

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA STAVEBNÍ
ÚSTAV CHEMIE

FACULTY OF CIVIL ENGINEERING
INSTITUTE OF CHEMISTRY

HODNOCENÍ ZATÍŽENÍ SEDIMENTŮ DROBNÝCH VODNÍCH TOKŮ FOSFOREM

ASSESSMENT OF LOAD OF SMALL WATERCOURSES SEDIMENTS WITH PHOSPHORUS

DISERTAČNÍ PRÁCE

DISSERTATION THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

BRNO 2015

ING. MARCELA PAVLÍKOVÁ

DOC. ING. JITKA MALÁ, PHD.

ABSTRAKT

Problematika fosforu a jeho forem v sedimentech drobných vodních toků není často předmětem zájmu, tak jako fosfor a jeho formy v sedimentech vodních nádrží. Práce je zaměřena na vývoj a hodnocení metod stanovení celkového fosforu modifikací stávajících metod a na hodnocení metod stanovení vybraných forem fosforu v sedimentech drobných vodních toků. V práci bylo pro vybrané formy fosforu provedeno celkem přes 1152 analýz vzorků, odebraných ve čtyřech obdobích na čtyřech lokalitách a ve třech opakováních měření. Celkový fosfor v sedimentech byl hodnocen 4 metodami a dále bylo hodnoceno dalších 7 forem fosforu jednou až třemi metodami, dle jednotlivé formy fosforu. Datový soubor byl podroben statistické analýze, jejímž cílem bylo sledovat závislost stanovené koncentrace fosforu na použité metodě, závislost koncentrace fosforu na koncentraci kovů a dále identifikovat vliv období a lokality na koncentraci fosforu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Sedimenty drobných vodních toků, celkový fosfor, formy fosforu, frakcionační metody, stanovení orthofosforečnanů.

ABSTRACT

The issue of phosphorus in sediments of small watercourses and phosphorus forms are often out of interest, unlike phosphorus and its forms in sediments of water reservoirs. The thesis is focused on the development and evaluation of methods for the determination of total phosphorus by modifying commonly used methods and evaluation of methods for the determination of selected forms of phosphorus in small watercourses sediments. Over 1,152 analyses of sediment samples collected in four seasons and four locations and in three parallel determinations were done. The total phosphorus in the sediments was assessed by four methods, further 7 other forms of phosphorus were evaluated by one to three methods, according to different forms of phosphorus. The data file was subjected to statistical analysis. The aim of statistical analysis was to evaluate phosphorus concentrations, depending on the used method. Additional aim of statistical analysis was to observe dependencies of phosphorus concentrations on metals and identify the impact of periods and locations on the concentration of phosphorus.

KEY WORDS

Small watercourses sediments, total phosphorus, phosphorus forms, fractionation methods, orthophosphate determination

Bibliografická citace disertační práce:

PAVLÍKOVÁ, Marcela. *Hodnocení zatížení sedimentů drobných vodních toků fosforem*. Brno, 2015. 163 s. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Ústav chemie. Vedoucí disertační práce doc. Ing. Jitka Malá, PhD.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem disertační práci zpracovala samostatně pod vedením vedoucí disertační práce, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje.

V Brně dne 29. 10. 2015

.....

podpis autorky

Poděkování

Ráda bych poděkovala své vedoucí disertační práce doc. Ing. Jitce Malé, PhD. za odborné vedení, konzultace a cenné rady, které mi při tvorbě této práce ochotně poskytovala a za odbornou kontrolu práce.

Dále děkuji svému manželovi za podnětné rozpravy o tématech práce a pomoc při tvorbě mapových podkladů. Své sestře Ing. Lence Lagové děkuji za pomoc při závěrečné kontrole práce a své další blízké rodině za podporu při studiu.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	8
2.1	Fosfor v ekosystému	10
2.2	Celkový fosfor a metody jeho hodnocení v sedimentech.....	11
2.2.1	<i>Vzorkování, předúprava a zpracování vzorků.....</i>	<i>13</i>
2.2.2	<i>Tavení s uhličitánem sodným</i>	<i>15</i>
2.2.3	<i>SMT procedura.....</i>	<i>15</i>
2.2.4	<i>Mineralizace kyselinou sírovou.....</i>	<i>16</i>
2.2.5	<i>Mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku</i>	<i>16</i>
2.2.6	<i>Další známé metody, nepoužívané v disertační práci.....</i>	<i>18</i>
2.3	Problematika vazebných souvislostí sedimentárního fosforu	19
2.3.1	<i>Vazba fosforu v sedimentech</i>	<i>19</i>
2.3.2	<i>Retence fosforu v sedimentech</i>	<i>21</i>
2.3.3	<i>Remobilizace sedimentárního fosforu</i>	<i>22</i>
2.4	Formy fosforu a metody jejich hodnocení v sedimentech	25
2.4.1	<i>Anorganický fosfor</i>	<i>28</i>
2.4.2	<i>Organický fosfor.....</i>	<i>30</i>
2.4.3	<i>Biodostupný, labilní fosfor</i>	<i>32</i>
2.4.4	<i>Apatitový fosfor</i>	<i>34</i>
2.4.5	<i>Neapatitový fosfor</i>	<i>35</i>
2.4.6	<i>Formy fosforu vázané na kovy.....</i>	<i>36</i>
2.5	Spektrofotometrické stanovení fosforečnanů.....	38
3	CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE.....	41
4	MATERIÁL A METODY.....	42
4.1	Instrumentace	42
4.2	Používané chemikálie	42
4.3	Výběr odběrných míst.....	43
4.3.1	<i>Povodí Aušperského, Troubského potoka.....</i>	<i>44</i>
4.3.2	<i>Povodí Leskavy.....</i>	<i>45</i>
4.3.3	<i>Povodí Bílé Opavy.....</i>	<i>46</i>
4.3.4	<i>Povodí Zlatého potoka</i>	<i>47</i>
4.4	Odběr, zpracování a uchování vzorků sedimentů i vody	48
4.5	Certifikovaný referenční materiál BCR-684	50
4.6	Kritéria výběru metod	51
4.7	Celkový fosfor - ověřování postupu na reálných vzorcích.....	52
4.7.1	<i>SMTP – kalcinace</i>	<i>52</i>
4.7.2	<i>Tavení s uhličitánem sodným</i>	<i>52</i>
4.7.3	<i>Mineralizace kyselinou sírovou.....</i>	<i>53</i>
4.7.4	<i>Mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku</i>	<i>53</i>
4.7.5	<i>Interference reagensů při fotometrickém stanovení fosforečnanů</i>	<i>53</i>
4.8	Frakcionace - ověřování postupu na reálných vzorcích	54
4.8.1	<i>Anorganický fosfor</i>	<i>54</i>
4.8.2	<i>Organický fosfor.....</i>	<i>54</i>
4.8.3	<i>Labilní fosfor.....</i>	<i>55</i>

4.8.4	<i>Apatitový fosfor</i>	56
4.8.5	<i>Neapatitový fosfor</i>	56
4.8.6	<i>Fosfor vázaný na kovy</i>	57
4.9	Postup spektrofotometrického stanovení fosforečnanů	58
4.10	Statistické hodnocení výsledků	59
4.10.1	<i>Theil-Senův odhad trendu</i>	60
4.10.2	<i>Spearmanův korelační koeficient</i>	60
4.10.3	<i>Kruskal-Wallisův test</i>	61
4.10.4	<i>Tukeyova metoda HSD testu</i>	61
4.10.5	<i>Shapiro-Wilkův test</i>	62
5	VÝSLEDKY A JEJICH HODNOCENÍ, DISKUSE	63
5.1	Celkový fosfor	63
5.2	Frakcionace	74
5.2.1	<i>Anorganický fosfor</i>	78
5.2.2	<i>Organický fosfor</i>	82
5.2.3	<i>Labilní fosfor</i>	84
5.2.4	<i>Apatitový fosfor</i>	93
5.2.5	<i>Neapatitový fosfor</i>	101
5.2.6	<i>Fosfor vázaný na železo (na oxidy kovů)</i>	103
5.2.7	<i>Jednotlivé formy fosforu v referenčním vzorku BCR-684</i>	119
5.3	Analýzy složení vzorků sedimentů elektronovým mikroskopem	120
6	ZÁVĚR A PŘÍNOS DISERTAČNÍ PRÁCE PRO ROZVOJ VĚDNÍ DISCIPLÍNY	123
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	125
8	SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ	140
9	SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	142
10	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A PŘÍLOH	146
11	PŘÍLOHY	151

1 ÚVOD

Nadměrným přísunem nutrientů do povodí dochází ke snižování kvality vod, což vede v ekosystémech ke změnám s alarmujícími následky, jako jsou především rozvoj fytoplanktonu, ovlivnění kyslíkového režimu, úbytek vyšších rostlin a citlivých organismů, s tím související snížení samočisticích schopností vodních toků a vodních nádrží a mnoho dalších. Je tedy nezbytné zabývat se příčinami těchto negativních následků, kde jednou z nich je zatížení vodních toků vysokým množstvím fosforu, jakožto klíčového prvku významně ovlivňujícího kvalitu vody. Znalost koncentrace fosforu je k určení stavu eutrofizace v akvatickém ekosystému důležitá (Cymbala et al., 2008). Nařízení vlády 61/2003 uvádí hodnoty koncentrace celkového fosforu, jako ukazatele vyjadřujícího stav kvality vody, avšak v sedimentech není jeho maximální přípustná koncentrace stanovena v České republice, ani v zahraničí. Problematikou fosforu ve vodách i v sedimentech se odborníci u nás i ve světě zabývají mnoho let, ale narozdíl od příspěvků zaměřených na fosfor v sedimentech nádrží, se tematika zatížení sedimentů vodních toků fosforem v literatuře vyskytuje zřídka.

Fosfor se akumuluje v sedimentech v organické i anorganické formě. Je fyzikálně adsorbován na povrch sedimentů, je chemicky vázán v minerálech a biologicky asimilován v buňkách a detritu, pocházejícím z bentických organismů sedimentů. Za příznivých podmínek může být fosfor uvolněn zpět do vodního sloupce (House a Denison, 2002). Takto postupně uvolňovaný fosfor může být dalším zdrojem živin pro vodní organismy ve vodních nádržích a vodních tocích.

Sorpční schopnosti sedimentů zvyšuje přítomnost organických látek, které tvoří komplexy s kovy (Fe, Al, Ca) a v jejich přítomnosti se váže také fosfor (Borovec a Hejzlar, 2003; Pagliosa et al., 2005). Vzájemné vztahy fosforu se železem, vápníkem a organickými látkami potvrdili např. tyto autoři Evans et al. (2004), House a Denison (2002), Katsaounos et al. (2007a).

