metoda, začaly převládat přímé metody vzorkování pro jejich menší náročnost na vybavení a finance.

#### Přímé sání

Jako první mezi přímými metodami by se dalo označit zařízení fungující na principu filtrace pórové vody z nezpevněného sedimentu. Toto zařízení se montovalo přímo na sondu nebo kórový barel a hydrostatickým tlakem procházela pórová voda skrz třívrstvou síť z nerezové oceli, která zachytávala prvky obsažené ve vodě (Barnes 1973).

Whiticar (1982) poupravil zařízení od Barnes (1973) tím, že nahradil některé části v přístroji, a tak mohl sloužit k odebírání celé pórové vody a dokonce i plynů v ní obsažených.

Sayles et al. (1973) byli další, kdo sestrojili zařízení, které vypadalo jako veliká jehla. Po celé délce bylo šest otvorů překrytých filtrem a přístroj mohl být vsunut do sedimentu až 2 m hluboko. Nasávání vody zajišťoval hydraulický tlak až 34 atm. a děj trval asi 30 minut. Tento přístroj vykazoval nepřesné určení hloubky a disturbance při vsunutí sondy do sedimentu a tak se mohla voda nad sedimentem dostat až do sedimentu a zkreslit výsledky (Sayles 1979).

Jak už se stalo mnohokrát předtím i do této skupiny patří zařízení, která byla běžně používána zcela jinak. Jde o propustný keramický vzorkovač a Teflonový® vzorkovač. Obojí se používalo k získávání živin z půdy, a poté se začaly také používat k in situ vzorkování pórové vody ze sedimentu (Zimmermann et al. 1978).

Přesto, že tyto metody sloužily dobře k odebírání půdních živin, ve vodním prostředí se ukázaly jejich dva hlavní nedostatky. Výsledky z těchto vzorkovačů měly značnou variabilitu způsobenou heterogenitou prostředí a pro každou hloubku byl potřeba další přístroj.



I tyto problémy však byly překonány a to dokonce stejnou skupinou, když vyvinuli zařízení schopné odebírat vzorky pórové vody ve čtyřech hloubkách sedimentu (Montgomery et al. 1981).

O rok později bylo sestrojeno podobné zařízení, které odebíralo vzorky ze čtyř i více hloubek a tyto hloubky se lišily od 10 do 20 cm. Vzorek se získával pomocí PVC trubek napojených na pomalou peristaltickou pumpu. Rychlost získávání vzorku byla 400 ml za hodinu (Hertkorn-Obst et al. 1982).

V roce 1979 bylo sestrojeno velmi jednoduché zařízení na principu 3 mm úzké sondy a 1 mm úzké kapiláry. Sonda se zavedla do sedimentu a kapilára vedla od sondy až k injekční stříkačce, která zajistila odebírání pórové vody. Toto zařízení sloužilo pro vzorkování písčitých sedimentů (Goodman 1979).

Stejný princip byl použit u jiného přístroje. Ten byl sestrojen k odebírání vzorků ze známé hloubky sedimentu. Základem byl rám z nerezové oceli, ke kterému se dalo připojit až deset sond. Doba odebírání vzorků trvala asi jeden den (Brinkman et al. 1982).

Se stále většími nároky na přesnost hloubky a získání reprezentativnějších vzorků se začalo využívat pomoci potápěčů, kteří odebírali vzorky pomocí plastické injekční stříkačky a dlouhých jehel, které byly na tuto stříkačku připevněny (Bauer et al. 1988).

Watson and Frickers (1990) sestrojili zařízení pro získávání pórové vody z oblasti mezi přílivem a odlivem. Nasávání vzorku bylo řízeno podtlakem. Jediné limitace tohoto přístroje byly vyšší pořizovací náklady.

Seeberg-Elverfeldt et al. (2005) zapojili do vzorkování pórové vody další zařízení, původně určené pro vzorkování půdních průsaků, a uzpůsobili ho pro tyto podmínky. Novější zařízení bylo schopno po dlouhou dobu odebírat vzorky pórové vody včetně plynů v ní obsažených. K odebírání vzorků docházelo pomocí Rhizon®, které jsou distribuovány firmou Rhizosphere Research Product nebo Eijkelkamp, a peristaltické pumpy. Rhizony mají natolik malý průměr, že dochází k minimální disturbanci sedimentu, a mají také malý mrtvý objem. Díky inertnímu materiálu, ze kterého byly vyrobeny byly minimalizovány sorpční procesy.

## Dialýza

Dialýza je proces přenosu látek přes polopropustnou membránu řízený difúzí. K přenosu dochází, dokud není dosaženo rovnováhy na obou stranách membrány. Zde se jedná o difúzi ve vodním prostředí.

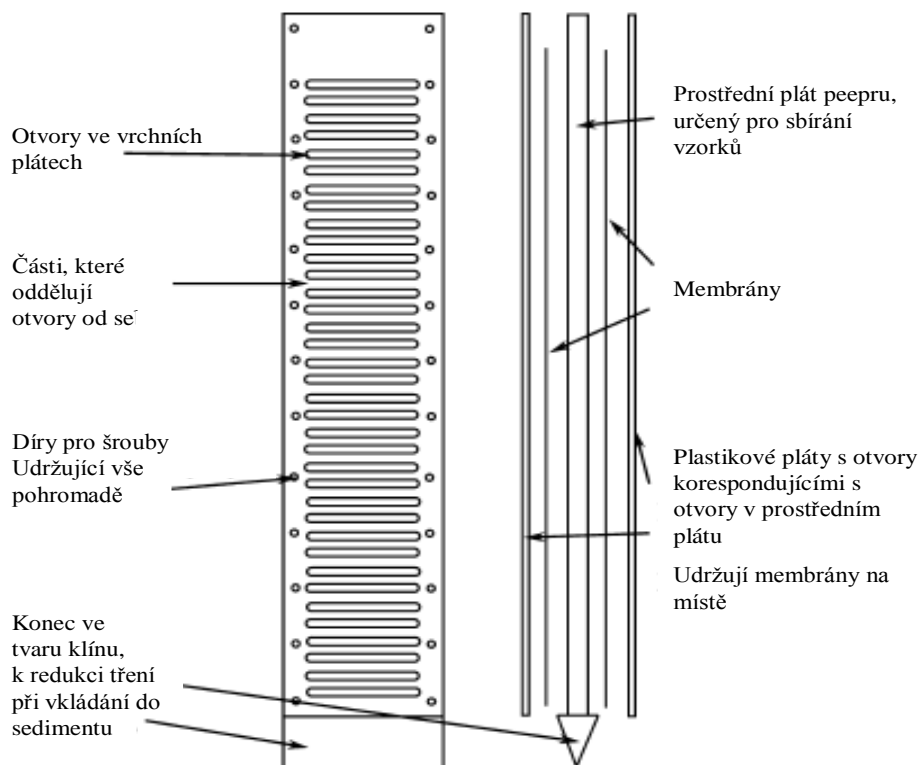
První, kdo použili tuto metodu, byli Mayer (1976) a Hesslein (1976). Přestože se jedná o stejnou metodu a stejný rok, kdy byla tato metoda oběma autory publikována, v zásadě se lišila.

Mayer (1976) používal dialyzační vak, který vložil do sedimentu a nechal proběhnout ustálení rovnováhy mezi destilovanou vodou ve vaku a pórovou vodou v sedimentu. Po vyndání byl vak rozříznut a obsah přelit do vzorkovací nádoby. V případě potřeby hloubkového profilu, byla použita děrovaná trubka z Lucite® rozdělená na komory, z nichž každá obsahovala dialyzační vaky. Jedna či dvě komory byly nechány nad sedimentem pro určení celkového hloubkového profilu.

Hesslein (1976) oproti tomu použil tři strojově opracované tabulky akrylového plastu. Prostřední v sobě měla vyvrtané komory pro sbírání vzorků. Jedna z krajních tabulek sloužila k překrytí komor, aby zamezila úniku vzorků, druhá krajní tabulka měla vyvrtané otvory korespondující s prostředním plátem. Mezi prostřední a krajní plát s otvory se vkládala membrána (Obr. 2). Toto zařízení se s malými obměnami používá dodnes a je známo pod názvem peeper.

Podobný princip jako u peeperu byl použit u přístroje od Höpner (1981), který byl sestaven pro odebrání vzorků z aerobního a jemnozrnného sedimentu. Jde o tyč z nerezové oceli s otvory, které jsou překryty membránou a jsou mechanicky chráněny pláty z nerezové oceli.

Došlo i k modifikaci techniky od Mayer (1976) nazývanou „cylindrická dialyzační sonda“. Sonda měla dřevěný obal z Lexanu® a dovnitř byly vloženy vialky. Každá s vlastním otvorem, přes který byla nalepena membrána. Vialky byly plněny destilovanou a odkysličenou vodou a po odstranění ze sedimentu na ně bylo nasazeno ještě gumové septum.



**Obr. 2.:** Schématický obrázek peeperu. Změna oproti Hesslein (1976) je v otvorech na obou stranách peeperu. Přepracováno podle van Oploo et al. (2008).

## Difúze – gely

K získání vzorků touto metodou dochází pomocí již zmíněné difúze. Základem je gel nejčastěji vložený do plastového obalu s různě velkým otvorem překrytým membránou. Analyty prochází skrz tuto membránu a dochází buď k ustálení rovnováhy mezi vodou obsaženou v gelu (až 98%) a pórovou vodou v sedimentu nebo je do vzorkovacího systému zařazen ještě proužek pryskyřice, který zachytává a akumuluje látky procházející membránou do gelu, a tudíž není difúze ničím zastavena a pokračuje dokud nedojde k odstranění zařízení ze sedimentu.

### a) DGT – diffusive gradient in thin-films (=difúzní gradient v tenké vrstvě)

Jeden z prvních vzorkovacích systémů, ve kterém byl použit gel, je takzvaná „vzorkovací tyčinka“. Gel sloužil k vizuálnímu semikvantitativnímu stanovení hloubkové distribuce látek v sedimentu. To je zajištěno smočením gelu v látce, která reaguje s analyty v sedimentu. Metoda

byla popsána Reeburgh and Erickson (1982) a používána k vytvoření sulfidového profilu v anoxických mořských sedimentech. K tomuto účelu byl gel namočen v octanu olovnatém. Během 30 minut byla tato tyčinka schopna dosáhnout až 90% rovnováhy se sedimentem a koncentrace analytu se vypočítala podle stupně zabarvení, času vzorkování a koncentrace octanu.

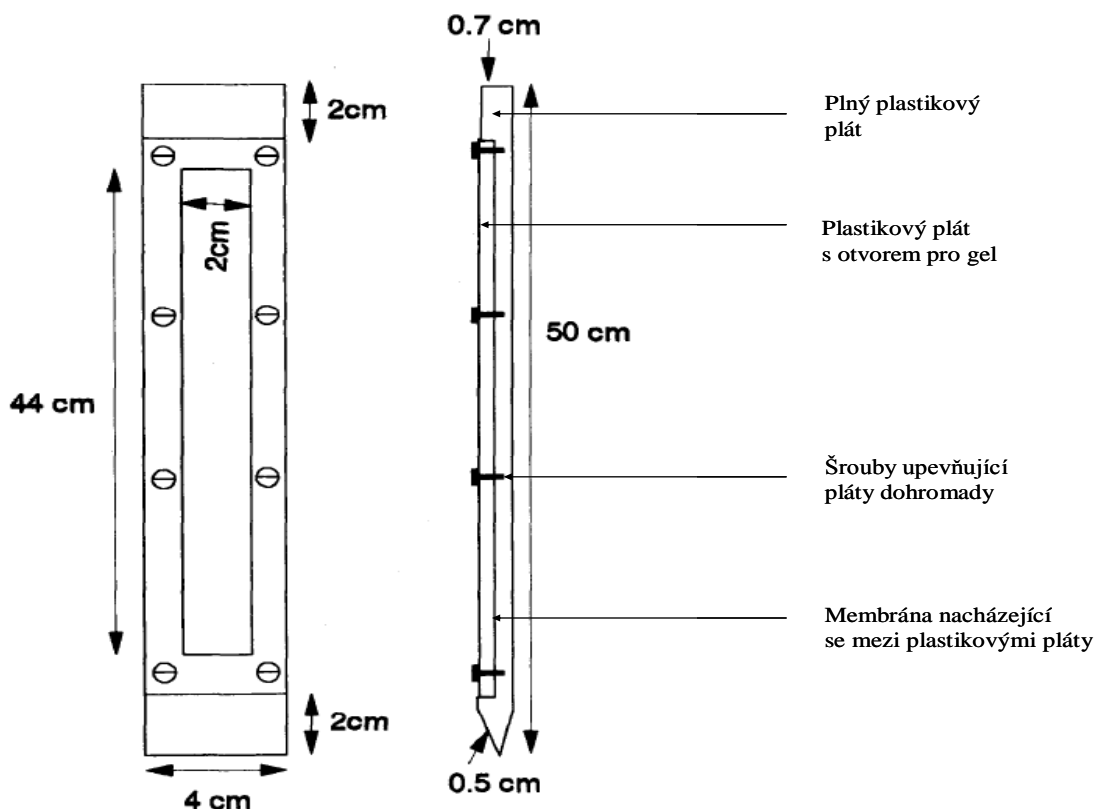
Davison and Zhang (1994) použili podobný princip. Gel s plátkem pryskyřice pokrytý membránou vložili do sedimentu, kde začalo docházet k volné difúzi a pryskyřice zachycovala látky procházející gelem. Čím déle byl gel v sedimentu, tím více bylo látky zachycené na pryskyřici. Vypočtením difúzního koeficientu vycházelo, že při exponování 24 hodin se v pryskyřici zachytilo 864x více látek, než bylo v pórové vodě.

#### **b) DET – diffusive equilibration in thin-films (=difúzí vytvořená rovnováha v tenké vrstvě)**

DET je anglická zkratka pro diffusive equilibration in thin-films neboli difúzí vytvořená rovnováha v tenké vrstvě. Znamená to, že díky difúzi dochází k rovnováze mezi vodou obsaženou v gelu v DET a pórovou vodou, kdy látky z pórové vody přechází do gelu skrz membránu. Gel je většinou tenký kolem 1 mm a tak je získání rovnováhy otázkou několika minut či hodin (Davison et al. 1991, Harper et al. 1997, Krom et al. 1994, Morford et al. 2003, Mortimer et al. 1998).

DET se skládá ze dvou plastových plátů, membrány, gelu a šroubů držících vše pohromadě. Jeden z plastových plátů má v sobě otvor pro gel. Druhý je plný se zašpičatělým koncem, který umožňuje lepší umístění v sedimentu (Obr. 3).

Tato metoda sloužila původně hlavně pro studium distribuce rozpuštěného železa v sedimentu. Na základě výpočtu difúzního koeficientu měla být rovnováha utvořena během 42 minut (Davison et al. 1991).



Obr. 3: Schématický obrázek DET. Vytvořeno podle Krom et al. 1994.

### 2.2.1.3. Srovnání metod

Sedimenty byly dlouho považovány za uniformní a teprve po prokázání jejich heterogenity se začala vytvářet zařízení schopná tuto heterogenitu ukázat. Při malém rozlišení se totiž může maximum projevit pouze jedinou koncentrací a tudíž může být posouzeno jako analytická chyba (Fones et al. 1998).

**Centrifugace** a **lisování** jsou dodnes poměrně často používané metody. Obě vyžadují vyjmutí sedimentu z vodního ekosystému a proto se u nich vyskytuje mnoho nevýhod.