Fosfor vázaný na kovy, podobně jako anorganický, organický, apatitový, neapatitový a další formy, které jsou součástí celkového fosforu, je možno ze sedimentů extrahovat a kvantifikovat. Znalost forem fosforu je přínosná v souvislosti s rozvojem fytoplanktonu (Maršálek, 2010). Za účelem určení koncentrace různých forem fosforu v různých matricích jsou po desetiletí vyvíjeny frakcionační metody, které z jedné navážky vzorku sekvenčními stanoveními extrahují působením extrakčního činidla postupně různé frakce fosforu (Chang a Jackson, 1957; Hieltjes a Lijklema, 1980; Williams et al., 1976; Golterman, 1996; Psenner a Pucsko, 1988). Frakcionační metody využívají extrakční činidla, která tvoří jak kyseliny, zásady a jejich soli, tak chelatační činidla, nebo destilovaná voda. I požadovanou formu fosforu je možno extrahovat různými činidly. Podobně mnoho analytických metod existuje i pro stanovení koncentrace celkového fosforu. Není však vždy zcela zřejmé, jaké efektivitu metody stanovení celkového fosforu i jeho forem z hlediska výtěžnosti dosahují.

Předmětem práce je vývoj a hodnocení metod stanovení celkového fosforu a hodnocení metod stanovení vybraných forem fosforu. Metody jsou ověřeny na reálných vzorcích sedimentů drobných vodních toků, za účelem přispět k současným znalostem o koncentracích celkového fosforu i jeho vybraných frakcí a koncentracích vápníku a železa, v souvislosti s fosforem v říčních sedimentech.

2 PŘEHLED O SOUČASNÉM STAVU ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Snaha zlepšit ochranu a ekologický status povrchových vod, částečně také v souvislosti s trofizací řek a jezer je patrná jak v Evropě, tak v severní Americe (Reddy et al., 1999 in "Proceedings of the Great Lakes Phosphorus Forum," 2009).

Problematika znečištění povrchových vod živinami je po celém světě známa řadu let. Pařížská konference o problémech eutrofizace toků se konala v r. 1966, v užších odborných kruzích se však problematika eutrofizace studovala a diskutovala nejméně dvě dekády před tímto datem (Adámek et al., 2008). S trofizací je spojena změna kvality vody (Adámek et al., 2008; Maršálek et al., 1996). Přísun dusíku a fosforu z terestrických antropogenních zdrojů do řek způsobuje vizuální i biologické škody ve vodním sloupci (Haygarth a Jarvis, 1997), důsledkem je negativní ovlivnění celých ekosystémů. Zvýšená nabídka biodostupných živin se ve vodních ekosystémech projevuje primární produkcí. Trofizace vede jednoznačně k nadprodukci fytoplanktonu. Dle povahy vodního ekosystému a dané konfigurace vnějších podmínek (hydrochemických, hydrologických, meteorologických, hydrobiologických atd.) mohou dominantního postavení dosáhnout drobné planktonní řasy, větší koloniální, či vláknité sinice vytvářející vodní květ, bentické sinice a rozsivky, zelené litorální vláknité řasy, či vyšší vodní vegetace (Adámek et al., 2008; Maršálek et al., 1996).



Obr. 1 – Projevy trofizace vodního toku (z Kraje Vysočina)



Obr. 2 – Projevy trofizace vodního toku (Leskava, Kraj Jihomoravský)



Obr. 3 – Projevy trofizace vodního toku (Hartmanice, Kraj Vysočina)



Obr. 4 – Projevy trofizace vodního toku (Hartmanice, Kraj Vysočina)



Obr. 5 – Projevy trofizace nádrže (Slavkov, Jihomoravský Kraj)



Obr. 6 – Projevy trofizace nádrže (z Kraje Vysočina)

Vodní rostliny mají vyvinutý velmi účinný mechanismus příjmu fosforu (Reynolds a Davies, 2001). Pro vodní ekosystém (především stojatých vod) však může být masový rozvoj makrofyt reálný problém, omezuje prostor pro pohyb ryb a rozkládající se zbytky biomasy tvoří vrstvy sedimentů, které mají negativní vliv na kyslíkový režim (Adámek et al., 2008), dochází k recyklaci uhlíku, fosforu, dusíku, draslíku (Manahan, 2010).

Při dlouhodobém rozvoji cyanobakterií tvořících vodní květy je významně degradována biodiverzita, dochází k útlumu rozvoje až k vymizení vodních makrofyt, pozorovány jsou změny druhové a populační struktury zooplanktonu, omezení reprodukční schopnosti a zhoršení zdravotního stavu ryb. Prokázány jsou také akumulace toxinů sinic v potravních sítích, včetně ryb, měkkýšů apod. (Maršálek, 2010). Dochází ke změnám některých kvalitativních parametrů, jako například změna barvy vody, změna průhlednosti, ovlivnění kyslíkového režimu, snížena může být samočisticí schopnost řek a nádrží v souvislosti s možnými úbytky vyšších rostlin, či citlivějších organismů.

V nádržích s masovým rozvojem sinic dochází k výraznému zvýšení pH vody, zásadně je ovlivněn kyslíkový režim nádrží (ve dne přesycení kyslíkem, v noci a za svítání kyslíkové deficity a dlouhodobě bezkyslíkaté prostředí na povrchu sedimentů), při rozkladu sinic jsou do vody uvolňovány nejen toxiny, ale veškeré organické látky tvořící biomasu (Maršálek, 2010).

Základními prvky, jejichž obsah a dostupnost ve vodě může ovlivňovat produkci vodních květů, jsou dusík a fosfor. Fosfor se však považuje za nejdůležitější biogenní prvek určující v nádržích výši primární produkce fytoplanktonu. Koncentrace fosforu v povrchových vodách předepsaná jako norma environmentální kvality, vyjádřená jako celoroční průměrná hodnota, daná NV 61/2003 Sb. předepisuje hodnotu 0,15 mg/l celkového fosforu (ČR 2011), přičemž limitní hodnota pro sinice je 0,015 mg/l (Maršálek, 2010).

V České republice je fosfor živinou, která způsobuje trofizaci povrchových vod (Borovec a Hejzlar, 2010) a je prokázán jako dominantní příčina masového rozvoje sinic (Maršálek, 2010). Proto je nutné znát jeho zdroje, formy, v jakých se nachází, dynamiku přeměny, retenci v povodí atd. Vzhledem k tomu, že většina našich nádrží, kde se tvoří vodní květy sinic, mají krátkou dobu zdržení, je kvalita vody velmi často řízena kvalitou přitékající vody z povodí (Maršálek, 2010).

2.1 Fosfor v ekosystému

Fosfor, který je součástí nukleových kyselin, je životně důležitý komponent buněčných struktur všech žijících organismů. Nezbytný je zvláště pro energetické procesy a syntézy proteinů. Je přirozenou součástí všech ekosystémů. Koncentrace fosforu v ekosystémech však často mnohonásobně překračuje ekologicky únosné hodnoty (House, 2003; Maršálek et al., 1996; Reynolds a Davies, 2001).

Hlavním zdrojem fosforu jsou horniny a sedimenty. Jejich zvětráváním se fosfor dostává do půdy a vody v podobě fosforečnanů, dále je vyplavován a odnášen do mořských sedimentů. Z moře se získává část fosforu zpět výlovem ryb, část se získává v podobě guána mořských ptáků živících se rybami, část fosforu se vyskytuje v potravních řetězcích. Fosfor se do prostředí vrací zpět ve formě metabolitů (moč savců), nebo ve formě poměrně nerozpustných solí vápníku, které jsou součástí kostí obratlovců. Na navyšování koncentrace fosforu v ekosystémech se podílí odpady z průmyslové výroby a přispívají také vytěžené horniny obsahující fosfor, které se používají k výrobě průmyslových hnojiv. Rostliny využívají jen minoritní část obsaženého fosforu, majoritní část zůstává v půdě ve formě solí železa, hliníku, vápníku, draslíku. Po rozpuštění jsou znovu přístupné rostlinám a díky smyvům ze zemědělsky obhospodařovaných ploch je část solí obsahujících fosfor vyplavena do sedimentů (Johnson a Treece, 1998; Maršálek et al., 1996; Pivnička a Braniš, 1995; Reynolds a Davies, 2001). Velké množství fosforu vstupuje do vody a půdy z odpadních vod (Manahan, 2010; Reynolds a Davies, 2001) obsahujících fosfor pocházející jak z vylučování organismu, tak z dalších aktivit člověka, jako je používání pracích a mycích prostředků.

Z pohledu původu fosforu ovlivňujícího vodní ekosystém lze odlišit dva základní zdroje – „vnitřní“ fosfor uložený v sedimentech a „vnější“ fosfor, přicházející do vodního ekosystému vnějšími vstupy jako jsou povodí, či srážky (Borovec a Hejzlar, 2010). Dostál a Krása (2010), Reynolds a Davies (2001) uvádí, že plošné znečištění může být významným zdrojem fosforu pro vodní toky i nádrže, z plošných zdrojů patří k nejvýraznějším erozní a transportní procesy. Vodní eroze orné půdy, byla za významný zdroj fosforu považována v době intenzivního zemědělského hospodaření (Maršálek, 2010). Aktuální data ukazují, že zemědělství není dominantním zdrojem fosforu ve vodách (existují rozdíly mezi lokalitami, povodími, hospodáři). Dle aktuálních dat monitoringu vodních toků České republiky 67 % profilů nesplnilo dané meze v parametru celkový fosfor. Dominantním zdrojem fosforu jsou ve většině lokalit splaškové vody. Dle Českého statistického úřadu bylo v roce 2010 asi 60 % obcí bez odpovídající čistírny odpadních vod. Situace v Evropě a USA je obdobná, ČOV s funkčním terciálním stupněm nejsou standartní součástí ČOV pod 10000 EO (Maršálek, 2010; Reynolds a Davies, 2001).

Do odpadních vod vnese člověk vylučováním svého organismu 1,5 g fosforu za den (Hlavínek et al., 2003; Pitter, 1999). Splaškové vody obsahují však také fosforečnany z pracích prostředků a tím se specifická produkce fosforu zvyšuje na 2 až 3 g fosforu na obyvatele za jeden den (Pitter, 1999). Maršálková a Maršálek (2010) zveřejnili výsledky, z nichž je patrné, že také myčky na nádobí jsou významným zdrojem fosforu v komunálních vodách. Analyzovali 17 vybraných mycích prostředků a výsledky přepočítali na obsah celkového fosforu a fosfátů na jedno mytí. Obsah celkového fosforu na jedno mytí byl nejnižší u přípravku obsahujícího 37 mg/20 g, ale většina přípravků se pohybovala v rozmezí hodnot 1,4–2,4 g/20 g celkového fosforu na jedno mytí. Třetina

z testovaných přípravků obsahovala více než 30 % fosfátů. Jako problematické autoři shledávají v přípravcích obsažené fosfonáty, které mohou být využívány jako zdroj fosforu sinicemi, zatímco zelené řasy jsou schopny tento zdroj fosforu využít v omezené míře, či vůbec nedokážou využít a můžou tak vznikat podmínky favorizující sinice. Podobné analýzy se 7 vybranými nejoblíbenějšími pracemi prostředky prováděl Rozkošný (2006). Z výsledků analýz prací prostředků vyplývá, že dle doporučeného dávkování je z prášku na jedno praní použito od 0,4 mg do 10 g fosforu, většinou však okolo 0,2 g.

V sedimentech povrchových vod jsou znečišťující látky kumulovány a kvalita sedimentů je proto významným indikátorem současného, i dlouhodobého znečištění řeky, umožněna je nejen detekce, ale i lokalizace zdroje znečištění. Ve vodách zatížených přísunem fosforu z komunálních, průmyslových odpadních vod, nebo ze srážkového odtoku z polí, se fosfor může sorbovat do sedimentů (Manahan, 2010). Vzhledem k fosforu sediment vystupuje buď jako past anebo jako zdroj, přičemž obě role mohou být různě intenzivní a v průběhu roku (či existence nádrže) se mohou zaměňovat (Duras, 2007).

Koncentrace fosforu v sedimentech souvisí se složením sedimentu a jeho charakterem, nejvíce fosforu je v mobilních frakcích sedimentu, tj. v suspendovaném sedimentu, jemných naplaveninách, jílech a v organické hmotě (Choudhury F. A., 1988; Evans et al., 2004; Makarov et al., 2004). Hwang (1977) shledal nejlepší adsorpční schopnosti sedimentu ve frakci 5–2 μm . Nejméně celkového fosforu bylo nalezeno v hrubém písku (Choudhury F. A., 1988).

Na fosfor lze pohlížet buď jako na celkový fosfor, nebo lze sledovat a hodnotit jeho různé formy (frakce).

Sice o sledovaných maticích mnoho napovídá již samotná hodnota koncentrace celkového fosforu, ale v souvislosti s rozvojem fytoplanktonu je nutné znát jeho formy (Maršálek, 2010). Celkový fosfor je ukazatelem vyjadřujícím stav vody ve vodním toku daným příslušným NV (ČR 2011), avšak jeho maximální přípustná koncentrace v sedimentech není stanovena v České republice, ani v zahraničí.

2.2 Celkový fosfor a metody jeho hodnocení v sedimentech

Metody hodnocení množství celkového fosforu v sedimentech vychází z metod vyvinutých za účelem extrakce a analýzy celkového fosforu v půdách (Kovar a Pierzynski, 2009). Nejstarší metody stanovení celkového fosforu v půdách byly vyvíjeny půdoznalci a později byly využívány dalšími odborníky v oblasti životního prostředí. Používané metody rozkladu matrice jsou často založeny na tepelném rozkladu za použití silných kyselin nebo zásad (Pardo et al., 1998). K nejčastěji používaným metodám patří například tavení vzorku za použití uhličitanu sodného, mineralizace kyselinou chloristou, obě tyto metody zveřejnil (Jackson, 1959). K dalším metodám mineralizace vzorku patří kombinace kyseliny sírové, peroxidu vodíku a kyseliny fluorovodíkové, dále použití bromnanu sodného s následným využitím kyseliny sírové. Tyto metody převádí organický fosfor na anorganický za účelem stanovení celkového fosforu (Kovar a Pierzynski, 2009). Spolehlivé výsledky poskytuje z těchto metod tavení s uhličitanem sodným (Syers et al., 1967 in Kovar a Pierzynski, 2009).

Předpokládá se, že kyselá mineralizace způsobuje podhodnocení celkové koncentrace fosforu nedokonalou extrakcí fosforu z apatitu, nebo křemičitanových minerálů. Schopnost kyselé mineralizace extrahovat i tento fosfor proto závisí na kombinaci použitých kyselin (Syers et al., 1967 in Kovar a Pierzynski, 2009).

K novějším metodám patří mineralizace vzorku sedimentu dle SMT protokolu (např. Pardo et al., 2003a, 2004). Dále se využívají modifikované metody, např. metoda mineralizace vzorku pomocí kyseliny sírové (např. Bíliková, 1992), nebo kyseliny sírové obohacené oxidačním činidlem (např. Hupfer et al., 1995; Zwirnmann et al., 1999), kyseliny chloristé a fluorovodíkové (Kovar a Pierzynski, 2009). Poslední metoda poskytuje podobný stupeň podhodnocení množství fosforu jako mineralizace kyselinou chloristou (Kovar a Pierzynski, 2009).

Porovnání analytických metod stanovení celkového fosforu v různých matricích, ne však v sedimentech vodních toků, prováděli např. Andersen (1976); Chen et al. (2006); Kara et al. (1997); Ostrofsky (2012); Syers et al. (1967); Yu a Ho (2009); Zhou a Struve (2004) a další. Efektivita extrakce jednotlivými metodami je zpravidla následující: tavení uhličitanem sodným > mineralizace kyselinou fluorovodíkovou > mineralizace kyselinou chloristou > mineralizace kyselinou sírovou > žíhání (Syers et al., 1967 in Kovar a Pierzynski, 2009).

Hodnocení obsahu celkového fosforu v sedimentech zahrnuje rozklad sedimentu následovaný stanovením koncentrace uvolněných fosforečnanů. Nejběžnější metodou kvantifikace fosforečnanů je spektrofotometrické stanovení molybdenanem amonným. Fosforečnany reagují v kyselém prostředí s molybdenanem amonným za vzniku heterokomplexu kyseliny fosfomolybdenové. Tento heterokomplex je redukován v přítomnosti iontů Sb^{3+} . Výsledná fosfomolybdenová modř je vhodná pro spektrofotometrické hodnocení. Jako redukční činidla mohou být použity siřičitan sodný, chlorid cíničitý, 1-amino-2-naftol-4-sulfonová kyselina, hydrazid kyseliny sírové, železnaté soli a kyselina askorbová. Rušivé vlivy mohou být při analýze způsobeny sloučeninami přítomnými v sedimentu, reagujícími s molybdenanem (např. křemičitan, arseničnany), či ovlivňujícími redukci kyseliny fosfomolybdenové (např. ionty $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$), nebo mohou být způsobeny sloučeninami z extrakčních činidel, které ovlivňují pH kyselého prostředí (např. HCl , H_2SO_4 , NaOH , NH_4OH) (Malý, 1985 in Malá a Lagová, 2014).

Ostrofsky (2012) porovnal na sedimentech pocházejících z šesti jezer efektivitu čtyř vybraných metod rozkladu sedimentu. Metodu žíhání (která je podobná, avšak ne shodná s metodou představenou v SMT protokolu), metodu s peroxodisíranem draselným ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), metodu s kyselinou chloristou a dusičnou ($\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$) a metodu s kyselinou sírovou a peroxidem vodíku ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$). Porovnáním středních hodnot koncentrací celkového fosforu neshledal mezi metodami žádné signifikantní rozdíly. Nicméně výsledky metody s peroxodisíranem vykazaly větší variabilitu než výsledky zbývajících třech metod. Ostrofsky (2012) vysvětlil, že ve vzorcích s vyšším obsahem organické složky má peroxodisíranová metoda nižší účinnost, způsobuje to vazba oxidujícího organického fosforu na reaktivní fosforečnany.

Je zřejmé, že přesnost stanovení celkového fosforu závisí nejen na volbě metody účinnosti rozkladu matrice sedimentu a na potenciálních interferencích reagensů použitých pro rozklad s látkami uvolňovanými v průběhu rozkladu sedimentu, ale také na způsobu odběru vzorku a jeho zpracování.

2.2.1 Vzorkování, předúprava a zpracování vzorků

Vzorkování říčních sedimentů za účelem chemických ukazatelů předepisují platné české normy, vycházející z mezinárodních norem ISO 5667. Česká technická norma Jakost vod – Odběr vzorků zahrnuje jak pokyny k plánování odběrů vzorků (ČSN ISO 5667-1), tak způsoby odběru různých typů vzorků. Konzervaci vzorků vod a manipulaci s nimi předepisuje (ČSN ISO 5667-3), pro odběr vzorků z řek a potoků byl v této práci využit předpis (ČSN ISO 5667-6). Norma obsahuje ve svých částech pokyny pro různé typy sedimentů, předpis pro odebrání vzorků sedimentů z řek a potoků určuje (ČSN 1998). Pro vzorky sedimentů jsou zpracovány i pokyny ke konzervaci a manipulaci se vzorky v (ČSN ISO 5667-15).

Norma (ČSN ISO 5667-15) předepisuje maximální dobu uchování vzorku sedimentu v chladu, tmě a při hermetickém uzavření za účelem zkoumání orthofosforečnanů na 2 dny, pro celkový fosfor za stejných podmínek na 1 měsíc.

Problematika nakládání se vzorky není jednoduchá. Každá z metod zpracování vzorků za účelem jejich uchování má své kladné i záporné stránky, ať se jedná o sušení vzorků, jejich zmrazování, či uchování v lednici.

Turner a Haygarth (2001) uvádějí, že na množství celkového fosforu může mít vliv také vlhkost vzorku. Na půdách z travních porostů sledovali vliv procesu sušení a zavlažování a pozorovali zvýšení množství ve vodě rozpustného fosforu, převážně v organické formě poté, co byl uvolněn z mikrobiální biomasy. K rychlejšímu uvolnění fosforu došlo při teplotě 30 °C, k pomalejšímu při 15 °C. Autoři připisují vliv přímého rozpuštění fosforu mikrobiální biomase, protože mikrobi nemusí přežít osmotický šok a proces sušení vede k rychlé rehydrataci vedoucí k prasknutí buňky. Tento efekt může ovlivnit výsledky analýz zahrnující extrakci vzorků vodou.

Kerr et al. (2010) se zabýval efekty vysoušení sedimentů subtropických řek na sorpční schopnosti fosforu. Zkoumal, zda sušení a vysušování zvyšuje v sedimentech přístupnost biologicky dostupného fosforu. Zjistil, že u sedimentu záleží spíše na době vysoušení, než na jeho fyzikálně-chemických vlastnostech a obsahu celkového fosforu. Významné změny při laboratorním i *in-situ* sušení byly pozorovány v povrchové vrstvě sedimentu (0–2 cm), vyšší množství fosforu frakce $\text{NH}_4\text{Cl-P}$ (volně sorbovaný fosfor) byla oproti mokrému sedimentu v částečně suchém i vysušeném sedimentu. Naopak podíl fosforu ve frakci NaOH-nrP (labilní organický fosfor a polyfosforečnany) byl oproti mokrému sedimentu v částečně suchém i vysušeném sedimentu nižší, což znamená, že k podstatným přeměnám z relativně nedostupné organické formy na snadno dostupnou anorganickou formu fosforu došlo vysoušením. Rovnovážná koncentrace fosforu (což je míra potenciálu sedimentu být zdrojem nebo zásobárnou fosforečnanů) byla vyšší v sedimentech vysušených *in-situ* a v laboratoři, než u ponořených a částečně vysušených sedimentů. Toto spolu s výsledky z frakcionace naznačuje, že se potenciál sedimentu uvolňovat fosfor zvyšuje v důsledku vysychání sedimentů a stupeň vysoušení může být důležitým faktorem dlouhodobého potenciálu sedimentu být zdrojem nebo zásobárnou fosforečnanů po opětovném smáčení.