Jednou z největších je vstup kyslíku do vyňatého sedimentu, kterému se předchází manipulací se sedimentem v boxu s  $N_2$  atmosférou (Saager et al. 1990). Běžné lahve s  $N_2$  však obsahují 0,01% kyslíku. Toto množství se může zdát velmi malé, ale vzhledem k rozpustnosti kyslíku a dusíku ve vodě (rozpustnost při 20 °C; 101 325 Pa, kyslík 44,3 mg l<sup>-1</sup> a dusík 19,3 mg l<sup>-1</sup> – Pitter 1995<sup>1)</sup>) se přesto mohou některé látky oxidovat a to úměrně k době manipulace

<sup>1)</sup>skutečná koncentrace kyslíku ve vodě je daleko nižší, protože dusíku je v atmosféře větší množství ( $N_2$  78%;  $O_2$  21%) a tak vytváří vyšší parciální tlak než kyslík

v této atmosféře. Další nevýhodou je změna látek při změně tlaku (Saager et al. 1990).

Největší problém je však poměrně malé rozlišení vertikálního profilu (Teasdale et al. 1995)

Na druhou stranu centrifugací se dá získat velký objem vzorku za poměrně krátkou dobu kolem 5 minut (Saager et al. 1990). U lisování tyto výhody nejsou, protože získání vzorku je zdouhavé (30-60 minut - Saager et al. 1990), ale existují metody schopné lisovat celý odebraný sloupec sedimentu (Bender et al. 1987).

Podle jejich vlastností jsou tudíž vhodné k použití na zpevněném sedimentu, kdy je třeba poměrně rychlého odebrání vzorků, a v případě centrifugy, kdy je potřeba velkého množství vzorku. Jsou však použitelné jen u látek, u kterých není potřeba podrobnějšího profilu, než jsou centimetry.

**Přímé sání** nevyžaduje vyjmutí sedimentu z jeho přirozeného prostředí. Proto mohou být vzorky odebrány pomocí injekční stříkačky přímo z přirozeného prostředí, čímž odpadá mnoho problémů s tím spojených.

Hlavní výhoda této metody je, že se dá použít na hrubozrnném sedimentu (centrifuga a lisování nelze), avšak toto je i nevýhoda, protože na jemnozrnném sedimentu dochází k ucpávání filtru (Teasdale et al 1995).

Metody **Peeper**, **DET** a **DGT** mají nejlepší rozlišení vertikálního profilu od 0,2 mm až po 1 cm, rychlé a jednoduché získání vzorku ze sestavy a také nízké pořizovací a provozní náklady.

Peeper má však oproti výše zmíněným metodám velkou nevýhodu a tou je poměrně dlouhá doba získání vzorku. Tento proces trvá v řádu dnů a týdnů (Reeburgh & Ericsson 1981, Seeberg-Elverfeldt et al. 2005), což je velký problém v hluboké vodě (Saager et al. 1990). Doba je ovlivněná objemem vody v peeperu, protože vyčerpává ionty z pórové vody ve své blízkosti a závisí na složení sedimentu a na jeho vlastnostech, za jak dlouho se tyto ionty doplní. To je zajištěno tokem iontů po koncentračním spádu, desorpce a rozpouštěním (Teasdale et al 1995).

Kvůli různému složení sedimentu se velmi liší čas potřebný ke získání vzorku a tento čas je obtížné určit, proto může docházet k neúplnému ustálení rovnováhy mezi vodou v peeperu a pórovou vodou (Bufflap & Allen 1995, Teasdale et al. 1995)

**DET** (=Diffusive Equilibration in Thin-films) a **DGT** (=Diffusive Gradient in Thin-films) poskytují nejpřesnější rozlišení ze zde uvedených metod a to až 200  $\mu\text{m}$  (Zhang & Davison 1999).

Tato práce je zaměřena na metodu DET. Je snadná na přípravu a použití. Má velmi krátkou dobu vzorkování a také největší možné rozlišení profilu. Kyslík se v sedimentu většinou dostane jen do hloubky 2-3 mm, kde jsou obsaženy velké koncentrace snadno oxidovatelných látek (Simpson et al 2005). Takže ve velmi malém intervalu hloubek dochází k mnoha reakcím (nejen kyslíkem indukovaných) a právě u těchto reakcí je žádoucí jejich „zachycení“ ve vertikálním koncentračním profilu.

### **2.3. Důvody ke zkoumání vlastností DET**

Je mnoho různých složení gelů a podle toho se odvíjí jejich vlastnosti: maximální hydratace 84-98%, velikost pórů uvnitř gelu, elasticita a zvětšování objemu při hydrataci (Davison et al. 1994, Zhang & Davison 1999).

Gely se většinou skládají z monomeru (akrylamid), crosslinkeru (agarosový crosslinker, N,N'- metylen- bis- akrylamid, zkratka Bis), katalyzátoru (TEMED – tetrametyl-etylen-diamin) a iniciátoru (nejčastěji persíran amonný a nebo persíran sodný). Podle toho se mění i jejich příprava. Nejčastěji se smíchá monomer a crosslinker a poté se přidá katalyzátor a iniciátor. Po odlití do formy se podle složení gel nechá tuhnout při pokojové teplotě (Bis) nebo se dá do pece o teplotě kolem 40 °C na 15-60 minut (agarosový crosslinker). Poté se všechny gely vloží do destilované vody k vymytí látek z katalyzátoru a iniciátoru, které v gelu zůstaly. Zcela rozdílný je agarózový gel připravený z agaru (Shuttleworth et al. 1999, Krom et al. 1994, Davison et al. 1994, Fones et al. 1998, Zhang & Davison 1999, Campbell et al. 2008).

Když se vezme v úvahu, že mohou být různé koncentrace látek použitých na výrobu gelu, tak vychází libovolný počet kombinací a tudíž i vlastností.

## 3. Metodika

### 3.1. DET

Gel pro DET byl připraven podle Zhang & Davison (1999) a upraven pro podmínky této práce.

Při přípravě 50 ml gelu bylo použito 25 ml směsi 15 % akrylamidu a 0,6% crosslinkeru (Bis), 150  $\mu$ l 10% persíranu amonného a 50  $\mu$ l TEMEDu. Vzniklý roztok byl opatrně, tak aby se zabránilo vzniku nežádoucích bublin, vpraven mezi dva skleněné pláty s vymezenou vzdáleností 2 mm, tím byla určena tloušťka gelu. Po ztuhnutí byl gel vložen do destilované vody a ta byla 7x vyměněna. Tento krok sloužil k plné hydrataci gelu a k vymytí TEMEDu a persíranu amonného, kteří zůstali po vytvoření gelu v nadbytku. Gel byl následně nařezán na velikost 23 x 88 mm, což odpovídalo velikosti okénka v jednom z plátů DET a vložen do sestavy. V sestavě byl gel překryt polyethylensulfonovou membránou o porozitě 0,4  $\mu$ m.

Obsah vody v tomto gelu se pohyboval v rozmezí 89-91 %, což bylo zjištěno gravimetricky z rozdílu hmotností před a po vysušení při teplotě 105 °C.

Další manipulace s gelem byla prováděna podle daného pokusu.

### 3.2. Vlastní pokusy s DET

#### 3.2.1. *Kinetika ustálení rovnováhy v gelu*

Schématické znázornění tohoto pokusu se nachází v Příloze I.

#### **První část pokusu: Ustálení rovnováhy mezi gelem v DET a roztokem**

Pět sestav DET bylo vloženo do roztoku (vytvořeného rozpuštěním pěti sloučenin v destilované vodě, viz. Tab. 1) a po uplynutí 0, 2, 4, 8, 24 hodin byly postupně vyjmuty. Každou uvedenou hodinu byla vyjmuta jedna sestava DET. U 0 hod nebylo DET do roztoku vloženo vůbec.

Poté byla sestava rozebrána a gely rozřezány napříč na proužky o šířce 5 a 10 mm. Proužky byly poté vloženy do předvážených lahviček a znovu zváženy, kdy rozdíl činil váhu



gelu. Následně bylo ke gelu přidáno 10 ml destilované vody a docházelo ke zpětné difúzi (tzv. zpětnému ustálení rovnováhy), tentokrát vedené z gelu do destilované vody. Po 20 hodinách byly gely z lahvíček vyjmuty a vzniklé vzorky odebrané z roztoku vody analyzovány.

**Tab. 1:** Koncentrace iontů v roztoku a sloučeniny, ze kterých byly tyto ionty uvolněny rozpuštěním v destilované vodě.

| ionty                           | koncentrace (mg l <sup>-1</sup> ) | sloučeniny                                    |
|---------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------|
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  | 5                                 | NaNO <sub>3</sub>                             |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>   | 30                                | MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O        |
| Cl <sup>-</sup>                 | 30                                | CaCl · 2 H <sub>2</sub> O, NH <sub>4</sub> Cl |
| P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | 3                                 | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>               |

### **Druhá část pokusu: Ustálení rovnováhy mezi vodou v gelu a destilovanou vodou**

Čtyři sestavy DET byly vloženy do roztoku a po 20 hodinách vyjmuty. Poté byly rozebrány, gel ze sestavy odstraněn a nařezán na proužky o šíři 5 a 10 mm. Tyto byly vloženy do předvážených lahvíček a znovu zváženy. Rozdíl činil váhu gelu. Následně bylo ke gelu přidáno 10 ml destilované vody a došlo ke zpětné difúzi (tzv. zpětné ustálení rovnováhy), tentokrát vedené z gelu do destilované vody. Proužky byly po vložení do lahvíček odstraněny a to po uplynutí 2, 4, 8 a 24 hodin.

Zde odstraněné proužky gelu byly opětovně vloženy do nových předvážených lahvíček a došlo ke zvážení. Do lahvíček se poté přidalo 10 ml vody a po 20 hodinách byl gel odstraněn. Tímto proběhlo doextrahování látek z gelu.

Ve vzorcích pórové vody byly analyzovány ionty N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a Cl<sup>-</sup> a reaktivní rozpuštěný fosfor (RRP).

### ***3.2.2. Vliv způsobu přípravy a porovnání DET s jinou konvenční metodou***

Schématické znázornění tohoto pokusu se nachází v Příloze II.

Do kádinky s destilovanou vodou bylo vloženo dvanáct sestav DET a týden docházelo v uzavřeném systému k probublávání dusíkem. Poté byla naměřena nulová koncentrace kyslíku ve vodě.

Následně byla kádinka překryta potravinovou folií a za stálého míchání na míchadle docházelo k pomalému pronikání kyslíku přes folii. Ta byla použita pro zpomalení průchodu kyslíku, jeho rozpuštění v destilované vodě a umožnění průniku dovnitř gelu v DET. Při dosažení koncentrace kyslíku 0, 1, 2, 4 mg l<sup>-1</sup> byly vždy 3 sestavy DET postupně vyjmuty a vloženy do homogenizovaného sedimentu.

Další dvě sestavy DET nebyly v kádince s řízenou koncentrací kyslíku, ale skladovány v otevřené kádince s destilovanou vodou o koncentraci kyslíku 8 mg l<sup>-1</sup>. Tyto sestavy DET byly rovněž vloženy do sedimentu.

Sediment byl cca 3 měsíce před pokusem odebrán do 10 litrové nádoby, mícháním homogenizován a za stálého provzdušňování vody nad sedimentem ponechán v klimaboxu při teplotě 10 °C. Cílem přípravy sedimentu bylo získání horizontálně homogenního materiálu s dobře vyvinutým vertikálním gradientem pórové vody.

Sestavy DET byly v sedimentu ponechány 20 hodin. Poté došlo k jejich vyjmutí, gely byly odstraněny ze sestavy a nařezány na proužky o šířce 10 mm. Ty byly vloženy do předvážených lahvíček a opět zváženy, přičemž rozdíl činil váhu gelu. Do lahvíček bylo přidáno 10 ml destilované vody.

Po 20 hodinách byly gely vyndány z lahvíček a přendány do zkumavek. Zde se k proužkům gelu přidalo 8 ml zředěné kyseliny chloristé (původně 70%, ředěná nalitím 14 ml do 1000 ml destilované vody). Ta rozpustila sraženiny železa vzniklé v gelu působením kyslíku, který se do gelu dostal při manipulaci s ním na vzduchu (vyndání ze sedimentu, řezání na proužky, extrakce analytů z gelu). Po 20 hodinách byly gely ze zkumavky odstraněny.

Ionty ze sraženin rozpuštěných kyselinou vytvořily společně s ní další vzorek. Ten byl po vyjmutí gelu okamžitě analyzován.

Z jednoho proužku gelu tímto vznikly dva vzorky odebrané z pórové vody a to vzorek v destilované vodě (dále označován s příponou „vodá“), ve kterém byly stanoveny koncentrace

rozpuštěného reaktivního fosforu ( $RRP_{\text{voda}}$ ), celkového rozpuštěného fosforu ( $VP_{\text{voda}}$ ), celkového železa ( $Fe_{\text{voda}}$ ), síranů ( $SO_4^{2-}$ ) a dusičnanů ( $N-NO_3^-$ ).

A druhým vzorkem byl vzorek v kyselině chloristé (dále označován s příponou „gel“), ve kterém byly stanoveny koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu ( $RRP_{\text{gel}}$ ), celkového rozpuštěného fosforu ( $VP_{\text{gel}}$ ) a celkového železa ( $Fe_{\text{gel}}$ ).

### 3.2.2.1. Peeper

Sestavení peeperu bylo prováděno v hlubokém tácu s destilovanou vodou, aby se předešlo ulpění nežádoucích vzduchových bublin uvnitř zařízení. Tím také bylo zajištěno naplnění komůrek destilovanou vodou. Před vložením do sedimentu byl peeper ponechán v destilované vodě bublané  $N_2$  pro odstranění kyslíku.

Peeper byl vložen na týden do stejného homogenizovaného sedimentu jako sestavy DET. Poté byl vyndán, omyt od hrubých nečistot a co nejrychleji z něj byla odebrána pórová voda.

Vzorek byl získán protržením membrány pipetou, vysáním veškeré tekutiny z prostoru komůrky a jejím nalitím do lahvíček. Rozhraní mezi sedimentem a vodou se rozpoznalo podle nečistot na peeperu a jejich zbarvení.

V odebraných vzorcích pórovové vody byly stanoveny koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu (RRP), celkového rozpuštěného fosforu (VP) a celkového železa Fe.

### 3.2.3. *Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu*

Schématické znázornění tohoto pokusu se nachází v Příloze III.

Sediment použitý v tomto pokusu byl mícháním zhomogenizován a poté byly odebrány vzorky pórové vody (Bub0) a to pomocí 4 sestav DET. Dále byl sediment rozdělen do 12 uříznutých dolních polovin PET lahví, k nimž byla následně připevněna horní polovina.

Šest PET lahví bylo ponecháno bez ovlivnění (an). V dalších šesti lahvích byl přiváděn vzduch do vody nad sedimentem (ox).

Po uplynutí 30 dnů (Bub1) a 60 dnů (Bub2) byly odebrány další vzorky pórové vody. Vždy bylo použito 6 sestav DET a to ve třech PET lahvích ox a ve třech PET lahvích an.

Před použitím byly sestavy DET skladovány ve vodě v boxu s dusíkovou atmosférou a poté byly vkládány do sedimentu na 20 hodin. Poté byly gely vyjmuty z DET a ihned rozřezány na proužky o šíři 5 mm. Ty byly vloženy do předvážených lahvíček a došlo k opětovnému zvážení. Rozdíl hmotnosti činil váhu gelu. Poté se do lahvíčky přidalo 10 ml destilované vody.

Po 20 hodinách byly gely vyndány z lahvíček a přendány do zkumavek. Zde se k proužkům gelu přidalo 8 ml zředěné kyseliny chloristé (původně 70%, ředěná nalitím 14 ml do 1000 ml destilované vody). Ta rozpustila sraženiny železa vzniklé v gelu působením kyslíku, který se do gelu dostal při manipulaci s ním na vzduchu (vyndání ze sedimentu, řezání na proužky, extrakce analytů z gelu). Po 20 hodinách byly gely ze zkumavky odstraněny.