Přírodní, či antropogenní procesy vedoucí k vysoušení koryt toků tak můžou zvýšit riziko vstupu biologicky dostupného fosforu z dnových sedimentů do toku (Kerr et al., 2010).

Kovar a Pierzynski (2009) však uvádí, že uspokojivou metodou pro zacházení, přípravu a uchování vzorku pro studium změn koncentrací fosforu pro běžné analýzy by však mělo být sušení vzorku na vzduchu. Vzorky půd/sedimentů mohou být vysoušeny při teplotě 25–30 °C a rozdrcené mohou být sítovány přes síto s velikostí ok 2 mm. Takto zpracované vzorky jsou při laboratorní teplotě stálé. Sušení na vzduchu nemusí být vhodné pro stanovení absolutní kvantity různých frakcí. Sušení na vzduchu může uměle zvýšit množství rozpustného reaktivního fosforu (Mack a Barber, 1960 in Kovar a Pierzynski, 2009). Groot a Wijck (1993) in Kerr et al., (2010) zaznamenali při vysoušení sedimentu bažin zvýšení sorpce fosforu, při vysoušení sedimentu mokřadů snížení sorpce fosforu. Mack a Barber (1960) in Kovar a Pierzynski (2009) uvádí, že pro kvantitativní studie sedimentu by měly být vzorky skladovány vlhké mezi 0–4 °C. Vzorky by však neměly být zamrazeny, protože obsah ve vodě rozpustných složek celkového fosforu se po zamrazení zvyšuje.

Lyofilizaci vzorku pro analýzy anorganického uhlíku, celkového uhlíku, celkového fosforu, železa a hliníku uplatňuje například Borovec (2000), Borovec a Hejzlar (2003), Jan et al. (2013). Po zpracování a homogenizaci zamrazuje vzorky do doby analýzy (Coelho et al., 2004; Kaiserli et al., 2002). Zamrazení vzorků sedimentů provádí také Choudhury F. A. (1988) a Wang et al. (2008a). Konzervace vzorků rychlým zmrazením však může rozpadem buněk způsobit mobilizaci znečišťujících látek, zatímco v nekonzervovaných vzorcích může pokračovat mikrobiální transformace kritických parametrů. Sušením, zmrazováním a lyofilizací anoxických vzorků se mění umístění vazeb, např. u těžkých kovů, což prakticky znemožňuje diferencovaný výzkum forem vazby (ČSN ISO 5667-15).

Při jedné vzorkovací kampani je však vzorků mnoho, v lednici se dle doporučení Kovar a Pierzynski (2009) uchovat mohou, avšak je problematické je zpracovat a analyzovat do jednoho měsíce dle (ČSN ISO 5667-15), dochází k rozkladným procesům a anaerobním podmínkám, což opět ovlivňuje množství jednotlivých frakcí. Vysoušení vzorku také nemusí být ideálním řešením, protože dle Kerr et al. (2010) sediment může vystupovat jako zdroj, či zásobárna fosforu podle podmínek vysoušení. Důležité je identifikovat mechanismy a určit, které formy fosforu v sedimentech ovlivňují výsledky v důsledku vysoušení (Kerr et al., 2010). Pohled na zpracování vzorku za účelem jeho uchování tedy zatím není jednoznačný.

Vzorky sedimentů jsou dále běžně předupravovány. Řádné promíchání vlhkých vzorků je náročné a důkladné homogenizaci by měla být věnována velká pozornost. Velké částice (větší než 2 mm) mohou být před analýzou ze vzorků odstraněny (Kovar a Pierzynski, 2009). Separaci částic vzorky sedimentů zpracovávají například Heathwaite et al. (2005), Jarvie et al. (2002), Kaiserli et al. (2002), protože bylo shledáno, že se fosfor váže na částice především jílovité. Bíliková (1992) v postupu odebrání vzorků sedimentů uvádí potřebu přesítovat vzorek na požadovanou velikost zrn, k analýze sedimentů se nejčastěji používají vzorky s velikostí zrn do 1 mm. Pardo et al. (2004) používá částice menší než 90 µm. Fedotov et al. (2011) uvádí, že částice větší než 50–100 µm mohou být frakcionovány konvenčním mokřím, či suchým sítováním. Borovec et al. (2012) vzorky před analýzou předupravuje cezením sítkem s velikostí ok 0,2 mm, dříve však používal síta s velikostí

ok 1 mm Borovec (2000), Borovec a Hejzlar (2003). Katsaounos et al. (2007a) vzorky suší na vzduchu a následně přesívá přes nerezové síto s velikostí ok 2 mm, poté ukládá při 4 °C do skleněných nádob překrytých alobalem. Evans et al. (2004) vzorkuje speciálně vyrobeným nerezovým lapačem částic osázený sítem s velikostí ok 5 mm. Wang et al. (2008a) používá k úpravě vzorku síto s velikostí ok 25 mm.

2.2.2 Tavení s uhličitanem sodným

Tavení s uhličitanem sodným je považováno za jednu z nejefektivnějších metod rozkladu, protože extrahuje také fosfor, který je součástí matrice křemičitanových minerálů. Kombinace kyseliny sírové a fluorovodíkové, či chloristé a fluorovodíkové mají podobné efekty (Kovar a Pierzynski, 2009).

Postup vychází ze souborů metod pro analýzy fosforu v půdách, vodách, sedimentech a reziduích (Kuo, 1996 in Kovar a Pierzynski, 2009). Metoda je založena na interakci vzorku sedimentu s Na_2CO_3 za tepla v platinovém kelímku. Do platinového kelímku se naváží 1 g suchého sedimentu (částice menší než 0,15 mm), převrství se 4 g Na_2CO_3 a jemně se zahřívá Meckerovým kahanem. Na kelímek se umístí víko, 1/5 však zůstává nedovřená, kelímek zahřívá se malým plamenem 10 minut. Kahan se otevře na maximum a kelímek se zahřívá 15–20 minut. Pro zajištění oxidačního prostředí se víko kelímku občas musí zvednout. Po odstranění kelímku z plamene se kelímek pomalu otáčí, aby tavenina ulpívající na stěnách kelímku tvořila tenkou vrstvu. Po vychladnutí kelímku se s ním v dlaních otáčí s cílem taveninu odstranit. Tavenina je následně vyjmuta pomocí 4.5 M H_2SO_4 . Kelímek i s víčkem se umístí do kádinky s 25ml 1M H_2SO_4 a přivede se k varu. Roztok se z kádinky převede do 250ml odměrné baňky, doplní se destilovanou vodou po rysku, sediment se nechá usadit a odebere se alikvotní část roztoku. Stanoví se fosforečnany, autor využívá metody dle Murphy a Riley (1962), více je popsáno v kapitole 2.5. po vybarvení vzorku a po 10 minutách se měří absorbance při 880 nm. Metoda stanovení koncentrace fosforu využívající kyselinu askorbovou se používá ve velké míře při analýze půd, při kyselém loužení (HClO_4 nebo HF) a tavení s uhličitanem (Kuo, 1996 in Kovar a Pierzynski, 2009).

2.2.3 SMT procedura

Další metodou pro stanovení celkového fosforu v sedimentech je metoda navržená Evropskou komisí v rámci programu standardů/norem, měření a testování (SMT protokol). Tento protokol byl vytvořen za účelem stanovení pěti frakcí fosforu v sedimentech, anorganického, organického, apatitového, neapatitového anorganického a celkového fosforu. Vychází z metody Williamse (Ruban et al., 1999; Williams et al., 1980).

Postup uvádí Pardo et al. (2004, 2003a). Navážka vysušeného vzorku se v porcelánovém kelímku žihá při 450°C a následná extrakce fosforu se provádí silnou kyselinou (chlorovodíkovou) v laboratorních podmínkách. Do extraktu uvolněný celkový fosfor se stanoví standartní analýzou fosforečnanů.

Alternativou této metody (Pardo et al., 2004; 2003a) je postup uvedený v Colina et al. (1996). Postup se liší množstvím vzorku, použitím vlhkého vzorku namísto vysušeného, dobou a teplotou žihání, množstvím použité kyseliny. Vlhký vzorek sedimentu se žihá kratší dobu, jen 2 hodiny, ale při vyšší teplotě, 550 °C. Interakce vyžíhaného vzorku s kyselinou chlorovodíkovou probíhá také, ale uvádí se hodinové povaření vzorku. Následně se roztok

doplní destilovanou vodou a provede se standardní stanovení fosforečnanů. V příspěvku Colina et al. (1996) není na rozdíl od příspěvku Pardo et al. (2004; 2003a) uvedeno, o jakou koncentraci kyseliny chlorovodíkové se jedná.

Golterman (2004) uvádí možnost stanovit celkový fosfor kalcinací při teplotě 500 °C s následnou extrakcí kyselinou chlorovodíkovou. Metodu kalcinace podle SMT procedury používá ve své práci také (Kerr et al., 2010).

2.2.4 Mineralizace kyselinou sírovou

Bíliková (1992) uvádí, že pro stanovení celkového fosforu v sedimentech je možno použít metodu doporučenou pro analýzu odpadních vod. Jako mineralizační činidlo použila kyselinu sírovou. Při mineralizaci vzorku sedimentu s koncentrovanou kyselinou sírovou se rozloží organické sloučeniny fosforu a zároveň se hydrolyzují všechny polyfosforečnany. Oxidačním rozkladem vzniknou rozpustné anorganické orthofosforečnany, které se stanoví spektrofotometricky za použití indikátoru 2,4-dinitrofenolu. Urychlení mineralizace může způsobit přidavek peroxodisíranu draselného, či amonného (Bíliková, 1992; Hupfer et al., 1995). V tzv. mokřém stanovení celkového fosforu využívá oxidační činidlo s kyselinou sírovou i Golterman (2004).

Bíliková (1992) pro stanovení celkového fosforu v sedimentu používá vyšší množství sedimentu (10 g), který se vloží do Kjehldahlovy baňky, přidá se koncentrovaná kyselina sírová a mineralizuje se do vyčiření. Po ochlazení se obsah baňky převede do titrační baňky, kde se přidá 2,4-dinitrofenol a obsah se zneutralizuje hydroxidem amonným. Po doplnění baňky destilovanou vodou se nechá usadit a čirý žlutý roztok se vyhodnotí spektrofotometricky při 690 nm oproti slepému pokusu.