Ionty ze sraženin rozpuštěných kyselinou vytvořily společně s ní další vzorek. Ten byl po vyjmutí gelu okamžitě analyzován.

Z jednoho proužku gelu tímto vznikly dva vzorky odebrané z pórové vody a to vzorek v destilované vodě (dále označován s příponou „voda“), ve kterém byly stanoveny koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu ( $RRP_{\text{voda}}$ ), celkového rozpuštěného fosforu ( $VP_{\text{voda}}$ ), celkového železa ( $Fe_{\text{voda}}$ ), síranů ( $SO_4^{2-}$ ) a dusičnanů ( $N-NO_3^-$ ).

A druhým vzorkem byl vzorek v kyselině chloristé (dále označován s příponou „gel“), ve kterém byly stanoveny koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu ( $RRP_{\text{gel}}$ ), celkového rozpuštěného fosforu ( $VP_{\text{gel}}$ ) a celkového železa ( $Fe_{\text{gel}}$ ).

Pokus byl částečně prováděn v laboratořích Botanického ústavu AV ČR, v.v.i. v Brně. Kde byly také odebírány vzorky, ale další práce, počínaje vyjmutím gelů z lahvíček a přesunutím do zkumavek, byla prováděna v laboratoři Hydrobiologického ústavu v Českých Budějovicích.

### 3.3. Analýzy

#### Kinetika ustálení rovnováhy v gelu

Vzorky  $N-NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$  a  $Cl^-$  byly detekovány na iontovém chromatografu. Před analýzou musely být nejdříve upraveny filtrací přes filtr o porozitě 0,2  $\mu\text{m}$ .

Stanovení RRP bylo provedeno kolorimetricky podle metody Murphy & Rilley (1962) na spektrofotometru Beckman DU 650.

U všech iontů byla počítána výtěžnost metody DET, tj. kolik procent skutečné koncentrace iontů bylo získáno pomocí této metody. Výsledek je udáván v procentech a jeho směrodatnou odchylkou v procentech.

### **Vliv způsobu přípravy a porovnání DET s jinou konvenční metodou**

Ionty  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{N-NO}_3^-$  odebrané pomocí metody DET byly přefiltrovány přes filtr o porozitě 0,2  $\mu\text{m}$  a jejich stanovení bylo prováděno na iontovém chromatografu.

Vzorky pórové vody, získané pomocí peeperu byly nejdříve naředěny a poté v nich byly stanoveny Fe, RRP a VP. Tento krok musel být prováděn, protože látky byly obsaženy v koncentraci, přesahující detekční limity přístroje FIA, na kterém byly tyto látky analyzovány.

Před analýzou byly vzorky z peeperu (Fe, RRP a VP) dále upravovány stejně jako vzorky z DET pro analýzu  $\text{Fe}_{\text{voda}}$ ,  $\text{RRP}_{\text{voda}}$  a  $\text{VP}_{\text{voda}}$ .

Úprava vzorků odebraných metodou DET:

- **Vzorky  $\text{RRP}_{\text{voda}}$  a  $\text{RRP}_{\text{gel}}$**  byly bez dalších úprav analyzovány. Při analýze bylo použito 3 ml vzorku.
- **Vzorky  $\text{VP}_{\text{voda}}$  a  $\text{Fe}_{\text{voda}}$**  byly upravovány společně. Nejprve bylo 5 ml vzorku pipetou přesunuto do zkumavky, kam se vzápětí přidalo 0,25 ml kyseliny chloristé ( $\text{HClO}_4$ ; 28 ml 70%  $\text{HClO}_4$  do 1000 ml destilované vody). Zkumavka byla následně vložena do mineralizačního bloku, kde byla ze vzorku odpařena veškerá voda (3 hod, při 110 °C) a poté následovala mineralizace (40 min, při 170 °C). Po ochlazení vzorku bylo do zkumavky přidáno 5 ml destilované vody a jako poslední byla provedena hydrolýza (45 min, při 100 °C).
- **Vzorky  $\text{VP}_{\text{gel}}$  a  $\text{Fe}_{\text{gel}}$**  byly upravovány společně. Jejich úprava byla stejná jako u  $\text{VP}_{\text{voda}}$  a  $\text{Fe}_{\text{voda}}$ , ale nebyla použita  $\text{HClO}_4$ . Nebylo potřeba přidávat kyselinu, která již byla obsažena ve vzorku.

Před analýzou byly vzorky určené na detekování  $Fe_{voda}$ ,  $RRP_{voda}$  a  $VP_{voda}$  a pro analyzování na iontovém chromatografu skladovány 1 až 3 dny v chladniče a zbývající část vzorku byla zmrazena pro další použití.

Analýzy a předchozí úpravy před analýzou byly prováděny dle metod v Tab. 2.

### Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu

Vzorky  $Fe_{voda}$ ,  $Fe_{gel}$ ,  $RRP_{voda}$ ,  $RRP_{gel}$ ,  $VP_{voda}$ ,  $VP_{gel}$ ,  $SO_4^{2-}$  a  $N-NO_3^-$  byly upraveny stejně jako v pokusu Vliv způsobu přípravy a porovnání DET s jinou konvenční metodou.

**Tab. 2:** Výčet použitých metod při stanovování látek v sedimentu a ve vodě nad sedimentem.

| analyzovaná složka       | použitý přístroj     | metoda                | citace                  |
|--------------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
| $Fe_{(gel\ a\ voda)}$    | FIA                  | mineralizace $HClO_4$ | Kopáček et al., 2001    |
| $VP_{(gel\ a\ voda)}$    | FIA                  | mineralizace $HClO_4$ | Kopáček & Hejzlar, 1995 |
| $RRP_{(gel\ a\ voda)}$   | FIA                  |                       | Murphy & Rilley, 1962   |
| $SO_4^{2-}$ , $N-NO_3^-$ | Iontový chromatograf |                       |                         |

Výsledné koncentrace analytů v pórové vodě byly přepočítány pomocí obsahu vody v gelu, hmotnosti gelu (rozdíl hmotnosti lahvičky s gelem a prázdné lahvičky) a množství vody či kyseliny, která byla přidána ke gelovému proužku.

Koncentrace rozpuštěného organického fosforu (OP) ve „vodě a v „gelu“ byla vypočítána po odečtením koncentrace RRP od koncentrace VP ( $VP_{gel} - RRP_{gel} = OP_{gel}$ ;  $VP_{voda} - RRP_{voda} = OP_{gel}$ ).

U lahviček použitých ve všech pokusech byla zjišťována jejich čistota. Nejprve byly naplněny destilovanou vodou a po týdnu se měřila jejich konduktivita. Lahvičky byly použity pouze v případě, že vodivost vody uvnitř byla menší než  $0,5\ \mu S\ cm^{-1}$ . V případě větší vodivosti byly lahvičky znovu naplněny destilovanou vodou a celý postup zopakován.

## 4. Výsledky

### 4.1. Kinetika ustálení rovnováhy v gelu

#### První část pokusu: Ustálení rovnováhy mezi gelem v DET a roztokem

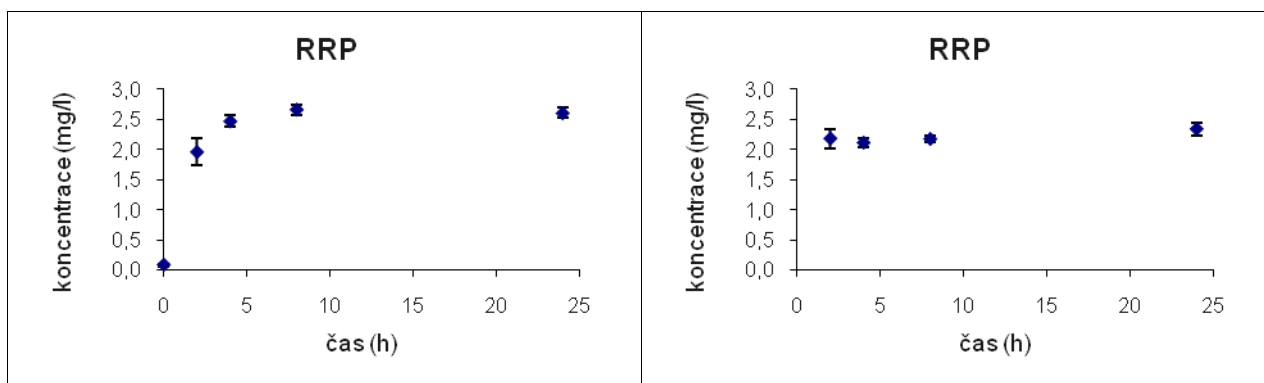
Ustálení koncentrace iontů mezi gelem v DET a roztokem proběhlo během 4 hodin pro  $\text{Cl}^-$  a  $\text{N-NO}_3^-$  a 8 hodin pro  $\text{SO}_4^{2-}$  a RRP (Obr. 4). Ani po 24 hodinách nedošlo ke změně koncentrace analytů.

#### Druhá část pokusu: Ustálení rovnováhy gelem a destilovanou vodou

Ustálení koncentrace iontů mezi gelem a destilovanou vodou proběhlo zdánlivě během 2 hodin pro všechny měřené prvky (Obr. 4).

Při doextrahování se u těchto proužků gelu (vyndaných poprvé po 2 hodinách) objevila vyšší koncentrace analytů. Tato koncentrace byla vyšší než 10 % z koncentrace stejného analytu naměřená při první extrakci (např. koncentrace RRP při první extrakci byla  $2 \text{ mg l}^{-1}$ , při doextrakci byla koncentrace  $0,3 \text{ mg l}^{-1}$  a to představuje 15 % první koncentrace). U dalších vzorků, a to proužků poprvé vyjmutých po 4, 8 a 24 hodinách, se koncentrace měřených analytů pohybovaly v množství, které 10% poprvé naměřené koncentrace nepřevyšovalo.

Ani po 24 hodinách nedošlo ke změně koncentrace analytů.



**Obr. 4:** Grafické znázornění průběhu ustálení koncentrace RRP v čase; mezi destilovanou vodou v DET a roztokem (vlevo) a mezi vodou v DET a destilovanou vodou (vpravo)

Mezi proužky gelů nařezaných na šíři 5 a 10 mm nebyl ani v jedné z částí pokusu prokázán rozdíl v analyzovaných koncentracích.

Výsledky z obou částí pokusu (doba potřebná k ustálení rovnováhy mezi gelem v DET a roztokem a dále mezi gelem a destilovanou vodou) a výtěžnost DET byly shrnuty v Tab. 3 a graficky v Příloze VI.

**Tab. 3:** Doba potřebná k ustálení rovnováhy ( A)do gelu – mezi roztokem a vodou v gelu; B) z gelu – mezi vodou v gelu a destilovanou vodou) a výtěžnost metody DET pro daný analyt.

|                   | Cl <sup>-</sup> | N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | RRP        |
|-------------------|-----------------|--------------------------------|-------------------------------|------------|
| A) do gelu (hod.) | 4               | 4                              | 8                             | 8          |
| B) z gelu (hod.)  | 2               | 2                              | 2                             | 2          |
| výtěžnost (%)     | 105 ± 7         | 104 ± 10                       | 98 ± 6                        | 90,5 ± 4,5 |

## 4.2. Vliv způsobu přípravy a porovnání DET s jinou konvenční metodou

### A) Změna koncentrace analytů se změnou koncentrace kyslíku

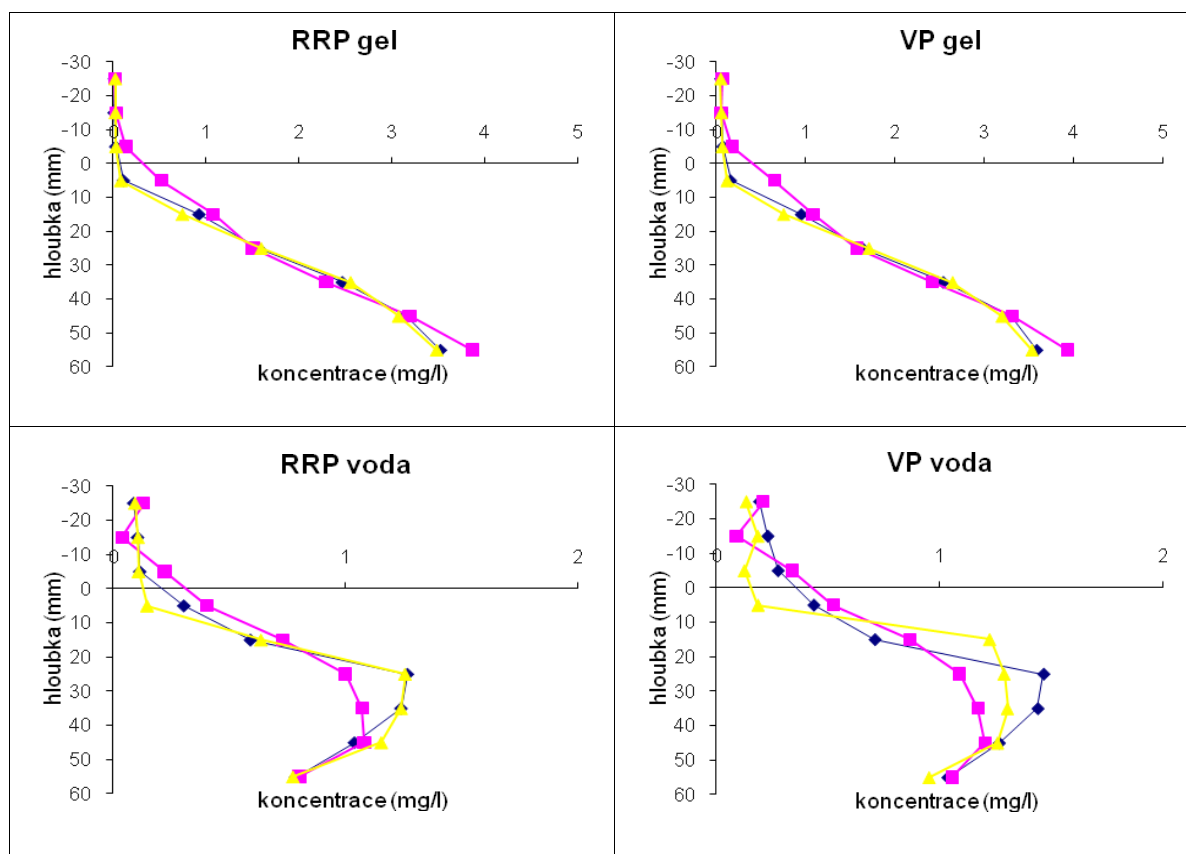
U všech vzorků extrahovaných kyselinou (RRP<sub>gel</sub>, VP<sub>gel</sub>, Fe<sub>gel</sub>, a OP<sub>gel</sub>) a OP<sub>voda</sub> se koncentrace analytů se zvyšující se koncentrací kyslíku uvnitř DET neměnila. Koncentrace dalších vzorků (RRP<sub>voda</sub>, VP<sub>voda</sub>, Fe<sub>voda</sub>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se s narůstající koncentrací kyslíku uvnitř DET zvyšovala. Jejich koncentrace vzrůstala po překročení koncentrace O<sub>2</sub> 1 mg l<sup>-1</sup> pro VP<sub>voda</sub>, 2 mg l<sup>-1</sup> pro RRP<sub>voda</sub>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a 4 mg l<sup>-1</sup> pro Fe<sub>voda</sub>.

Na rozhraní sediment/voda se nad sedimentem vyskytly vyšší rozdíly mezi vzorky odebranými za stejné koncentrace kyslíku v DET. Mimo rozhraní byly tyto rozdíly nižší než 35% (Obr. 5).