Golterman (2004) k navážce sedimentu přidává kyselinu sírovou (úspěšně neutralizuje přítomný CaCO_3), následuje peroxodisíran draselný, kdy použité množství volí podle množství přítomného organického uhlíku, stanoveného analýzou. Přídavek peroxodisíranu produkuje v průběhu rozkladu kyselinu sírovou a digesce je proto mnohem kyselejší, než kdyby byla použita jen kyselina sírová. Vzorek se s činidlem zahřívá 2–3 hodiny a po ochlazení se rozpustí. Uvádí, že neutralizace silným hydroxidem sodným není potřebná, může způsobit ztráty vysrážením $\text{Fe}(\text{OOH}) \sim \text{P}$. Následné analytické stanovení fosforečnanů podle Murphy a Riley (1962) kyselost toleruje.

2.2.5 Mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku

Doposud nebyla shledána publikace, uvádějící využití tohoto snadného, bezpečného a poměrně rychlého stanovení celkového fosforu v sedimentech vodních toků. Metoda mineralizace sedimentu kyselinou sírovou a peroxidem vodíku není dnes pro stanovení celkového fosforu běžně využívaná, ale byla již využita za různých reakčních podmínek. Na stanovení celkového fosforu v sedimentech jezer Hupfer et al. (2004) mineralizoval 5–10 mg sedimentu směsí 20 ml 5 M H_2SO_4 , 2 ml 30 % H_2O_2 a 20 ml destilované vody po dobu 16 hodin při 150 °C. Stejný autor při stejných podmínkách mineralizoval později, zkrátit však dobu mineralizace na 8 hodin (Hupfer et al., 2009). Kleeberg et al. (2010) mineralizuje vzorek 3 hodiny při dvou teplotách (120 °C a 160 °C). Ostrofsky (2012) 5–10 mg vzorku sedimentu z jezera mineralizuje 2 ml 5 M H_2SO_4 a 2 ml 30% H_2O_2 bez přídavku vody po dobu 8 hodin při 120 °C. V předkládané práci jsou podmínky modifikovány (postup v kapitole 4.7.4) a je tak výrazně zkrácen čas mineralizace vzorku.

Golterman (2004) místo použití oxidačního činidla peroxodisíranu draselného připouští i možnost použít pro stanovení celkového fosforu kyselinou sírovou i peroxid vodíku, ale upozorňuje na možnost problémů formace CaSO_4 . Zdůrazňuje, že musí být důkladně rozložen peroxid vodíku, protože by interferoval ve stanovení fosforečnanů. Zwirnmann et al. (1999) doporučuje použít peroxid vodíku při potřebě urychlit mineralizaci vzorku kyselinou sírovou. Kombinace kyseliny sírové a peroxidu vodíku za účelem kvantifikace celkového fosforu byla využita dále např. ve vzorcích tkání kořenů stromů (Jennings, 1964), v rostlinných vzorcích (Walinga et al., 1995), v trvale ponořených sedimentech litorální zóny jezera a v sedimentech s fluktuující hladinou vody (Xu et al., 2007), ve vzorcích vod (Cabrera et al., 1982).

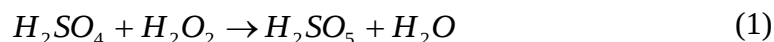
(Harwood et al., 1969 in Cabrera et al., 1982) testoval ve vzorcích vod pět metod umožňujících rozklad organických sloučenin fosforu a jako nejrychlejší a nejjednodušší metodu vybral oxidaci s 50% peroxidem vodíku. (Nicholls, 1975 in Cabrera et al., 1982) navrhl tuto metodu k simultánnímu stanovení celkového fosforu a Kjeldahlova dusíku v přírodních vodách. Tato metoda však byla aplikována na vzorky vod řeky Guadalquivir ve Španělsku a některé výsledky koncentrace celkového fosforu byly nižší než koncentrace fosforu rozpuštěného (filtrovatelný, orthofosforečnanový), u nějž nemůže vzniknout chyba manipulací vzorku. Cabrera et al. (1982) proto hledal příčinu těchto anomálních výsledků a navrhuje lehkou modifikaci metody za účelem zlepšit její spolehlivost. Ke vzorkům vod v Kjeldahlových baňkách přidal koncentrovanou kyselinu sírovou, varné kuličky, zahříval v digestoři na varné desce do vzniku dýmů SO_3 . Po ochlazení přidal 1 ml peroxidu vodíku a baňka byla opětovně zahřívána do vzniku dýmů SO_3 . Po vyčiření vzorku bylo zahřívání prolongováno až do úplného rozkladu peroxidu. Modifikace spočívá v následném přidavku H_2SO_4 a míchání po dobu 30 minut (Cabrera et al., 1982). Hodnota pH v roztoku klesla, současně vzrostly hodnoty celkového fosforu a koncentrace železa a hliníku. Vzhledem k tomu, že hliník a železo mají velkou sorpční kapacitu aniontů, které pak z roztoku můžou přecházet a tvořit sraženinu, se pak jako vysvětlení zkreslených výsledků vzorků vody z řeky Guadalquivir jeví následující. Železo a hliník z roztoku se přidavkem H_2O_2 a H_2SO_4 a následně i NaOH sráželo ve formě hydratovaných oxidů (hnědý $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ a bílý $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), zatímco se autor Cabrera et al. (1982) této chybě vyhnul modifikací postupu přidavkem další H_2SO_4 a dostatečným časem pro rozpuštění sraženiny před filtrací. Fosfor byl analyzován dle standartní spektrofotometrické metody (Murphy a Riley, 1962).

Pro potřeby Disertační práce však bylo stanovení celkového fosforu metodou mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku aplikováno a testováno na sedimentech drobných vodních toků. Aplikovaná metoda vychází z postupu uvedeného v instrumentačním manuálu pro vzorky kalů (Hach, 1989).

Navážka zhomogenizovaného vzorku se převede do 100ml baňky určené pro rozklad. Do baňky se přidá koncentrovaná kyselina sírová. V mineralizačním zařízení se navolí teplota 440°C a po dosažení této teploty se nasadí baňka se vzorkem, frakcionační kolona se spuštěným chlazením vodou a odsáváním. Na kolonu se umístí nálevka. Nechá se 4 minuty vařit, ale nesmí se dopustit vysušení vzorku. Pakliže je v baňce stále viditelná kyselina sírová, přes nálevku se přikapává peroxid vodíku. V opačném případě, nepřítomnosti kyseliny je nutno rozklad přerušit a zvolit buď menší navážku vzorku, nebo zvýšit množství kyseliny sírové. Po ukončení přidavku peroxidu se cca minutovým zahříváním odstraní přebytek peroxidu, dbá se na to, aby nedošlo k vysušení baňky. Baňka se z aparatury odstraní, nechá se chladit na vzduchu, následně se doplní

destilovanou vodou a v případě viditelného zákalu se doporučuje vzorek zfiltrovat a zanalyzovat (Hach, 1989).

Navážka vzorků se doporučuje od 0,5 g suchého vzorku a od 2,5 g mokrého vzorku, s přídavkem 4 ml kyseliny sírové. Směs se předehtřívá 3–5 minut, peroxid vodíku v objemu 10 ml se přidává ve dvou krocích po pěti mililitrech. Vzorek se pak ještě 15 minut zahřívá a zfiltruje. Peroxid vodíku s kyselinou sírovou reaguje okamžitě za vzniku kyseliny peroxosírové, pro uhlíkaté sloučeniny extrémně silného oxidačního činidla, dle rovnice:



Postup dle Hacha (1989) je jednoduchý, rychlý a relativně bezpečný, je však nutno dbát na jeho správné provedení a vyvarovat se pochybením, hrozícím nepoučeným osobám. Postup nedoporučuje rozkládat vzorky, které obsahují více než 0,5 g nevodných vzorků a nepoužívat více než 3 ml kyselin. Protože jsou dýmy kyseliny sírové klasifikovány jako možný karcinogen, je vhodné provádět rozklad v digestoři. Nedoporučuje se používat peroxid vodíku v koncentracích větších než 50 %. Peroxid vodíku se nikdy nesmí přidávat do suché baňky, vždy se přidává až po přídavku kyseliny sírové. Pakliže si není laborant jistý provedením přídavkem kyseliny sírové před peroxidem vodíku, peroxid nepřidává a rozklad vzorku provede znovu. Peroxid vodíku se do baňky nesmí vlévat přímo, ale do kolony se přikapává kapilární nálevkou. Před rozkladem ani po rozkladu se do baňky nesmí přidávat alkoholy, aceton, nebo další organická rozpouštědla (Hach, 1989).

Metoda dle Hacha (1989) určená pro vzorky kalů byla modifikována a testována na sedimentech vodních toků, jejichž rozklad byl za účelem stanovení celkového fosforu proveden právě mineralizací kyselinou sírovou a peroxidem vodíku (Lagová a Malá, 2011).

2.2.6 Další známé metody, nepoužívané v disertační práci

Rozklad vzorku kyselinou chloristou určující obsah celkového fosforu se stal standartním stanovením úrodnosti půdy, i kvality vody (Reynolds a Davies, 2001). Používaná kyselina chloristá patří k rizikovým kyselinám ve smyslu bouřlivé reakce s organickými látkami ve vzorcích sedimentů, pokud se organické látky nejprve nepodrobí rozkladné reakci s kyselinou dusičnou. Důležité je proto přesné provedení předepsaného postupu, včetně dodržení uvedených teplot mineralizace. Metodu rozkladu vzorku sedimentu kyselinou chloristou u nás v literatuře popisují např. Kopáček a Hejzlar (1993; 1992). V zahraniční literatuře je metoda podrobně popsána např. v souboru metod pro analýzy fosforu v půdách, vodách, sedimentech a reziduích (Kovar a Pierzynski, 2009). V Erlenmayerově baňce se smíchá vzorek se 70% $HClO_4$, na baňku se umístí nálevka, obsah se předehtřívá na 130 °C, následně při 203 °C, objevují se husté bílé dýmy. Je-li vzorek s vysokým obsahem organických látek, přidává se další $HClO_4$. Po mineralizaci se doplní destilovanou vodou, sediment se nechá usadit a provede se standartní stanovení celkového fosforu (Kuo, 1996 in Kovar a Pierzynski, 2009).

K dalším, u nás ne tak běžně využívaným metodám extrakce fosforu patří mikrovlnná digestce vzorku v kyselém prostředí (Kovar a Pierzynski, 2009), nebo metoda alkalické oxidace využívající bromnan sodný (Dick a Tabatabai, 1977 in Kovar a Pierzynski, 2009). Metoda s bromnanem poskytovala výsledky o 1 % vyšší než mineralizace kyselinou chloristou, avšak stále o 4 % podhodnocovala výsledky získané tavením uhlíčanem sodným.