Sraženiny Fe/VP, vytvořené při expozici vzorku kyslíkem a následně rozpuštěné v kyselině chloristé (viz. Metodika) , byly vytvořeny v atomárním poměru 4,76.

Grafické znázornění změny koncentrace analytu s nárůstem koncentrace O<sub>2</sub> je uvedeno v Příloze V.





**Obr. 5.:** Vertikální profily koncentrace prvků, které byly odebrány simultánně. V každém grafu jsou zobrazeny tři simultánně odebrané vzorky. Při odebrání vzorků bylo uvnitř gelu v DET  $1 \text{ mg l}^{-1} \text{ O}_2$ . Záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, hloubka nula je rozhraní sediment/voda.

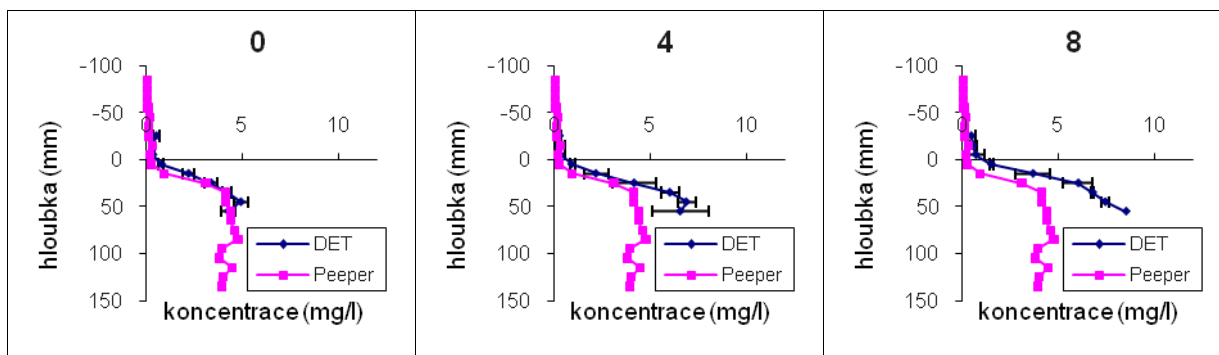
## B) Porovnání koncentrace analytů odebraných pomocí peeperu a DET

Byly srovnány vertikální profily koncentrace sumy železa ( $\text{Fe}_{\text{voda}} + \text{Fe}_{\text{gel}}$ ) a sumy fosforu ( $\text{VP}_{\text{voda}} + \text{VP}_{\text{gel}}$ ) získané metodou DET a peeper. Při koncentraci kyslíku ve vodě uvnitř DET  $0-1 \text{ mg l}^{-1}$  pro VP a  $0-4 \text{ mg l}^{-1}$  pro Fe byly profily DET shodné s peeperem.

Se zvyšující se koncentrací kyslíku ve vodě uvnitř DET se ve srovnání s peeperem začala zvyšovat koncentrace iontů získaných metodou DET (Obr. 6). K tomuto zvýšení došlo až po překročení koncentrace kyslíku  $1 \text{ mg l}^{-1}$  u fosforu a  $4 \text{ mg l}^{-1}$  u železa.

S nárůstem kyslíku uvnitř DET také docházelo ke zvýšení rozptylu koncentrace fosforu mezi jednotlivými opakováními (tj. ve vzorcích se stejnou koncentrací kyslíku uvnitř DET) (Obr. 7).

Grafické porovnání koncentrací sumy železa a sumy fosforu získaných pomocí DET a peeperu jsou v Příloze VI.

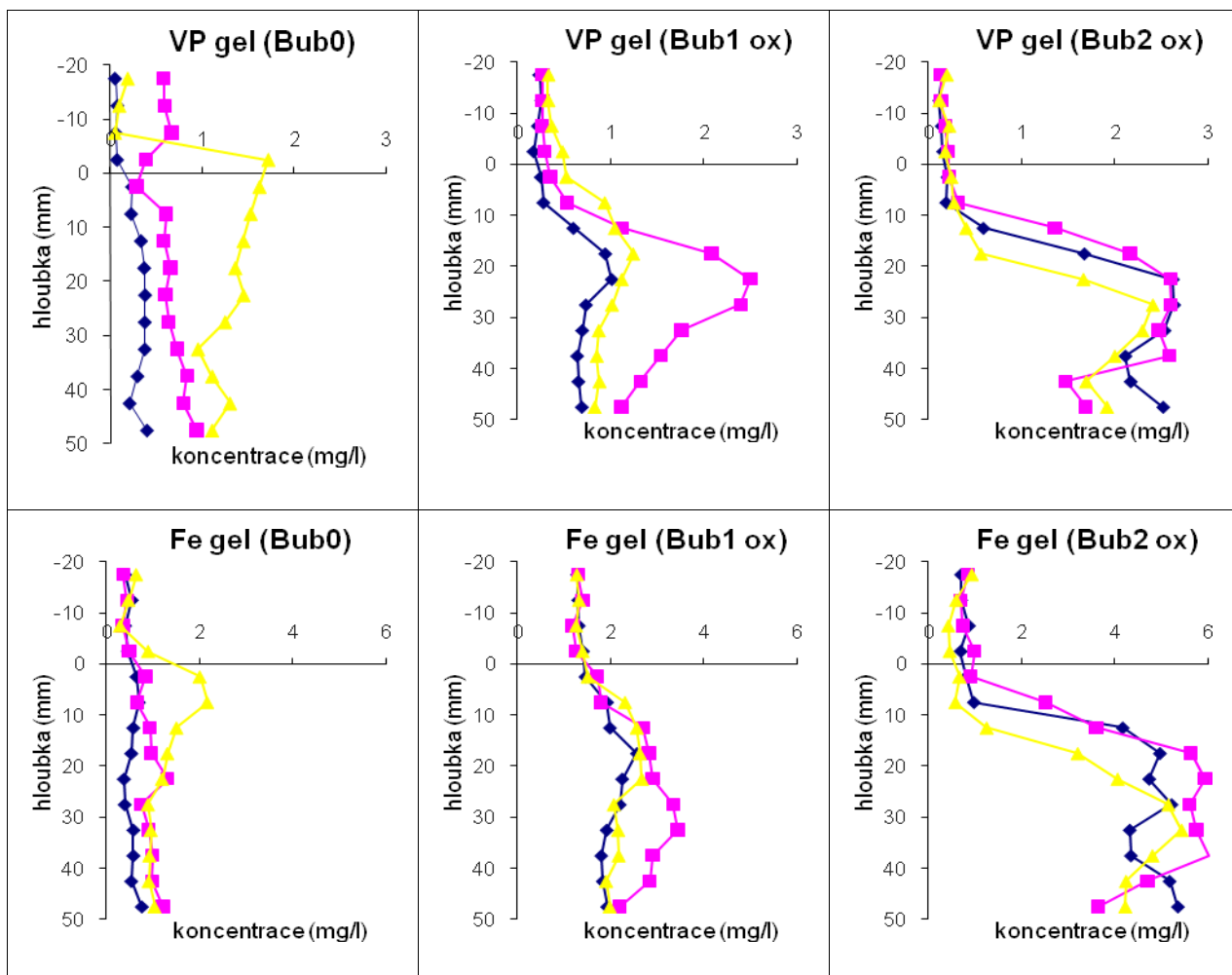


**Obr. 6.:** Srovnání vertikálních profilů koncentrace vzorku VP odebraného pomocí peeperu a VP<sub>voda</sub> odebraného pomocí DET. Uvnitř gelu v DET byla postupně zvyšována koncentrace kyslíku (0, 4, 8 mg l<sup>-1</sup>) a ve vertikálním profilu koncentrace VP<sub>voda</sub> je zanesena směrodatná odchylka. Název grafu je koncentrace kyslíku uvnitř DET v mg l<sup>-1</sup>. Záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, hloubka nula je rozhraní sediment/voda.

### 4.3. Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu

Ve vertikálním profilu některých analytů se vyskytly více jak 45 % rozdíly mezi jednotlivými simultánně provedenými opakováními (Obr. 7. – výjimku tvoří Fe gel (Bub1 ox)). Jedná se o VP<sub>gel</sub> (Bub0, Bub1 ox, Bub2 ox), VP<sub>voda</sub> (Bub2 ox), RRP<sub>gel</sub> (Bub0, Bub1 ox, Bub2 ox), RRP<sub>voda</sub> (Bub1 ox, Bub2 ox), Fe<sub>voda</sub> (Bub2 an, Bub2 ox), Fe<sub>gel</sub> (Bub0, Bub2 an, Bub2 ox). Ostatní analyty měly v celém vertikálním profilu rozdíly menší než 40 % (viz. Obr. 8 - pouze Fe gel (Bub 1 ox)).

Grafické znázornění výsledků pokusu se nachází v Příloze VII.



**Obr. 7:** Vertikální profily koncentrace prvků, které byly odebírány simultánně. Analyty byly vystaveny určitým podmínkám v sedimentu (an – sediment bez přístupu vzduchu, ox – přiváděn vzduch) a byly odebírány po uplynutí určité doby od začátku ovlivňování sedimentu (Bub0 – počátek pokusu, Bub1 – po 30-ti dnech, Bub2 – po 60-ti dnech). Záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, hloubka nula je rozhraní sediment/voda.

## 5. Diskuze

### 5.1. Kinetika ustálení rovnováhy v gelu

Krom et al. (1994) publikovali pokus, při kterém zjišťovali kinetiku ustálení rovnováhy v gelu. Porovnáním parametrů pokusu Krom et al. (1994) a zde provedeného pokusu (Tab. 4) byl zjištěn rozdíl mezi výtěžnostmi metod a dobou potřebnou k ustálení rovnováhy mezi pórovou vodou a gelem a mezi gelem a destilovanou vodou.

**Tab. 4:** Porovnání výsledků zde uvedeného pokusu s pokusem od Krom et al. (1994). Jde o dobu potřebnou k ustálení rovnováhy (do gelu – mezi roztokem a vodou v gelu; z gelu – mezi vodou v gelu a destilovanou vodou) a výtěžnost dané metody.

|                                | do gelu (hod.) |      | z gelu (hod.) |      | výtěžnost    |            |
|--------------------------------|----------------|------|---------------|------|--------------|------------|
|                                | Pokus          | Krom | Pokus         | Krom | Pokus        | Krom       |
| Cl <sup>-</sup>                | 4              | 1-2  | 2             | 0,16 | 105% ± 7%    | 104% ± 4%  |
| N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | 4              | 1-2  | 2             | 0,16 | 104% ± 10%   | 102% ± 2%, |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>  | 8              | 1-2  | 2             | 0,16 | 98% ± 6%     | 101 ± 1%   |
| RRP                            | 8              | 1-2  | 2             | 0,16 | 90,5% ± 4,5% | 89% ± 3%   |

To mohlo být způsobeno tloušťkou gelu nebo jeho složením (Tab. 5), které ovlivňuje množství vody v gelu. Avšak v tomto pokusu nebyl prokázán rozdíl mezi různou šířkou nařezaných proužků.

Tloušťka gelu, šíře proužků a množství vody v gelu jsou velmi důležité parametry. V pokusu provedeném Teasdale et al. (1995) byl posuzován čas k dosažení rovnováhy, a to podle poměru objemu vzorku ku povrchu vystavenému difúzi. Zde platí: čím nižší poměr, tím rychlejší ustálení rovnováhy.

Rozdíl mezi výtěžnostmi metod mohl být způsobem výše uvedenými rozdíly a dále úpravou vzorku Krom et al. (1994), kteří po nařezání a zalití gelu destilovanou vodou, vložili vzorek i s gelem do centrifugy.

**Tab. 5:** Porovnání parametrů zde uvedeného pokusu s pokusem od Krom et al. (1994).

|                                    | Pokus                                | Krom et al.                          |
|------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| tloušťka gelu                      | 2 mm                                 | 1-0,5 mm                             |
| složení gelu                       | 15 % akrylamidu a 0,6 % crosslinkeru | 15 % akrylamidu a 0,3 % crosslinkeru |
| šířka gelových proužků po nařezání | 5 a 10 mm                            | 1-2 mm                               |

Gel byl v dalších pokusech ponechán v sedimentu 20 hodin, protože následkem porozity sedimentů a nepřítomností silnějších proudů (turbulentní pohyby vody (Mortimer 1971)), které se vyskytují ve vodě nad sedimentem docházelo k pomalejšímu toku iontů do gelu (Teasdale et al. 1995), než tomu bylo u provedeného pokusu.

U sledovaných analytů nedošlo ani po 24 hodinách ke změně koncentrace látek. Přesto bylo nutné gel vyndat co nejdříve, jinak by mohlo dojít k vertikální difúzi uvnitř gelu (Harper et al. 1997). To by ovlivnilo vertikální profil koncentrací analytů. Vysoké koncentrace v určitých hloubkách by byly difúzí rozloženy do širšího a nižšího koncentračního vrcholu.

Pro ustálení koncentrace mezi gelem a destilovanou vodou byly 2 hodiny nejkratší doba. Přesto se v doextrakci objevily významné koncentrace analytů. Tento krok proto je nutné provádět minimálně 4 hodiny a déle (prověřené maximum 24 hod.).

## 5.2. Vliv způsobu přípravy a porovnání DET s jinou konvenční metodou

### A) Změna koncentrace analytů se změnou koncentrace kyslíku

Při zvyšování koncentrace kyslíku uvnitř DET docházelo ke zvyšování koncentrace  $RRP_{\text{voda}}$ ,  $VP_{\text{voda}}$ ,  $Fe_{\text{voda}}$ ,  $SO_4^{2-}$  a  $N-NO_3^-$ . Na druhou stranu nedocházelo ke snižování  $OP_{\text{voda}}$ . To znamená, že kyslík byl spotřebován oxidací látek a nikoli rozkladem organické hmoty.

Velmi malé množství kyslíku v DET ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ ) bylo využito pouze pro oxidaci VP. Zvýšené množství ( $2 \text{ mg l}^{-1}$ ) zoxidovalo sloučeniny RRP,  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $\text{N-NO}_3^-$  a teprve při koncentraci kyslíku  $8 \text{ mg l}^{-1}$  bylo do oxidace zapojeno i Fe.

Jak již bylo zmíněno v metodice, železo a fosfor vytvářely sraženiny po vystavení vzorku na vzduchu (Mortimer 1941). Fosfor se váže buď přímo na železito-fosforečnanové minerály a nebo pomocí adsorpce na oxidované hydroxidy železa ( $\text{FeO(OH)}$ ) (Ripl 1967). Těto sorpce se účastní pouze anorganický fosfor.

Většina Fe vytvořila ve vzorku sraženiny s VP, a protože sloučeniny Fe vyskytující se v sedimentu byly oxidovány až při koncentraci  $\text{O}_2$   $8 \text{ mg.l}^{-1}$ , nedocházelo k jeho doplnění pro vytvoření dalších sraženin. Proto se v průběhu pokusu koncentrace  $\text{Fe}_{\text{gel}}$ ,  $\text{VP}_{\text{gel}}$  a  $\text{RRP}_{\text{gel}}$  neměnila.

Přesné určení sloučenin, které byly zapojeny do reakcí způsobených kyslíkem, by vyžadovalo další zkoumání.

Největší rozdíly mezi opakováními na rozhraní sediment/voda (Obr. 5) mohly být způsobeny heterogenitou sedimentu, která se i přes homogenizaci vytvořila po 3 měsících provzdušňování.

## **B) Porovnání koncentrace analytů odebraných pomocí peeperu a DET**

V tomto pokusu byl použit peeper ke srovnání vertikálních profilů. Jedná se o velmi běžný a prověřený způsob odebírání pórové vody (Teasdale et al. 1995). Peeper je velmi často používám, protože získává vzorky přímo in situ a ve srovnání, např. s metodou centrifugace, je mnohem přesnější (Angelidis 1997).

Srovnání ukázalo, že vzorky pórové vody získané pomocí peeperu a vzorky z DET jsou shodné. Dále bylo zjištěno, že koncentrace do  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  kyslíku uvnitř DET neovlivňuje analýzu zkoumaných prvků ( $\text{VP}_{\text{voda}}$ ,  $\text{VP}_{\text{gel}}$ ,  $\text{RRP}_{\text{voda}}$ ,  $\text{RRP}_{\text{gel}}$ ,  $\text{Fe}_{\text{voda}}$  a  $\text{Fe}_{\text{gel}}$ ).

To znamená, že je nutno dále držet DET před analýzou v dusíkovém nebo argonovém prostředí, které neobsahuje kyslík (Troup et al 1974, Davison et al. 1994, Krom et al. 1994, Beck et al. 2007). Toto opatření má zabránit změně prostředí v sedimentu, který je anoxický nebo s výskytem kyslíku jen v horních 2-3 mm (Simpson et al. 2005).

### 5.3. Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu

Velké rozdíly mezi opakováním v jednotlivých pokusech ukazují na chybu v metodice pokusu. Vzhledem k výsledkům získaným v předchozích dvou částech práce není chyba v DET, ale v provedení pokusu. Umístění pokusu bylo v laboratoři Botanického ústavu v.v.i. v Brně a nebyla možnost ovlivnit počátek práce a provedení prací se sedimentem.

Velké rozdíly byly patrně způsobeny přístupem vzduchu v PET lahvích se sedimentem (Bub1 a Bub2 ox). Množství přiváděného vzduchu nebylo mezi PET lahvemi rovnoměrné a nebylo nijak měřeno. Další parametr, který se však ukázal jako málo významný, byla možnost pronikání vzduchu skrz PET láheve.

Na Obr. 7 (VP gel Bub0, Fe gel Bub0) je zřejmé, že sediment byl špatně promíchán, což mohlo vést k dalším rozdílům mezi sedimentem v jednotlivých PET lahvích.

Přestože pokus byl špatně proveden, je zde velmi zřetelná změna vertikálního profilu prvků v čase a rozdíly mezi sedimentem s přístupem vzduchu a bez přístupu.

Přesto, že se v pokusu se pracovalo s ředěním látek 20-51x, dávají výsledky jasnou představu o pochodech v sedimentu za daných podmínek (aerobní a anoxické) a vzorky posloužily ke srovnání analýz provedených v průběhu času (odebrání vzorků 3x během 2 měsíců). To vše ukazuje na možnost použití DET v pokusech kde dochází ke kontinuálnímu odběru dat a to i v podmínkách přístupu kyslíku.

## 6. Závěr

Tato práce byla zaměřena na poznání některých vlastností DET, které se změnilly v závislosti na složení gelu, a jeho prověření v praxi.

Než mohla být sestava DET používána, byl zjištěn čas ustálení rovnováhy mezi vodou v DET a pórovou vodou. Tento čas je 20 hodin a pro zpětné ustálení rovnováhy mezi vzorkem v DET a destilovanou vodou jsou potřeba 4 hodiny.

Metoda se ukázala jako velmi přesná. Výtěžnost je  $105 \pm 7$  pro  $\text{Cl}^-$ ,  $104 \pm 10$  pro  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $98 \pm 6$  pro  $\text{SO}_4^{2-}$  a  $90,5 \pm 4,5$  pro RRP.

Vhodnost dalšího použití daného složení gelu byla ověřena srovnáním koncentrace sestavy DET a jiné konvenční metody pro odebrání pórové vody zvané peeper. Koncentrace získané oběma metodami se ukázaly jako shodné. Při tomto srovnání se zároveň zjistilo, že shoda mezi oběma zařízeními je pouze při  $0-1 \text{ mg l}^{-1}$  kyslíku v gelu v DET. Při překročení této koncentrace docházelo postupně k nárůstu koncentrace  $\text{Fe}_{\text{voda}}$ ,  $\text{RRP}_{\text{voda}}$  a  $\text{VP}_{\text{voda}}$ .

Zároveň se ukázaly odlišné reakce vzorků s příponou „voda“ a „gel“ na přítomnost kyslíku v sestavě DET. Rozdíl byl způsoben vytvářením sraženin železa a fosforu, které vznikaly v konstantním poměru. Železo, které limitovalo tvorbu sraženin, bylo do pórové vody rozpuštěno až při koncentraci kyslíku  $8 \text{ mg l}^{-1}$ , a proto nemohla být navýšena koncentrace obou prvků ve sraženinách. To způsobilo neměnné koncentrace  $\text{VP}_{\text{gel}}$ ,  $\text{RRP}_{\text{gel}}$  a  $\text{Fe}_{\text{gel}}$ .

Při použití sestavy DET v praxi se ukázaly mnohé problémy metodiky. Jednalo se však pouze o problémy týkající se zacházení se sedimentem, který byl špatně zhomogenizován a nestejně prokysličován. Přesto vzorky pórové vody získané pomocí DET poskytly velmi přesné informace o procesech v anoxickém i prokysličovaném sedimentu v průběhu celého pokusu (2 měsíce) a to i při velmi malých koncentracích analytů.

Metoda DET má velmi krátký čas získání vzorku a může být použita i k velice podrobnému rozlišení vertikálního profilu koncentrací sledovaných analytů. Její výtěžnost se nemění ani s opakováním po delší době a v rozdílném sedimentu. Avšak je zde možnost vertikální difúze.

Podle provedeného testování může být DET použito pro sledování koncentrací látek ve vertikálním profilu sladkovodních sedimentů



## 7. Literatura

- Angelidis, T.N. (1997):** Comparison of Sediment Pore Water Sampling for Specific Parameters Using Two Techniques. *Water, Air and Soil Pollution* 99 (1-4): 179-185
- Barnes, R.O. (1973):** An in situ Interstitial Water Sampler for Use in Unconsolidated Sediments. *Deep Sea Research* 20: 1125-1128
- Bauer, J.E., Morgana, P.A., Spies, R.B., Prieto, M.C. and Hardin, D. (1988):** Microbial Biogeochemistry and Heterotrophy in Sediments of a Marine Hydrocarbon Seep. *Limnology and Oceanography* 33: 1493-1513
- Beck, M., Dellwig, O., Kolditz, K., Freund, H., Liebezeit, G., Schnetger, B. and Brumsack, H. (2007):** In situ Pore Water Sampling in Deep Intertidal Flat Sediments. *Limnology and Oceanography: Methods* 5: 136–144
- Bender, M., Martin, W., Hess, J., Sayles, F., Ball, L. and Lambert, C. (1987):** A Whole-core Squeezer for Interstitial Pore Water Sampling. *Limnology and Oceanography* 32 (6): 1214-1225
- Bischoff, J.L., Randall, E. and Luistro, A.O. (1970):** Composition of Interstitial Waters of Marine Sediments: Temperature of Squeezing Effect. *Science* 167: 1245-1246
- Bolliger, R., Brandl, H., Hohener, P., Hanselmann, K.W. and Bachofen, R. (1992):** Squeezewater Analysis for the Determination of Microbial Metabolites in Lake Sediments- Comparison of Methods. *Limnology and Oceanography* 37: 448-455
- Brinkman, A.G., van Raaphorst, W. and Lijklema, L. (1982):** In situ Sampling of Interstitial Waters from Lake Sediments. *Hydrobiologia* 92: 659-663
- Bufflap, S.E. and Allen, H.E. (1995):** Comparison of Pore Water Sampling Techniques for Trace Metals. *Water Research* 29 (9): 2051-2054

- Campbell, K.M., Root, R., O'Day, P.A. and Hering, J.G. (2008):** A Gel Probe Equilibrium Sampler for Measuring Arsenic Porewater Profiles and Sorption Gradients in Sediments: I. Laboratory Development. *Environmental Science & Technology* 42 (2): 497-503
- Carignan, R., Rapin, F. and Tessier, A. (1985):** Sediments Pore Water Sampling for Metal Analysis: A Comparison of Techniques. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 49: 2493-2497
- Davison, W. and Zhang, H. (1994):** In situ Speciation Measurement of Trace Components in Natural Waters Using Thin-film Gels. *Nature* 367: 546-548
- Davison, W., Grime, G.W., Morgan, J.A.W. and Clarke, K. (1991):** Distribution of Dissolved Iron in Sediment Pore Waters at Submillimetre Resolution. *Nature* 352: 323-325
- Davison, W., Zhang, H. and Grime, G.W. (1994):** Performance Characteristics of Gel Probes Used for Measuring the Chemistry of Pore Water. *Environmental Science & Technology* 28 (9): 1623-1632
- Edmunds, W.M. and Bath, A.H. (1976):** Centrifuge Extraction and Chemical Analysis of Interstitial Waters. *Environmental Science & Technology* 10: 467-472
- Emerson, S. (1976):** Early Diagenesis in Anaerobic Lake Sediments: Chemical Equilibria in Interstitial Waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 40: 925-934
- Fanning, K.A. and Pilson, M.E.Q. (1971):** Interstitial Silica and pH in Marine Sediment: Some Effects of Sampling Procedures. *Science* 173: 1228-1231
- Fones, G.R., Davison, W. and Grime, G.W. (1998):** Development of Constrained DET for Measurements of Dissolved Iron in Surface Sediments at Sub-mm Resolution. *The Science of the Total Environment* 221 (2-3): 127-137
- Goodman, K.S. (1979):** An Apparatus for Sampling Interstitial Water Throughout Tidal Cycles. *Aquatic Ecology* 13 (1): 30-33

- Harper, M.P., Davison, W. and Tych, W. (1997):** Temporal, Spatial and Resolution Constraints for in situ Sampling Devices Using Diffusional Equilibration: Dialysis and DET. *Environmental Science & Technology* 31 (11): 3110-3119
- Hertkorn-Obst, U., Wendeler, H., Feuerstein, T. and Schmitz, W. (1982):** A Device for Sampling Interstitial Water out of Rivers and Lake Beds. *Environmental Technology Letters* 3: 263-267
- Hesslein, R.H. (1976):** An in situ Sampler for Close Interval Pore Water Studies. *Limnology and Oceanography* 21: 912-914
- Ho, C.L. and Lane, J. (1973):** Interstitial Water Composition in Barataria Bay (Louisiana) Sediments. *Estuarine and Coastal Marine Science* 1 (2): 125-135
- Höpner, T. (1981):** Design and Use of a Diffusion Sampler for Interstitial Water From Fine Grained Sediments. *Environmental Technology Letters* 2: 187-196
- Kalil, E.K. and Goldhaber, M. (1973):** A Sediment Squeezer for Removal of Pore Waters Without Air Contact. *Journal of Sedimentary Research* 43: 553-557
- Kopáček, J. and Hejzlar, J. (1995):** Semi-micro Determination of Total Phosphorus in Soils, Sediments and Organic Material: A Simplified Perchloric Acid Digestion Procedure. *Commun. Soil Science and Plant Analysis* 26: 1935-1946
- Kopáček, J., Borovec, J., Hejzlar, J. and Porcal, P. (2001):** Spectrophotometric Determinations of Iron, Aluminium and Phosphorus in Soil and Sediment Extracts. *Commun. Soil Science and Plant Analysis* 32: 1431-1443
- Krom, M.D., Davison, P., Zhang, H. and Davison, W. (1994):** High-resolution Pore-water Sampling with a Gel Sampler. *Limnology and Oceanography* 39 (8): 1967-1972
- Mannheim, F.T. (1976):** Interstitial Water of Marine Sediments. in *Chemical Oceanography* Volume 6 (Riley, J.P. and Chester, R. (eds.)). Academic Press, London. pp. 115-186
- Matisoff, G., Lindsay, A.H., Matis, S. and Soster, F.M. (1980):** Trace Metal Mineral Equilibria in Lake Erie Sediments. *Journal of Great Lakes Research* 6: 353-366

- Mayer, L.M. (1976):** Chemical Water Sampling in Lakes and Sediments with Dialysis Bags. *Limnology and Oceanography* 21: 909-912
- Montgomery, J.R., Price, M.T., Holt J. and Zimmermann, C. (1981):** A Close Interval Sampler for Collection of Sediment Pore Waters for Nutrient Analyses. *Estuaries* 4: 75-77
- Morford, J., Kalnejais, L., Martin, W., Francois R. and Karleb I. (2003):** Sampling Marine Pore Waters for Mn, Fe, U, Re and Mo: Modifications on Diffusional Equilibration Thin Film Gel Probes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 285–286: 85–103
- Mortimer, C.H. (1971):** Chemical Exchanges Between Sediments and Water in the Great Lakes: Speculations on Probable Regulatory Mechanisms. *Limnology and Oceanography* 16 (2): 387-404
- Mortimer, R.J.G., Krom, M.D., Hall, P.O.J., Hulte, S. and Stahl H. (1998):** Use of Gel Probes for the Determination of High Resolution Solute Distributions in Marine and Estuarine Pore Waters. *Marine Chemistry* 63: 119–129
- Mudroch, A. and Azcue, J.M. (1995):** *Manual of Aquatic Sediment Sampling*. CRC Press, Boca Raton. pp. 219
- Murphy, J. and Riley, J.P. (1962):** A Modified Single-solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36
- Pitter, P. (1999):** *Hydrochemie*. VŠCHT, Praha. pp. 568
- Presley, B.J., Brooks, R.R. and Kapel, H.M. (1967):** A Simpler Squeezer for Removal of Interstitial Water from Ocean Sediments. *Journal of Marine Research* 25: 355-357
- Reeburgh, W.S. (1967):** An Improved Interstitial Water Sampler. *Limnology and Oceanography* 12: 163-165
- Reeburgh, W.S. and Erickson, R.E. (1982):** A „Dipstick“ Sampler for Rapid, Continuous Chemical Profiles in Sediments. *Limnology and Oceanography* 27 (3): 556-559

- Ripl, W. (1967):** Biochemical Oxidation of Polluted Lake Sediment With Nitrate: A New Lake Restoration Method. *Ambio* 5 (3): 132-135
- Robbins, J.A. and Gustinis, J. (1976):** A Squeezer for Efficient Extraction of Pore Water from Small Volumes of Anoxic Sediment. *Limnology and Oceanography* 21: 905-909
- Saager, P.M., Sweerts, J.P. and Ellermeijer, H.J. (1990):** A Simple Pore-water Sampler for Coarse, Sandy Sediment with Low Porosity. *Limnology and Oceanography* 35 (3): 747-751
- Sasseville, D.R., Takacs, A.P., Norton, S.A. and Davis, R.B. (1974):** A Large-volume Interstitial Water Sediment Squeezer for Lake Sediments. *Limnology and Oceanography* 19: 1001-1004
- Sayles, F.L. (1979):** The Composition and Diagenesis of Interstitial Solutions. I. Fluxes Across the Seawater-sediment Interface in the Atlantic Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 43: 527-545
- Sayles, F.L., Wilson, T.R.S., Hume, D.N. and Mangelsdorf, P.C. (1973):** In situ Sampler for Marine Sedimentary Pore Waters: Evidence for Potassium Depletion and Calcium Enrichment. *Science* 181: 154-156
- Seeberg-Elverfeldt, J., Schlüter, M., Feseker, T. and Kölling, M. (2005):** Rhizon Sampling of Porewaters Near the Sediment-water Interface of Aquatic Systems. *Limnology and Oceanography: Methods* 3: 361–371
- Shuttleworth, S.M., Davison, W. and Hamilton-Taylor, J. (1999):** Two-dimensional and Fine Structure in the Concentrations of Iron and Magnese in Sediment Pore-Waters. *Environmental Science & Technology* 33 (23): 4169-4175
- Scholl, D.W. (1963):** Techniques for Removing Interstitial Water from Course Coarse-grained Sediments for Chemical Analysis. *Sedimentology* 2: 156-163
- Simpson, S.L., Batley, G.E., Chariton, A.A., Stauber, J.L., King, C.K., Chapman, J.C., Hyne, R.V., Gale, S.H., Roach, A.C. and Maher W.A. (2005):** *Handbook for Sediment Quality Assessment*. CSIRO, Bangor. pp. 117