2.3 Problematika vazebných souvislostí sedimentárního fosforu

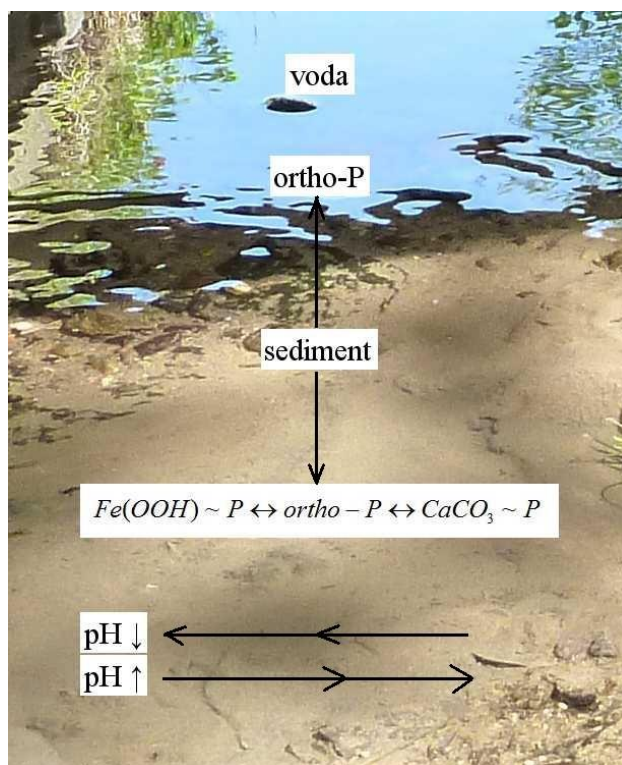
2.3.1 Vazba fosforu v sedimentech

Sedimenty mohou být prostředkem transportu rozpuštěných forem (např. živiny, toxické látky), nebo mohou napomáhat v jejich odstraňování pomocí adsorpce, iontové výměny, koprecipitace, nebo komplexace a chelatace. Ne všechny reakce jsou však možné ve všech typech sedimentů. Některé z těchto reakcí jsou ovlivňovány změnou pH, při níž mohou být kontaminanty (také fosforečnany) ze sedimentů uvolňovány. Některé sloučeniny, jako sloučeniny rtuti, železa, manganu, mohou být ze sedimentů uvolňovány za redukčních podmínek (Golterman, 2004).

V sedimentech byly zaznamenány dva mechanismy vazeb, fyzikální nebo chemická adsorpce (chemisorpce). Procesu fyzikální adsorpce se účastní jílové minerály a jejich vnitřní složky, hydroxidy kovů, které mají reverzibilní adsorpční vlastnosti, definované jejich strukturou, povrchem a chemickým složením roztoku, v němž jsou obsaženy. Reziduální náboj částic jílovitých minerálů je obvykle negativní, proto jsou přitahovány kationty konkurující hydratovaným iontům. Za adsorpci negativně nabitých iontů mohou zejména jílovité vrstvy, obsahující často $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Ligandová výměna na povrchu oxidů a hydroxidů kovů a jílových minerálů může způsobovat rychlé sorpce volných fosforečnanových skupin z biodostupného (rozpuštěného reaktivního) fosforu směrem k podmíněně dostupné frakci fosforu ($\text{NH}_4\text{Cl-P}$, NaOH-P). Vzájemná výměna kationtů závisí na hustotě jejich náboje a jejich relativní koncentraci v roztoku, např. větší kationt draslíku bude v porovnání s malým kationtem sodíku schopný vazby v menší míře, protože je elektronegativita sodíku vyšší. Vyšší hustota náboje je příčinou silnějších vazeb kationtů na hydratované komplexy. Ve vápenatých jílech má nejvyšší schopnost vzájemné výměny kationtů Ca^{2+} , v bezvápenatých jílech jej nahrazuje H^+ . Slabě vázané (např. vodíkovými můstky) huminové materiály mohou být vázány volně. Huminový materiál je možné extrahovat chelatačními činidly, např. Ca- nebo $\text{Na}_2\text{-EDTA}$. V procesu chemické adsorpce dochází ke vzájemné výměně kationtů H^+ z $\text{Si}(\text{OH})$, $\text{Al}(\text{OH})$, $\text{Al}(\text{OH})_2$ a $\text{FeO}(\text{OH})$ skupin jílových minerálů a hydroxidů kovů, a $-\text{COOH}$ a $-\text{OH}$ skupin z huminových látek. EDTA je silné chelatační činidlo, přirozeně se vyskytující huminové látky lze považovat za mírná chelatační činidla. Huminové/Fe komplexy jsou však silnější než tato chelatační činidla a jsou rozpustné až v extrakčním kroku frakcionace fosforečnanů, při němž je využíván horký NaOH. Adsorpce fosforu na FeOOH ($\text{Fe}(\text{OOH})\sim\text{P}$) je silnějšího charakteru a v sedimentech je podstatným zdrojem fosforečnanů vázaných se železem. FeOOH částice, patřící k silnějším adsorbentům, adsorbují huminové sloučeniny výměnnou iontovou adsorpcí. Může se jednat například o komplexy nacházející se v roztoku po frakcionaci fosforu horkým NaOH, společně s fulvinovými kyselinami a fytáty, které jsou adsorbovány na FeOOH ještě silněji než fosforečnany (Golterman, 2004; Reynolds a Davies, 2001).

Oxidací organických komponent sedimentu jsou tedy fosforečnany sorbovány na dostupná vazebná místa na jílových minerálech, oxidech a zejména železitých hydroxidech, stávajících se podmíněně dostupnou frakcí (Reynolds a Davies, 2001). Také Evans et al. (2004) potvrzuje, že výskyt vápníku, hliníku, železa významně ovlivňuje množství fosforu, vztahy pozoroval mezi celkovým fosforem, celkovým železem, celkovým manganem a organickou hmotou. House také zaznamenal při porovnání vzorků sedimentů z různých řek vztah mezi celkovým fosforem a železem, vápníkem a organickou hmotou. Porovnával 108 vzorků z 51 míst šesti různých povodí (House a Denison, 2002). Weber (1988) in Borovec a Hejzlar (2003) uvádí, že organické látky samy o sobě mnoho fosforu nezadržují, ale jsou schopny vázat fosfor prostřednictvím kationtů Fe^{2+} , Al^{3+} nebo Ca^{2+} .

V tvrdých vodách probíhají současně dva procesy vazby, adsorpce a srážení, v měkkých vodách mohou probíhat současně jen v případě dostatečně vysokých koncentrací pH a orthofosforečnanů. Obr. 7 přibližuje vznik a vazbu možných sloučenin fosforu, vznikajících z orthofosforečnanů, vlivem změn pH. Vyrůstající pH způsobuje posunutí rovnováhy směrem k tvorbě $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$ a snížení množství $\text{Fe}(\text{OOH})\sim\text{P}$ a snížení pH způsobuje opak.



Obr. 7 – Vliv změn pH na přeměny v zásobách různě vázaného fosforu. Pro obrázek využito znázornění uvedené v Golterman (2004).

Adsorpce orthofosforečnanů na částice závisí také na velikosti a původu částic. Menší částice mají relativně větší povrch a adsorpce bude upřednostněna na tyto menší částice (Golterman, 2004). V českých příspěvcích se uvádí, že částice v nádržích s velkým množstvím fosforu, vázaným v organických částicích a s malým obsahem vazebných partnerů pro fosfor (nejčastěji hydroxidů železa a hliníku), mají vysoký eutrofizační potenciál (Borovec et al., 2012). Ve zprávě ÚKZÚZ se za rok 2011 uvádí, že sedimenty vodních toků, které byly sledovány, byly převážně hrubší zrnitosti s nižšími

průměrnými obsahy přístupných živin kromě fosforu, jehož hodnoty byly nadprůměrné (fosfor 53,7 mg/kg, draslík 192,4 mg/kg, hořčík 300,5 mg/kg, vápník 3261,6 mg/kg) (Poláková et al., 2012). Z rizikových prvků byly významněji zastoupeny arsen, měď a zinek. Souvislost obsahu celkového fosforu a velikostního složení částic uvádějí také Evans et al. (2004), Wang et al. (2008a), nejvyšší množství fosforu v jílových minerálech uvádí Evans et al. (2004), Makarov et al. (2004), stoupající množství fosforu s klesající velikostí zrn shledal ve svých experimentech také Pedersen (2008). Příspěvek Lagová et al. (2013) zabývající se souvislostí zrnitostního a prvkového složení částic s obsahem celkového fosforu v sedimentech vodních toků potvrzuje svými výsledky předpoklad, že se fosfor váže na jemnější částice jen částečně. Posouzení obsahu celkového fosforu ve vzorcích kategorizovaných do frakcí dle Kopeckého poukázalo na to, že závislost mezi velikostí frakce a koncentrací fosforu není jednoznačná. Jako rozhodující pro obsah celkového fosforu v částicích sedimentů není rozhodující zrnitostní (fyzikální) složení vzorků, které se běžně stanovuje zrnitostními rozbory, ale zejména identifikace zastoupení prvků v částicích zkoumaných vzorků. Elektronová mikroskopie pomohla určit, že vzorky sedimentů s největším obsahem tzv. chemického jílu obsahují většinou také nejvyšší množství celkového fosforu, tedy, že se vzrůstajícím obsahem chemického jílu roste množství celkového fosforu (Lagová et al., 2013).

2.3.2 Retence fosforu v sedimentech

Retence fosforu v řekách je variabilní v prostoru a čase. Za nízkých průtoků, například v průběhu léta se minimalizuje schopnost ředění, dochází ke zvýšení kontaktního času pro interakce fosforu se sedimentem a biotou, v říčních systémech tak dochází k maximální retenci fosforu např. Reddy et al. (1999).

Jarvie et al. (2002) zaznamenala při nízkém průtoku v letních měsících v sedimentech až 60% retenci fosforu ve dvoukilometrové délce toku od bodového zdroje. Bodové zdroje hrají v přísunu fosforu v letních měsících významnou roli, přinášejí převážně biodostupnou formu fosforu – fosforečnany, které jsou spotřebovávány zejména pro asimilaci.

Retenci fosforu ovlivňuje také působení biogeochemických a fyzikálních faktorů, které přispívají v průběhu transportu fosforu do nižších částí toku k jeho čerpání a/nebo přeměně. Zda-li se fosfor vstupující do řek stane součástí říčních biogeochemických cyklů, záleží na vstupující formě fosforu, její reaktivitě a převažující době zdržení vody. K fyzikálně-chemickým procesům v sedimentech, ovlivňujícím množství, formy, dostupnost fosforu v sedimentech říčního kontinua, patří sorpčně-desorpční reakce, srážení, či rozpustnost minerálů, advekce a difúze. K ovlivňujícím biotickým procesům patří asimilace anorganických a organických frakcí fosforu a mikrobiální rozklad organické hmoty. Biotické procesy mohou hrát klíčovou roli při vstupu fosforu na rozhraní sediment-voda. Hydrologie a geomorfologie má na cyklus fosforu hlavní vliv, výměnu fosforu ovlivňuje rychlost proudění, rozsah a doba kontaktu mezi vodou a sedimentem, biofilmem a povrchem perifytonu (Reddy et al., 1999; Withers a Jarvie, 2008; House a Denison, 2002). Pokud se jedná o vodní těleso, vliv sedimentů na cyklus fosforu závisí také na schopnosti zadržení, či uvolnění fosforu, což je dáno nejen místně a časově, ale také trofickým stavem vodního tělesa. Sedimenty oligotrofních jezer často fosfor zadržují díky dosud nevyčerpané sorpční kapacitě, naopak sedimenty eutrofních/hypertrofních nádrží a jezer jsou považovány za zdroj fosforu (Borovec, 2003).