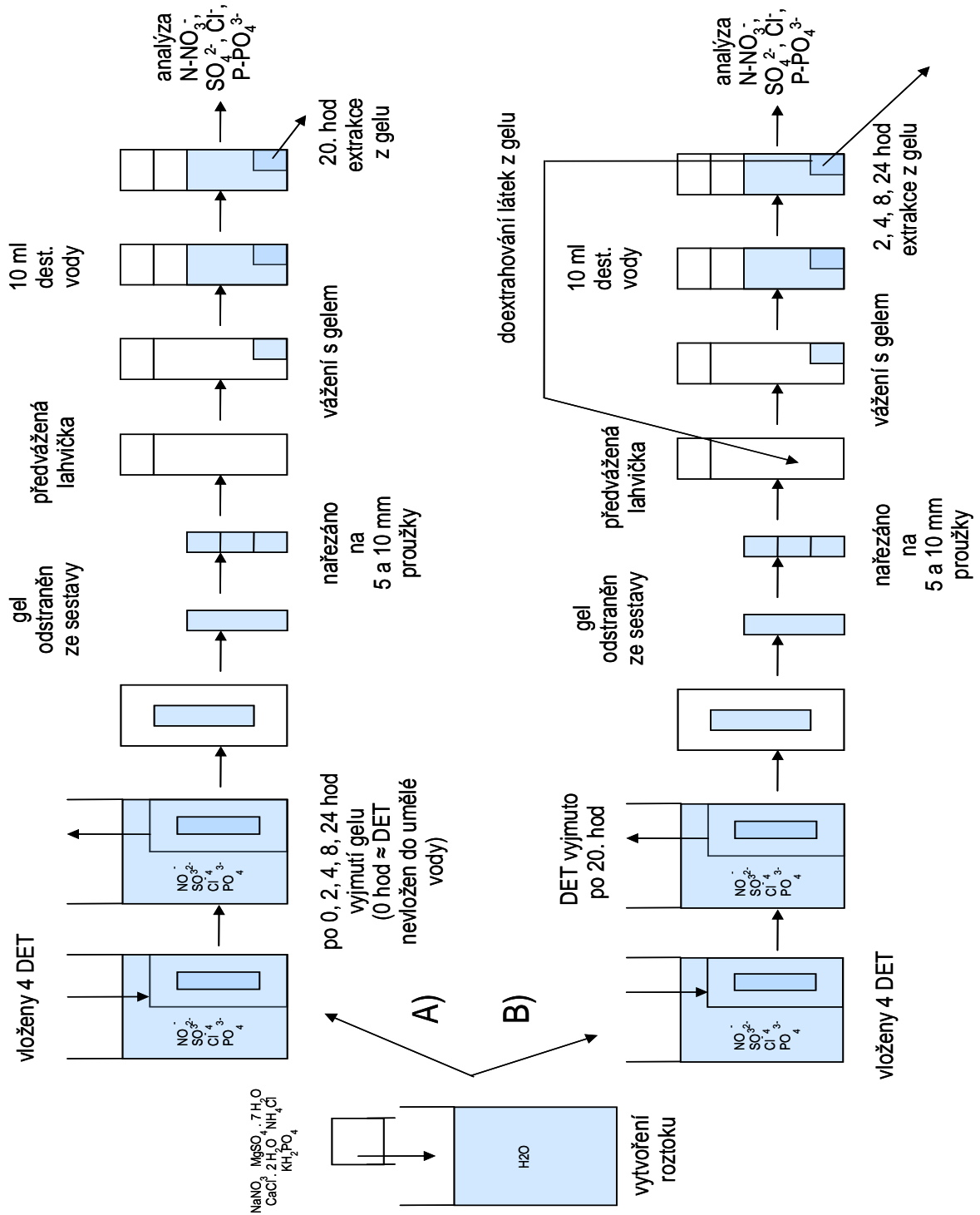
- Smol, J.P. (2008):** *Pollution of Lakes and Rivers: A Paleoenvironmental Perspective* (2nd edition). Blackwell Publishing, Oxford. pp. 383
- Smol, J.P., Birks, H.J.B. and Last, W.M. (2001):** *Tracking Environmental Change Using Lake Sediments. Volume 3: Terrestrial, Algal, and Siliceous Indicators*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 371
- Teasdale, P.R., Batley G.E., Apte, S.C. and Webster, I.T. (1995):** Pore Water Sampling with Sediment Peepers. *Trends in Analytical Chemistry* 14 (6): 250-256
- Troup, B.N., Bricker, O.P. and Bray, J.T. (1974):** Oxidation Effect on the Analysis of Iron in the Interstitial Water of Recent Anoxic Sediments. *Nature* 249: 237-239
- van Oploo, P., White, I., Macdonald, B. C. T., Ford, P. and Melville, M. D. (2008):** The Use of Peepers to Sample Pore Water in Acid Sulphate Soils. *European Journal of Soil Science* 59: 762-770
- van Raaphorst, W. and Brinkham, A.G. (1984):** The Calculation of Transport Coefficients of Phosphate and Calcium Fluxes Across the Sediment-water Interface, from Experiments with Undisturbed Sediment Cores. *Water Science and Technology* 17: 941-951
- Watson, P.G. and Frickers, T.E. (1990):** A Multilevel, in situ Pore Water Sampler for Use in Intertidal Sediments and Laboratory Microcosms. *Limnology and Oceanography* 35: 1381-1389
- Wetzel, R.G. (1983):** *Limnology* (2nd edition). Saunders College Publishing, Philadelphia. pp. 767
- Whiticar, M.J. (1982):** Determination of Interstitial Gases and Fluids in Sediment Collected with an in situ Sampler. *Analytical Chemistry* 54: 1796-1798
- Zhang, H. and Davison, W. (1999):** Diffusional Characteristics of Hydrogels Used in DGT and DET Techniques. *Analytica Chimica Acta* 398 (2-3): 329-340

**Zimmermann, C.F., Price, M.T. and Montgomery, J.R. (1978):** A Comparison of Ceramic and Teflon® in situ Samplers for Nutrient Pore Water Determinations. *Estuarine and Coastal Marine Science* 7: 93-97

## 8. Přílohy

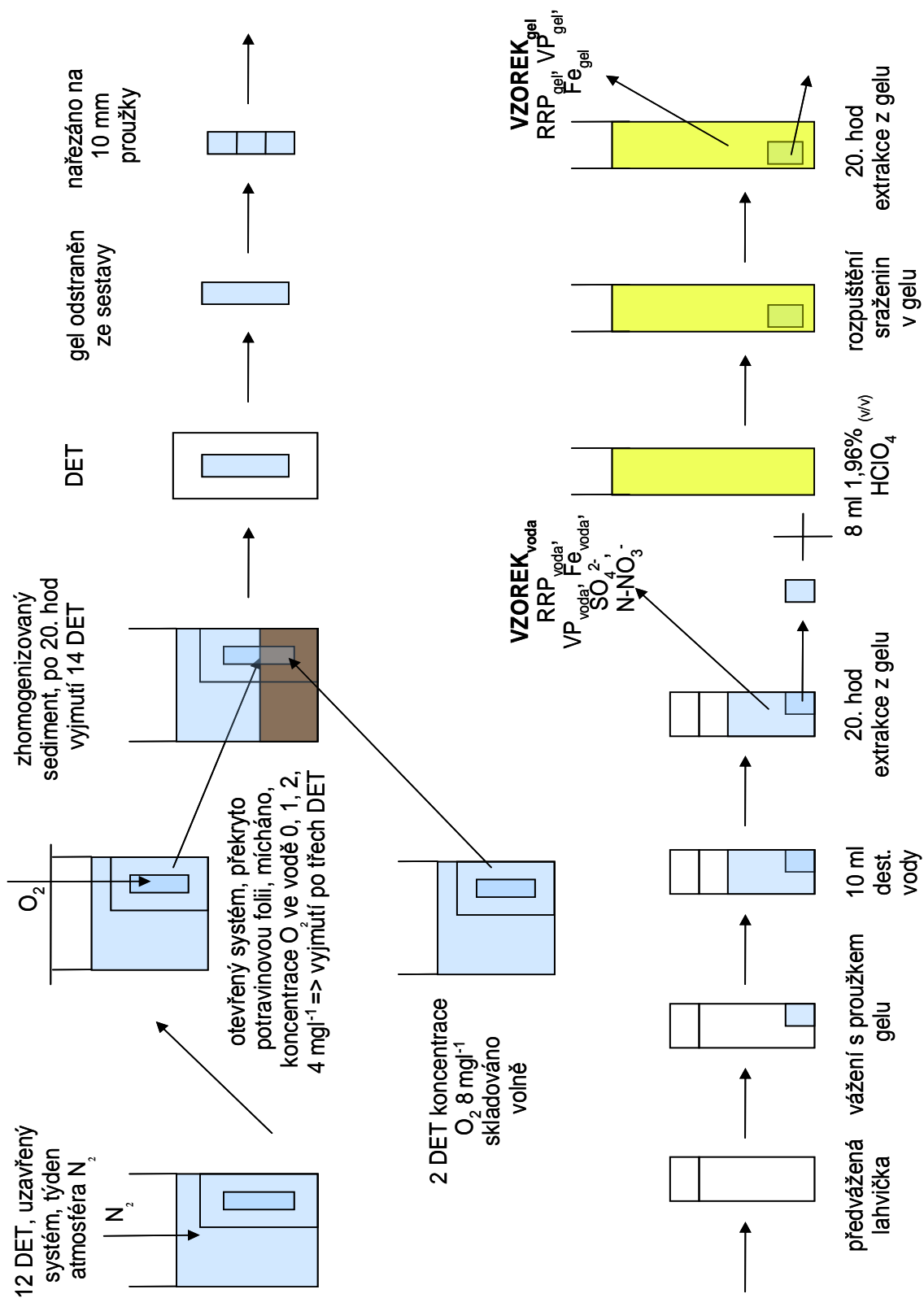
**Příloha I** – Schéma pokusu: Kinetika ustálení rovnováhy v gelu v DET.

- A) první část pokusu – ustálení rovnováhy mezi vodou v gelu a roztokem.  
 B) druhá část pokusu – ustálení rovnováhy mezi gelem a destilovanou vodou.