Míru retence fosforu v sedimentech ovlivňuje také chemické složení sedimentů. Volné vazebné kapacity oxidů-hydroxidů na povrchu sedimentů slouží jako zásobárna fosforu, nadměrný přísun živin proto přispívá k vyčerpání fosfor-vazebné kapacity sedimentu. Sedimenty obsahující železo, nebo vápník a jíly poskytují fosforu vyšší vazebné možnosti. Fosfor z rozkladu rostlinných a živočišných zbytků může být sorbován, či tvořit komplexy s oxidy kovů a jílovými minerály, může být transportován a recyklován stejnými způsoby jako fosfor pocházející z dalších zdrojů (Reynolds a Davies, 2001).

2.3.3 Remobilizace sedimentárního fosforu

Snadné recyklovatelnosti přístupných nesorbovaných fosforečnanů napomáhají primární producenti. Recyklace fosforu je podporována v mělkých vodách, kde jsou sedimenty narušovány prouděním, činností větru, bioturbací, naopak hluboké prokysličené sedimenty recyklaci neurychlují (Reynolds a Davies, 2001; House, 2003; Golterman, 2004). Ke spotřebě kyslíku dochází přímo v akumulovaných sedimentech, nebo při jejich zvěření v objemu vodního útvaru. Rozsah vlivu dnových sedimentů na kyslíkový režim závisí na podílu obsažené organické hmoty a stupni jejího biologického rozkladu (Holubec, 2005). Největší příležitost pro uvolnění a opětovné použití sedimentárního fosforu může vzniknout kombinací vysoké koncentrace fosforu, slabé vazebné kapacity, fyzikálnímu narušení sedimentů jako následek mělkých vod, nebo velkého množství bentofágních ryb, zejména kaprovitých (Lamarra, 1975).

„Vnitřní“ zdroje fosforu mohou být ze sedimentů za různých podmínek, zejména za přítomnosti a množství labilních forem, mikrobiální činnosti, anoxických podmínek aj., uvolňovány zejména v letních měsících (Søndergaard et al., 2003). Uvolnění fosforu ze sedimentů do vody je možné za redukčních podmínek a/nebo při změně pH (Meis et al., 2012; Reynolds a Davies, 2001). V místech, v nichž je zatížení organickou hmotou vysoké a kromě redukčních podmínek na povrchu voda-sediment je zvýšena i mikrobiální aktivita, mohou říční sedimenty fosfor do vody desorbovat a působit tak jako zdroj rozpuštěného reaktivního fosforu (Kovar a Pierzynski, 2009). Holubec (2005) uvádí, že procesů na rozhraní sediment-voda se účastní horní pěti centimetrová vrstva sedimentů.

K remobilizaci znečišťujících látek ze sedimentů může docházet zvěřením při změně hydrologického režimu, nebo při jejich těžbě, tento způsob uvolnění kontaminantů se uplatňuje přímo v korytech toků nebo ve zprůtočněných ramenech s usazenými sedimenty. Další způsob remobilizace kontaminantů difúzí, která se uplatňuje zejména ve vodních nádržích a jezerech, je podmíněn fyzikálně-chemickými podmínkami v sedimentech a desorpcí. Mechanismus remobilizačních procesů lze popsat různými modely (Holubec, 2005), posuzování vnitřního přísunu fosforu ze sedimentů do vodního sloupce by však mělo být prováděno pouze na základě podrobných bilančních měření, nikoliv z jakkoli měřených rychlostí uvolňování (Borovec, 2003).

Borovec a Hejzlar (2010) uvádí, že většina vodních ekosystémů v ČR má natolik krátkou dobu zdržení vody, že uplatnění vnitřního přísunu fosforu ze sedimentů lze zanedbat (alespoň do stavu, než dojde k zásadnímu snížení přísunu fosforu na přítoky). Celkový a rozpuštěný fosfor ve vodě

Fosfor se ve vodním prostředí nachází v mnoha chemických formách, organických i anorganických, rozpuštěných, koloidních, nebo se nachází v částicích, což jsou partikulované formy. Celkový fosfor zahrnuje všechny jmenované formy. Ve vodě se nejčastěji měří celkový a rozpuštěný fosfor (Nollet a Gelder, 2000; Spivakov et al. 2009).

Partikulovaný a rozpuštěný organický fosfor podléhá bakteriálnímu rozkladu a fosfor je převáděn do rozpustných orthofosforečnanových forem.

Tyto formy fosforu jsou důležité z hlediska sorpcí a desorpcí z/do sedimentů. Rozpuštěné formy je možné filtrovat, proto jsou nazvány jako filtrovatelné a jsou buď rozpuštěné, nebo rozpustné. Nejčastější rozpuštěné anorganické formy fosforu jsou orthofosforečnany (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}), do přírodních vod a organických sloučenin fosforu vstupují za běžných hodnot pH. Orthofosforečnany jsou běžně dostupné k asimilaci organismů, můžou však být z rozpuštěné formy odstraněny chemickým srážením pomocí Al^{3+} , Fe^{3+} a Ca^{2+} . Filtrovatelný organický fosfor zahrnuje nukleové kyseliny, fosfolipidy, inositol fosfatázy, fosfoamidy, fosfoproteiny, aminofosfonové kyseliny, pesticidy obsahující fosfor a kondenzované organické formy (Nollet a Gelder, 2000; Reynolds a Davies, 2001; Spivakov et al., 2009).

Metody analýzy fosforu jsou klasické, či kolorimetrické. Ke klasickým metodám patří gravimetrické metody, které se využívají pro stanovení fosforečnanů. Fosforečnany se sráží jako pyrofosforečnany hořečnaté, hexahydrát fosforečnanu amonno-hořečnatého nebo fosfomolybdenany zahrnující dusičnany, amoniak a kobalt. Další stanovení fosforečnanů může být volumetrické titrací fosfomolybdenanu amonného s hydroxidem sodným. Tato metoda má však slabou citlivost.

Ke kolorimetrickým metodám patří přímá fotometrie, založená na tvorbě fosfomolybdenanu nebo fosfomolybdenanové modři a nepřímá fotometrie. Přímá fotometrie zahrnuje nejběžnější stanovení fosforečnanů založené na tvorbě heteropolykyselin, kyseliny 12-molybdofosforečné (12-MPA) v kyselých podmínkách.

V prostředí kyseliny dusičné vzniká 12-MPA podle rovnice 2 (Nollet a Gelder, 2000):



V prostředí kyseliny sírové vzniká 12-MPA podle rovnice 3 (Nollet a Gelder, 2000):



Absorbance dimeru 12-MPA se může změřit, nebo se dále redukovat za použití různých redukčních činidel do velmi zabarvené formy fosfomolybdenové modře. Optimální vlnová délka a citlivost jsou funkcí obou koncentrací, tedy koncentrace kyseliny i molybdenanu. Detekce se provádí jako neredukovaná kyseliny vanado molybdofosforečná nebo jako redukováná 12-MPA, což je fosfomolybdenová modř. Vyšší citlivosti může být dosaženo redukcí 12-MPA do formy fosfomolybdenové modře. Pro tyto účely byly použity následující redukční činidla: cín spolu se sulfidem měďnatým a kyselinou chlorovodíkovou, chlorid cínatý, chlorid cínatý spolu s hydrazín síranem, kyselina 1-amino-2-naftol-4-sírová, kyselina askorbová a vinan antimonylo-draselný. Metoda redukce SnCl_2 poskytuje dobré výsledky, ale produkt je nestálý. Z tohoto důvodu se preferuje metoda využívající kyselinou askorbovou (Nollet a Gelder, 2000). Murphy a Riley (1962)

předložili metodu využívající vinan antimonylo-draselný, který katalyzuje redukční krok, potlačuje interference křemičitanů a zabraňuje interferencím chloridů. Tato metoda je dnes nejvyužívanější.

Jako rušivé vlivy při tvorbě molybdenové modře působí křemičitany, arseničnany, soli germania, tvořící heteropolykyseliny, které ovlivňují množství molybdenové modře a mají podobné absorpční maxima. Zřetelné pozitivní interference při stanovení fosforečnanů mají křemičitany, jejichž koncentrace je v mnoha vodách vysoká. Tvorba sloučeniny křemičitanu s molybdenanem může být potlačena přidavkem vinanu nebo kyseliny šťavelové. Koncentrace fluoridů větší než 100 mg/l také inhibují tvorbu fosfomolybdenanu, ale tento efekt je nízký při vyšších koncentracích křemičitanů. Další negativní interference můžou nastat v přítomnosti železitých iontů, hliníku, vápníku a chloridů. Interference Fe, Al, Ca jsou pravděpodobně důsledkem konkurenční komplexace fosforečnanů, zatímco chloridy inhibují redukci fosfomolybdenanu (Nollet a Gelder, 2000). Interference chloridů jsou problematické zejména při stanovení fosforečnanů v mořských vodách a v ústí řek, z tohoto důvodu se preferuje metoda s kyselinou askorbovou dle Murphy a Riley (1962).

Stanovení reaktivních fosforečnanů je jednoduché, nejčastěji se využívá metoda dle Murphy a Riley (1962) se spektrofotometrickou koncovkou. Jsou však další techniky detekce fosfomolybdenové modře. Plamenová atomová absorpční spektrometrie, fluorescenční stanovení, atomová emisní spektroskopie s buzením v indukčně vázané plazmě, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, voltametrie, potenciometrie, vysokoúčinná kapalinová chromatografie, iontová chromatografie, kapilární elektroforéza aj. (Kovar a Pierzynski, 2009; Nollet a Gelder, 2000).

Ke stanovení celkového fosforu je nutná mineralizace, při níž se přítomné formy fosforu převádějí na orthofosforečnany, které se následně stanoví např. kolorimetricky, jak je popsáno výše. Kolorimetrická metoda je součástí stanovení celkového fosforu dle ČSN EN ISO 6878 Jakost vod – Stanovení fosforu – Spektrofotometrická metoda s molybdenanem amonným. (ČSN EN ISO 6878). Pro stanovení celkového fosforu jsou v (ČSN EN ISO 6878) popsány dva postupy: jednak po oxidaci peroxodisíranem a jednak po rozkladu kyselinou dusičnou a sírovou. Metody se používají k rozboru všech druhů vod. Bez ředění lze stanovit koncentrace fosforu v rozsahu 0,005 mg/l až 0,8 mg/l. Extrakční postup umožňuje stanovovat nižší koncentrace fosforu s mezí detekce asi 0,00005 mg/l. Organicky vázaný fosfor se převádí na orthofosforečnany mineralizací peroxodisíranem nebo mineralizací kyselinou dusičnou a sírovou. Výsledky se vyjadřují v mg/l jako P. (Hydroprojekt, 2007).