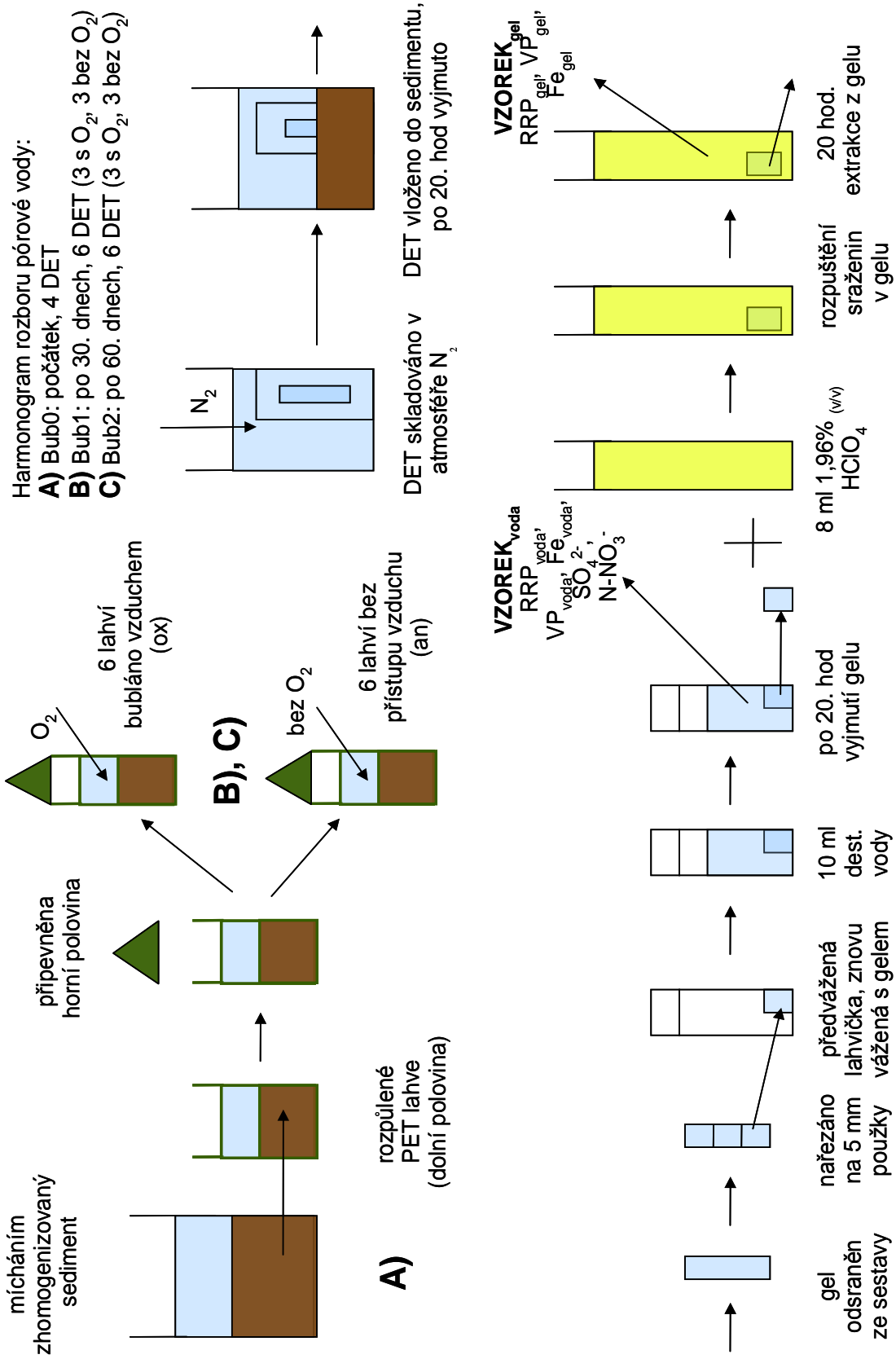




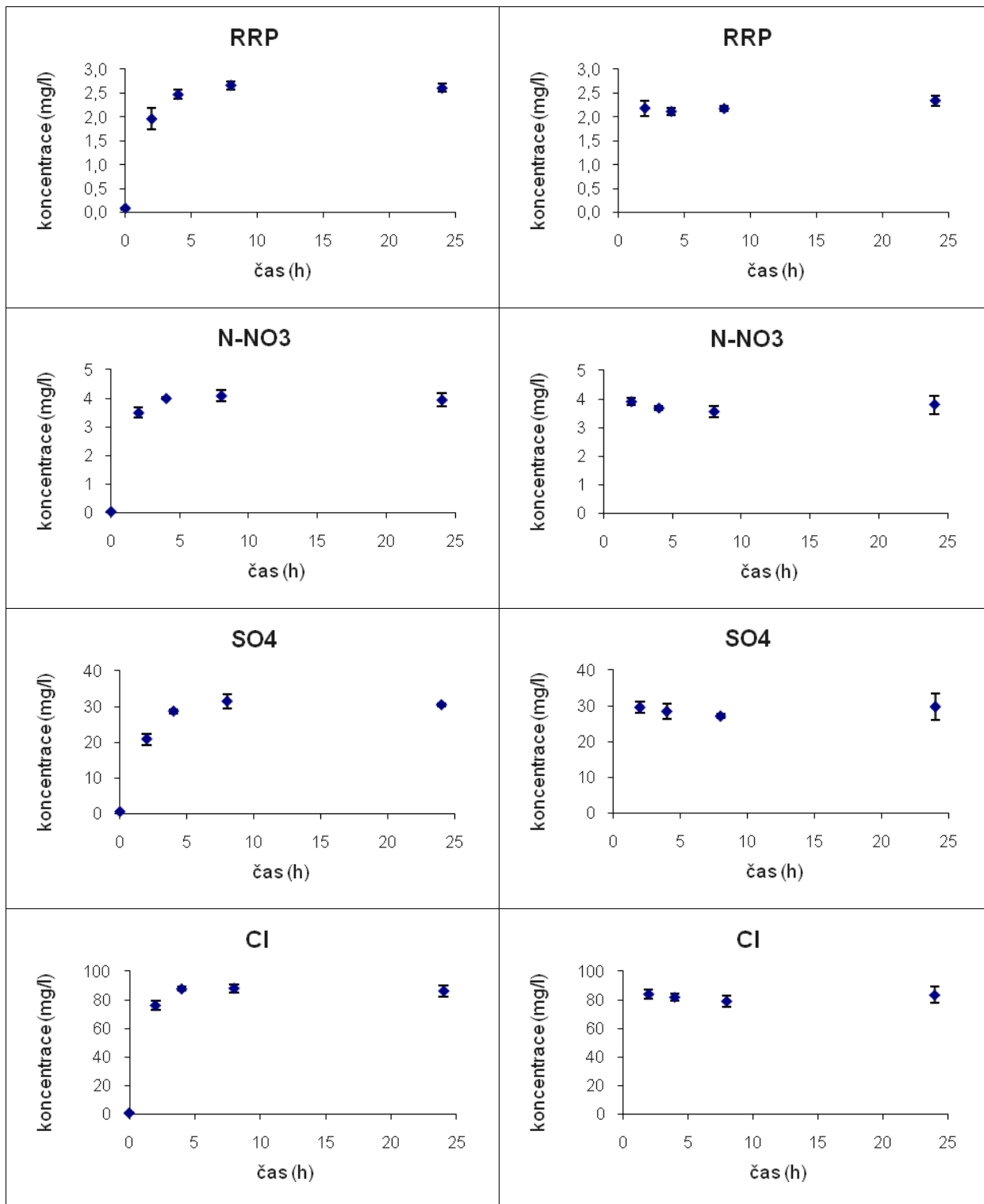
**Příloha II** – Schéma pokusu: Vliv způsobu skladování a porovnání DET s jinou konvenční metodou.



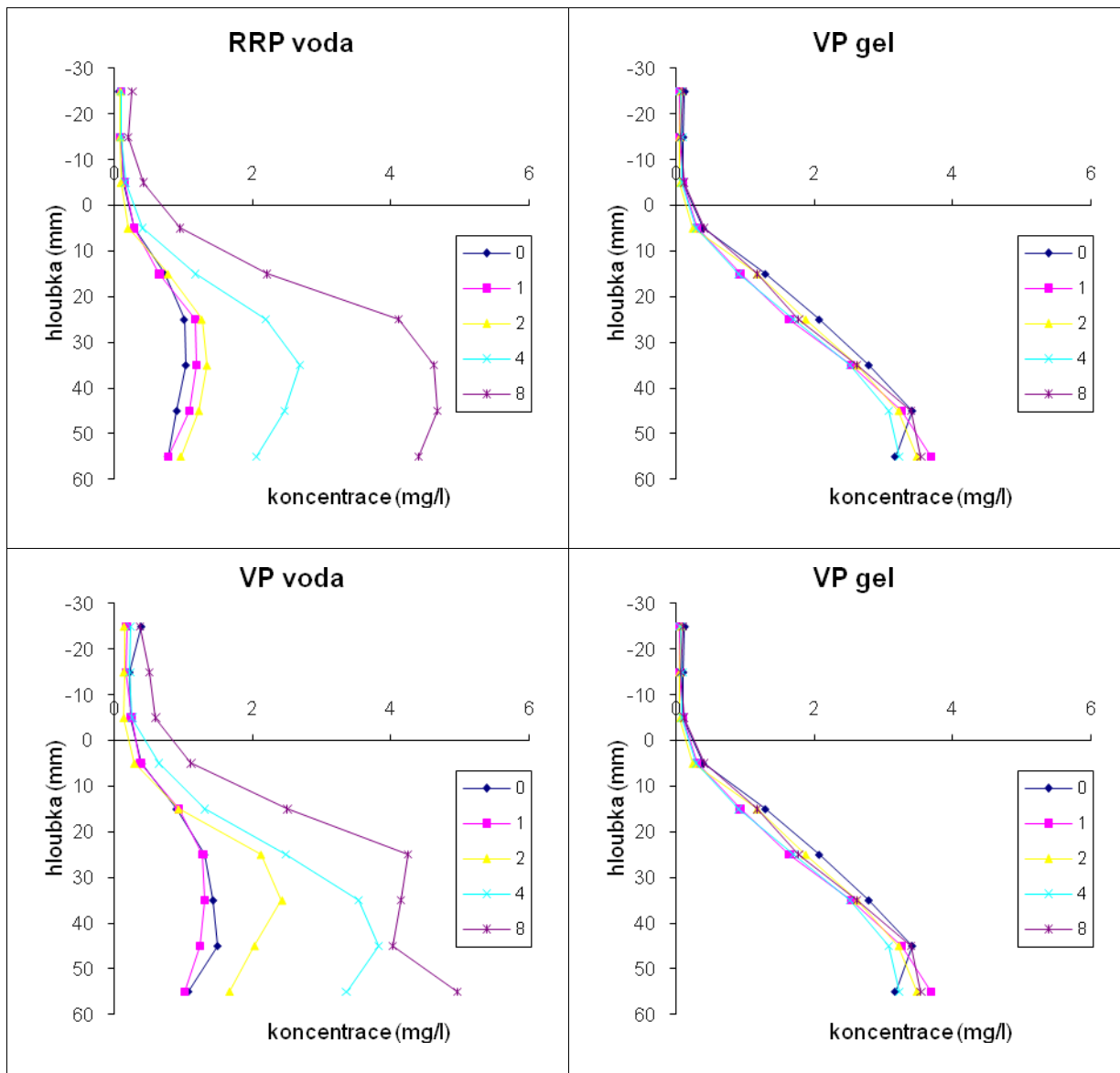
**Příloha III – Schéma pokusu: Použití gelu v aerobním a anoxickém sedimentu.**



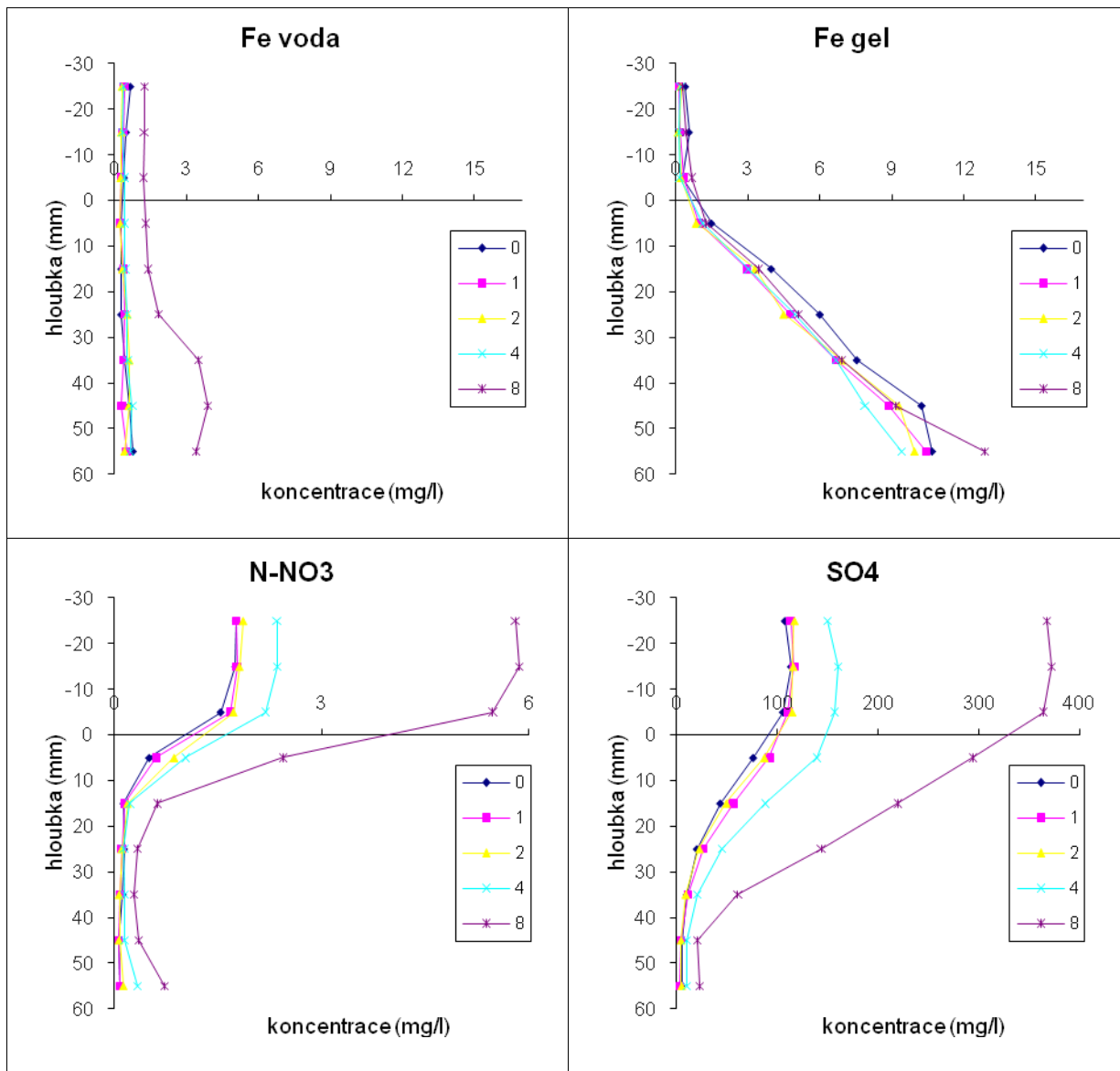
**Příloha IV** - Kinetika ustálení rovnováhy v gelu: průběh ustálení rovnováhy mezi vodou v gelu a roztokem (levý sloupec) a průběh zpětného ustálení rovnováhy mezi vodou v gelu a destilovanou vodou (pravý sloupec). Jednotlivé koncentrace jsou opatřeny směrodatnou odchylkou.



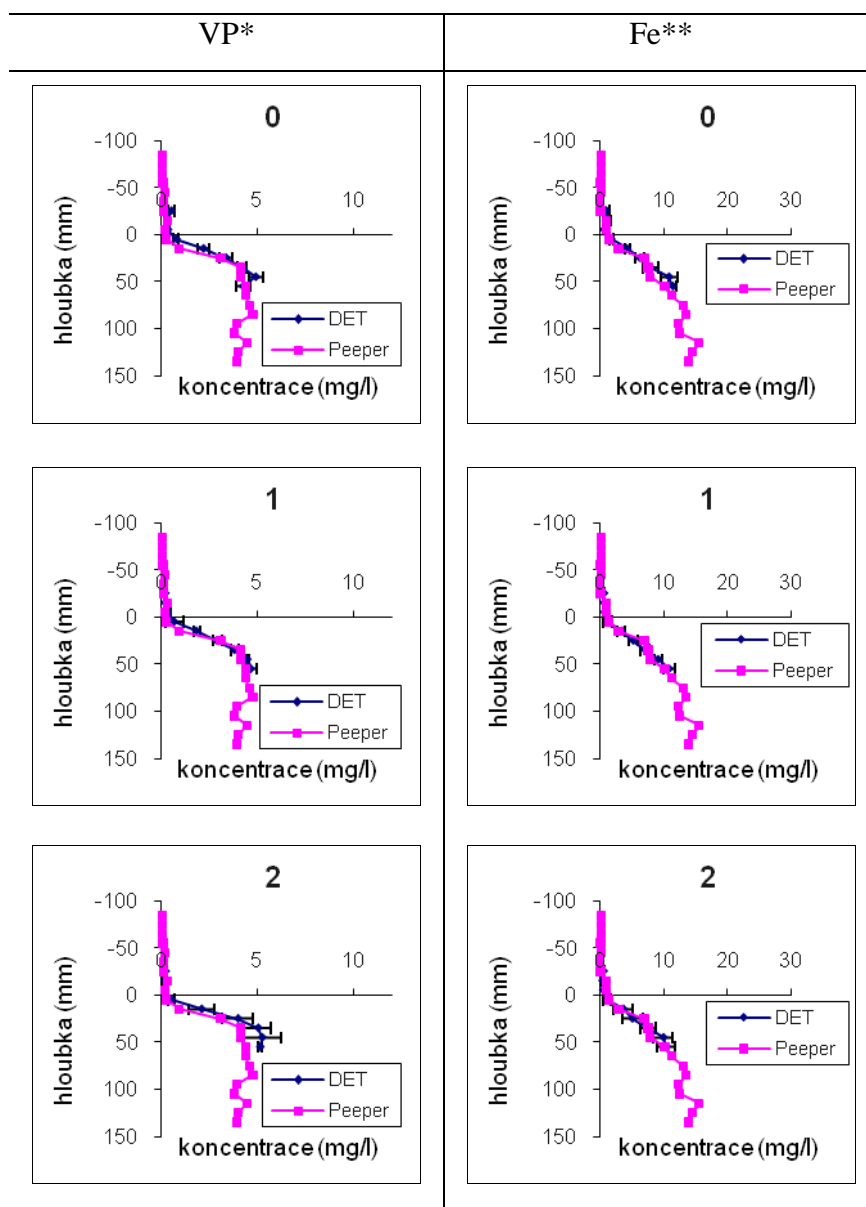
**Příloha V-a** - Změny koncentrací analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem při změně koncentrace kyslíku uvnitř vody v DET. Legenda znamená koncentraci O<sub>2</sub> v gelu v DET v mg l<sup>-1</sup>; záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, nula je rozhraní sediment/voda.



**Příloha V-b** - Změny koncentrací analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem při změně koncentrace kyslíku uvnitř vody v DET. Legenda znamená koncentraci  $O_2$  v gelu v DET v  $mg\ l^{-1}$ ; záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, nula je rozhraní sediment/voda.



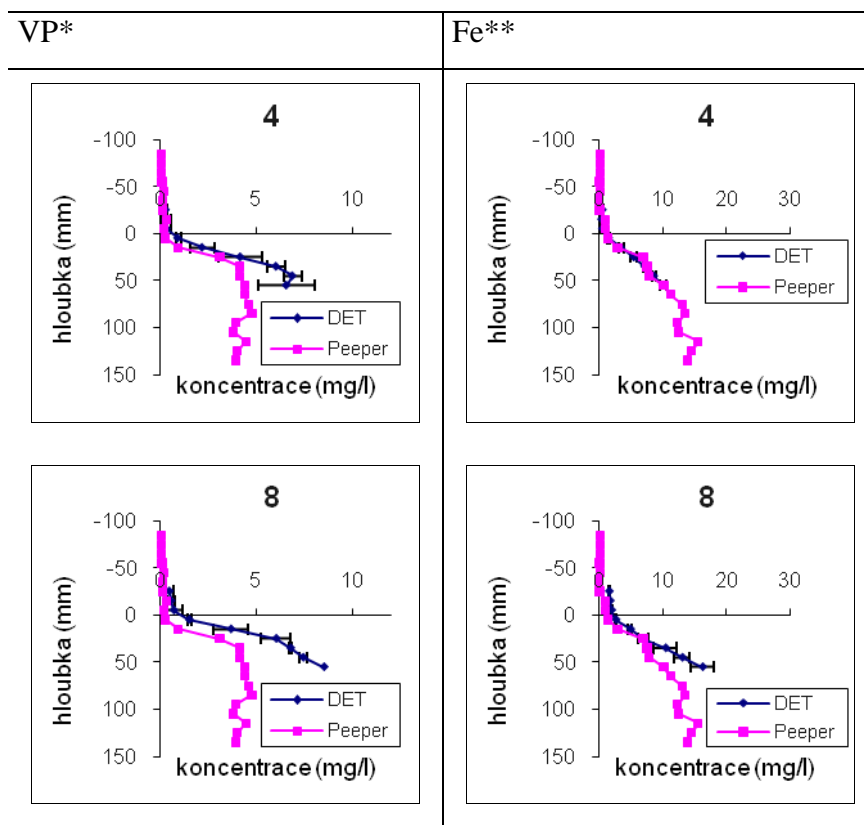
**Příloha VI-a - Srovnání koncentrace Fe a VP v pórové vodě a vodě nad sedimentem odebraných pomocí DET a peeperu. Současně bylo postupně měněno množství kyslíku uvnitř DET a jeho koncentrace v  $\text{mg l}^{-1}$  je název jednotlivých grafů. Vertikální profily koncentrací získaných pomocí DET jsou opatřeny směrodatnou odchylkou. Záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, nula je rozhraní sediment/voda.**



\* v případě DET: suma VP ( $\text{VP}_{\text{gel}} + \text{VP}_{\text{voda}}$ )

\*\* v případě DET: suma Fe ( $\text{Fe}_{\text{gel}} + \text{Fe}_{\text{voda}}$ )

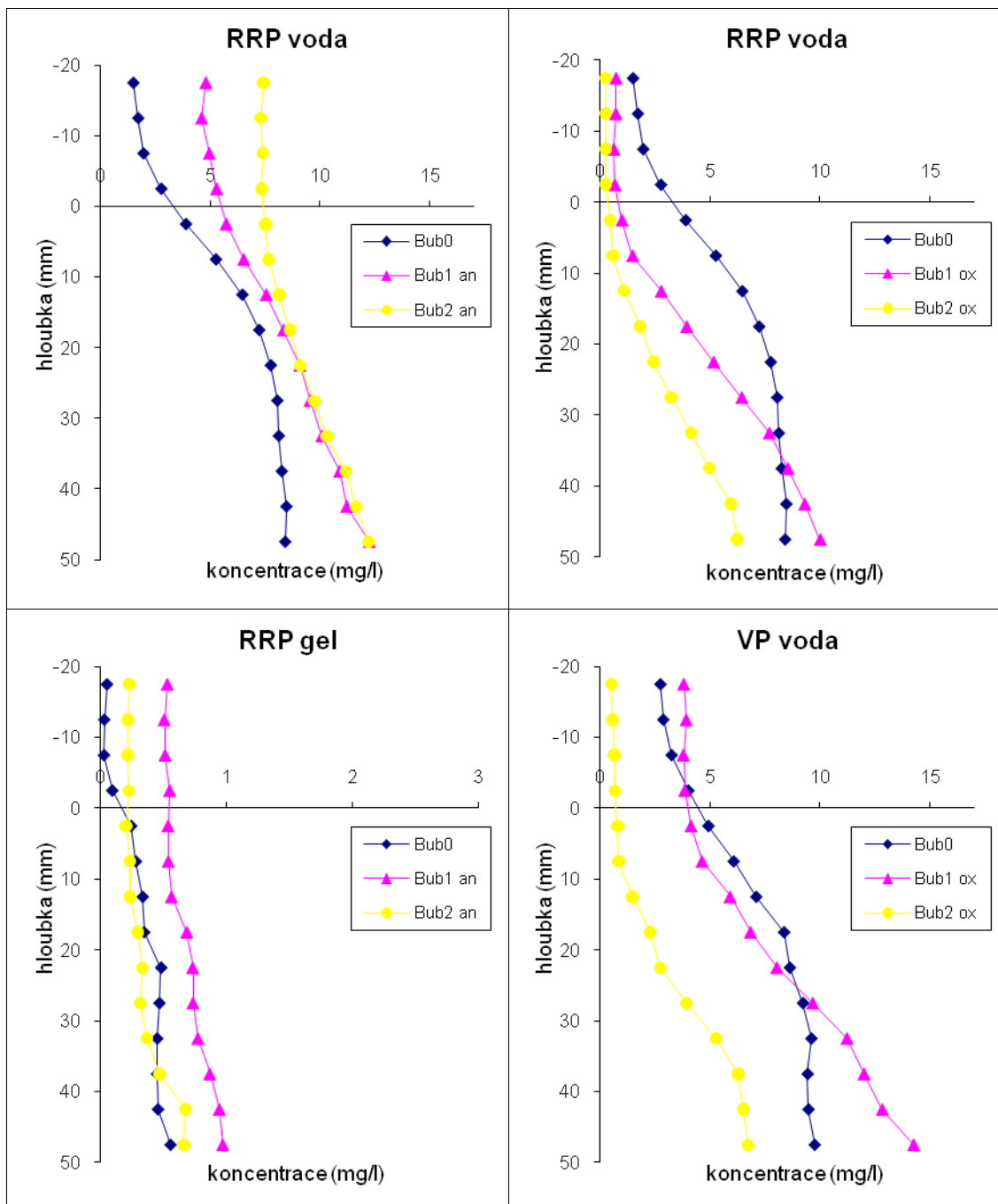
**Příloha VI-b** - Srovnání koncentrace Fe a VP v pórové vodě a vodě nad sedimentem odebraných pomocí DET a peeperu. Současně bylo postupně měněno množství kyslíku uvnitř DET a jeho koncentrace v  $\text{mg l}^{-1}$  je název jednotlivých grafů. Vertikální profily koncentrací získaných pomocí DET jsou opatřeny směrodatnou odchylkou. Záporná hodnota osy Y je voda nad sedimentem, nula je rozhraní sediment/voda.



\* v případě DET: suma VP ( $VP_{\text{gel}} + VP_{\text{voda}}$ )

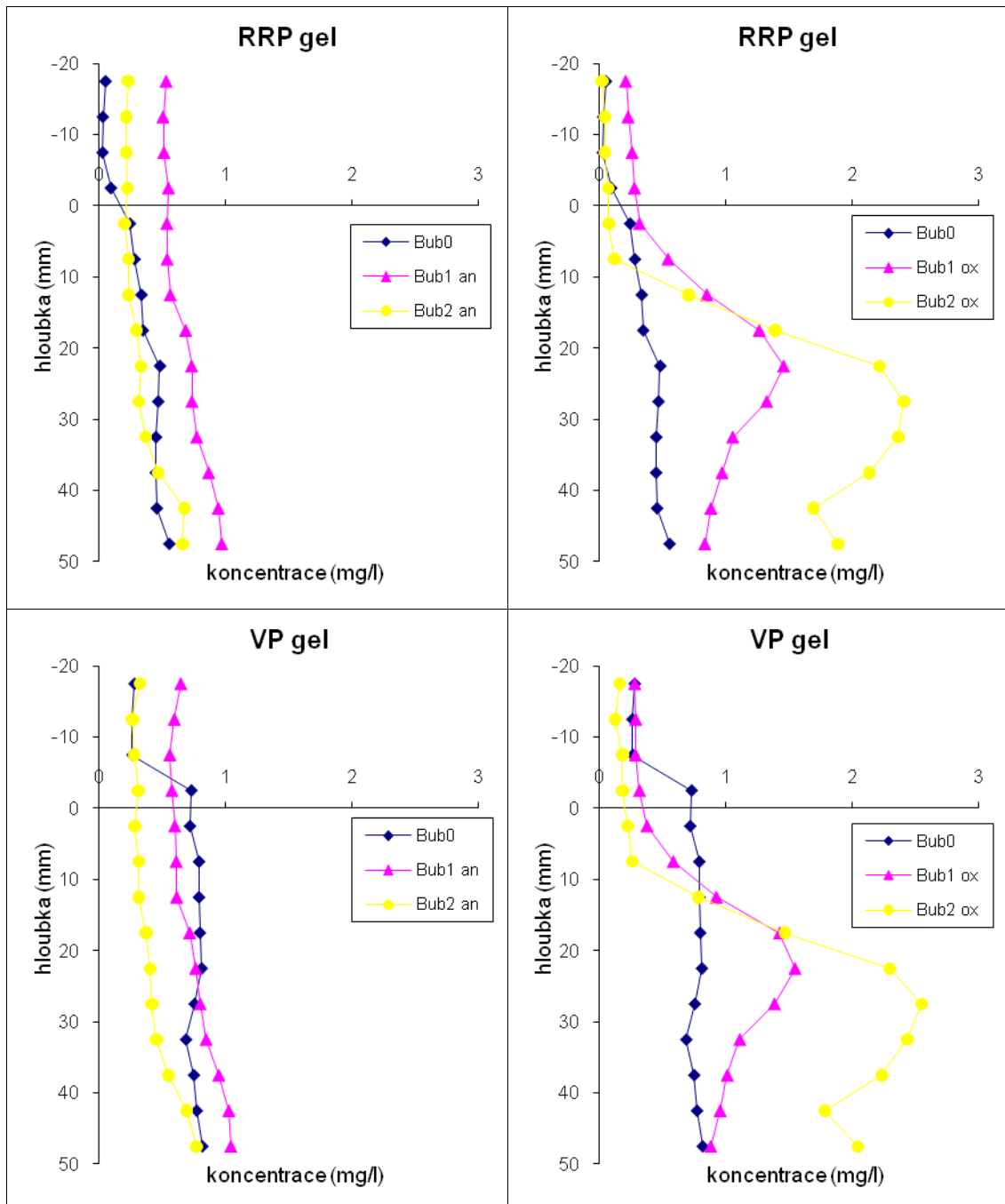
\*\* v případě DET: suma Fe ( $Fe_{\text{gel}} + Fe_{\text{voda}}$ )

**Příloha VII-a - Změny koncentrace analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem v rozdílném čase (Bub0, Bub1 a Bub2) a za rozdílných podmínek (anoxické a oxické). Bub0 – začátek pokusu, Bub1 – po 30-ti dnech, Bub2 – po 60-ti dnech; ox – do vody nad sedimentem byl přiváděn vzduch, an – do vody nad sedimentem nebyl přiváděn vzduch.**

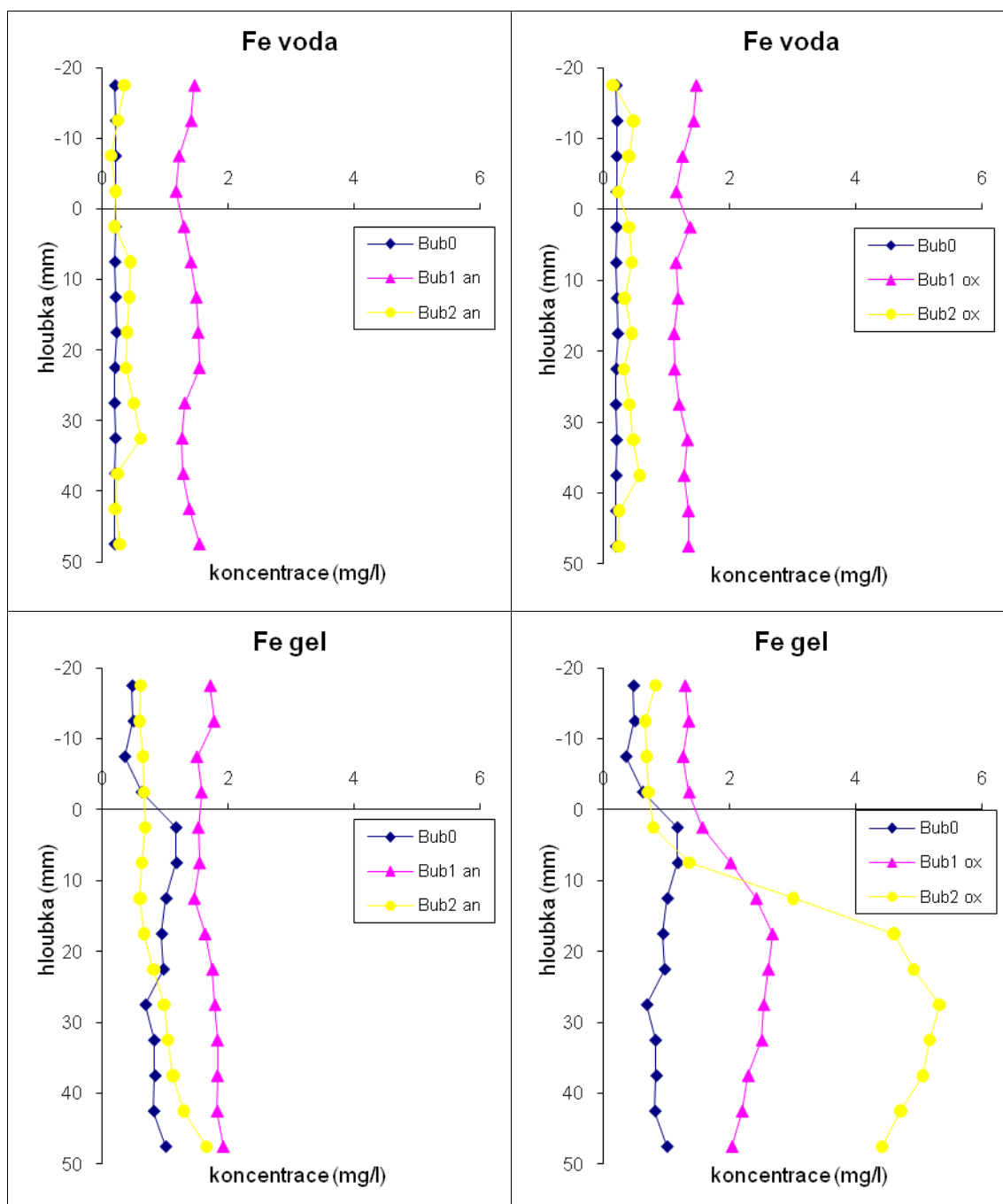




**Příloha VII-b** – Změny koncentrace analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem v rozdílném čase (Bub0, Bub1 a Bub2) a za rozdílných podmínek (anoxické a oxické). Bub0 – začátek pokusu, Bub1 – po 30-ti dnech, Bub2 – po 60-ti dnech; ox – do vody nad sedimentem byl přiváděn vzduch, an – do vody nad sedimentem nebyl přiváděn vzduch.



**Příloha VII-c** – Změny koncentrace analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem v rozdílném čase (Bub0, Bub1 a Bub2) a za rozdílných podmínek (anoxické a oxické). Bub0 – začátek pokusu, Bub1 – po 30-ti dnech, Bub2 – po 60-ti dnech; ox – do vody nad sedimentem byl přiváděn vzduch, an – do vody nad sedimentem nebyl přiváděn vzduch.



**Příloha VII-d** – Změny koncentrace analytů v pórové vodě a vodě nad sedimentem v rozdílném čase (Bub0, Bub1 a Bub2) a za rozdílných podmínek (anoxické a oxické). Bub0 – začátek pokusu, Bub1 – po 30-ti dnech, Bub2 – po 60-ti dnech; ox – do vody nad sedimentem byl přiváděn vzduch, an – do vody nad sedimentem nebyl přiváděn vzduch.