Další metody instrumentálního stanovení fosforečnanů a celkového fosforu, předepsané v ČR legislativně, jsou popsány v ČSN EN ISO 15681-1 Jakost vod – Stanovení orthofosforečnanů a celkového fosforu průtokovou analýzou (FIA a CFA) – Část 1: Metoda průtokové injekční analýzy (FIA) a v Části 2: Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA) (ČSN EN ISO 15681-1, ČSN EN ISO 15681-2). První část normy určuje metody průtokové injekční analýzy (FIA) ke stanovení orthofosforečnanů v rozsahu hmotnostních koncentrací fosforu (P) od 0,01 mg/l do 1,0 mg/l a celkového fosforu po manuálním rozkladu peroxodisíranem draselným v rozsahu hmotnostních koncentrací fosforu (P) od 0,1 mg/l do 10 mg/l. Metoda je použitelná pro všechny druhy vod. Druhá část normy určuje metodu kontinuální průtokové analýzy (CFA) ke stanovení

orthofosforečnanů v rozsahu hmotnostních koncentrací fosforu (P) od 0,01 mg/l do 1,0 mg/l, a celkového fosforu v rozsahu hmotnostních koncentrací od 0,1 mg/l do 10 mg/l. Metoda zahrnuje rozklad sloučenin organicky vázaného fosforu a hydrolýzu sloučenin anorganických polyfosforečnanů. V této normě je uvedena také metoda mineralizace ultrafialovým zářením. Vzniklé orthofosforečnany se stanoví molybdenanovou metodou. Rozklad se provádí buď manuálně tak, nebo integrovaným působením UV záření a hydrolytické jednotky. Použití je možné pro všechny druhy vod. Fosforečnany se stanoví molybdenanovou metodou. Rušivě působí především křemičitany a arseničnany. Arseničnany působí velmi rušivě: 100 µg/l As(V) má za následek odezvu srovnatelnou asi se 0,030 mg/l P. K rušivým vlivům křemičitanů, dusitanů, fluoridů a železa zpravidla nedochází v důsledku předběžného rozkladu. Účinnost rozkladu vzorků vody může ovlivnit hodnota ChSK (Hydroprojekt, 2007).

Na Ústavu chemie Fakulty stavební Vysokého učení technického v Brně jsou vzorky vody mineralizovány za účelem stanovení celkového fosforu za použití činidla Oxisol, což je oxidační činidlo obsahující $K_2S_2O_8$ a K_2CO_3 , používané na rozklad sloučenin obsahujících dusík nebo fosfor.

Podobnou metodu stanovení celkového fosforu ve vodách navrhli i Kopáček a Hejzlar (1991), kteří uvádí, že stanovení veškerého i rozpuštěného reaktivního fosforu podle původních ČSN neposkytovalo výsledky s dostatečnou citlivostí a spolehlivostí, proto hledali metodu stanovení SRP a TP, která by byla použitelná pro velké série vzorků, měla detekční limit v jednotkách µg/l a specifikovala reakční podmínky s cílem zlepšit výpovědní hodnotu a vzájemnou porovnatelnost naměřených dat. Navrhli proto zkumavkové metody stanovení TP, kde do vzorku přidali zředěnou kyselinu chloristou, směs promíchali a otevřené zkumavky umístili do mineralizačního bloku vyhřátého na 115 °C. Po odpaření vzorku v době, kdy na dně zbývá kapka kyseliny chloristé (cca 10 hodin) regulátor teploty upravili na 170 °C a po dosažení teploty mineralizovali 10 minut. V případě setrvání hnědého či nažloutlého zabarvení kyseliny na dně zkumavky v zahřívání pokračovali do odbarvení, max. však 3 hodiny, déle nedoporučují odbarvovat a stanovení se má zopakovat po naředění vzorku. Zmineralizované a vychladlé vzorky zředili a hydrolyzovali v mineralizačním bloku při 100 °C 60 minut (Kopáček a Hejzlar, 1991). Následně se stanovují fosforečnany standartní spektrofotometrickou metodou dle (Murphy a Riley, 1962).

2.4 Formy fosforu a metody jejich hodnocení v sedimentech

Fosfor obohacující vodní toky a jezera lze rozdělit na rozpuštěný a nerozpuštěný, které se dále dělí na anorganicky a organicky vázaný. Rozpuštěný anorganicky vázaný se dělí na orthofosforečnanový a polyfosforečnanový. Analyticky se běžně stanovuje fosfor celkový (TP), orthofosforečnanový (také $P-PO_4$, rozpuštěný reaktivní fosfor RRP, v zahraničí dissolved nebo soluble reactive phosphorus DRP, SRP) a fosfor vázaný v hydrolyzovatelných fosforečnanech, což jsou polyfosforečnany a některé organofosforové sloučeniny.

Další část rozpuštěného fosforu je tvořena rozpuštěným nereaktivním fosforem (také RNP), který tvoří rozpuštěný organicky vázaný fosfor a polyfosforečnany, což jsou sloučeniny fosforu, které je nutno převést na orthofosforečnany buď kyselou hydrolyzou za varu (hydrolyzovatelné fosforečnany, především polyfosforečnany), nebo oxidačním rozkladem (organicky vázaný fosfor) (Pitter, 1999; Reynolds a Davies, 2001).

Je známo, že různé formy fosforu obohacují vody, ale méně shodných názorů je v otázce, která z těchto forem je ve smyslu využitelnosti řasami a rostlinami biologicky dostupná. Celkový fosfor obsahuje velké množství fosforu, který nemusí být biodostupný. Intrabiotické složky (živiny, které jsou vázány v organismech) jsou snadno dostupné. Extrabiotické složky nerozpuštěného fosforu se však také mohou stát za určitých environmentálních podmínek i formou dostupnou (Reynolds a Davies, 2001). Pitter (1999) uvádí, že fytoplankton je schopen využívat nejen rozpuštěný orthofosforečnanový fosfor, ale rovněž orthofosforečnany adsorbované na povrchu nerozpuštěných látek, pro tyto formy byl zaveden termín biologicky dostupný fosfor.

Fosforečnany vstupující do sedimentů se nacházejí převážně v anorganické formě, ale ve formě organické pronikají také. Velká část fosforečnanů se ve vegetačním období nachází právě ve formě organické. Anorganické fosforečnany jsou pro řasy snadno dostupné a jsou spotřebovávány téměř okamžitě. Po odumření řas se velká část fosforu obsaženého v řasách stává opět orthofosforečnanovým, ale část organického fosforu ulpí adsorpcí na částicích sedimentu. Anorganické fosforečnany, které mohou být obsaženy také v suspendovaném materiálu z erozí, jsou transportovány vodními toky do nádrží, kde buď sedimentují, nebo se adsorbují na materiál v nádrži obsažený. Suspendované sloučeniny a sediment mají velkou adsorpční kapacitu vzhledem k vysoké koncentraci jílu, písku a/nebo FeOOH. Fosforečnany se adsorbují zejména na FeOOH nebo jsou vázány k vápníku. Tyto anorganické sloučeniny se tvoří také uvnitř sedimentů, kde následné mineralizační procesy rozkládají organický fosfor a tvoří fosfor orthofosforečnanový (Golterman, 2004).

Je patrné, že v životním prostředí se však nachází mnoho forem fosforu, mnoho z nich však má u odborníků odlišnou terminologii, i když se v příspěvcích jedná o shodnou formu. Jeden z mnoha přehledů terminologií je zobrazen v tabulce 1. Pro sedimenty a půdy jsou využívány následující pojmy, v tabulce jsou vybrány formy týkající se zároveň sedimentů:

Tabulka 1 Terminologie běžných forem fosforu v sedimentech (Kovar a Pierzynski, 2009)

Název (Zkratka)	Popis	Příklady metody stanovení
1. Celkový fosfor (TP)	Celkový fosfor ve vzorku obsahující anorganické i organické formy	Rozklad (různé metody) nebo syntéza uhličitanu sodného, následuje kolorimetrická, či analýza ICP (indukčně vázaná plazma)
2. Celkový organický fosfor (TP org.) (P org.)	Celková koncentrace organického fosforu stanovená nepřímo ($P_{org} = TP - P_i$), pouze obecná aproximace	Žihání, či extrakční procedury, následuje kolorimetrická analýza
3. Specifické formy fosforu	Specifické formy fosforu (nazývány také druhy fosforu), zahrnující organické a anorganické formy fosforu	Pomocí NMR (nukleární magnetická rezonance), specifické extrakční techniky pro stanovení individuálních forem
4. Frakce fosforu	Extrakce zahrnující série extrakcí, u nichž se postupně zvyšuje síla extraktantů. Metody se liší pro jednotlivé formy sedimentů (sedimenty povrchových vod, mořské, půdy). Frakce mohou být identifikovány extraktantem (např. HCl-P). Je složité přiřadit specifickou chemickou formu. Pro frakce obvykle dělené na organický fosfor a anorganický fosfor, kde je anorganický fosfor stanovený kolorimetricky a celkový fosfor metodou ICP nebo rozkladem a kolorimetrickou koncovkou, není důkaz, že jsou opravdu organickým nebo anorganickým fosforem. Mohou být nazývány jako MRP a MUP.	Psenner (sladkovodní sedimenty, podobně jako Chang a Jackson), Chang a Jackson (půdy; chemické kroky jako např. dithioničtan pro analýzu fosforu vázaného na železo). Ruttenberg (mořské sedimenty, Hedley (půdy)

První frakcionační analýzy fosforu byly prováděny v půdách v 60. letech minulého století, ale později byly rozvíjeny i pro jezera, nebo mořskou vodu. Snadno biodostupné frakce fosforu ve vodě jsou měřitelné přímo ve vodě, filtrované přes filtry s velikostí ok 0,5 μm . Obsahují plně disociované ortofosforečnanové ionty H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} (Reynolds a Davies, 2001).

Frakcionační metody pro fosfor byly vyvíjeny za účelem identifikace a kvantifikace jeho různých forem. Jeden z prvních postupů frakcionačních analýz uvedl Chang a Jackson (1957) používající k extrakcím kyselinu chlorovodíkovou a hydroxid sodný. Úpravy tohoto frakcionačního schématu představili Hieltjes a Lijklema (1980), kteří použili jako extraktant labilního fosforu chlorid amonný, (Golterman, 2004). Další známé frakcionační schéma uvedl Williams et al. (1976) používající k extrakcím citrát, dithioničtan a hydrogenuhličitan sodný. I toto schéma později upravil Golterman (2004). Ke známým frakcionačním schématům patří i metoda dle Psenner a Pucsko (1988), kteří však také využívají směs dithioničtanu a hydrogenuhličitanu sodného.

Formy fosforu jako rozpuštěný nereaktivní a reaktivní fosfor, biodostupný fosfor, neapatitový a apatitový fosfor, anorganický a organický, labilní fosfor (nebo celkový fosfor) jsou určeny z jediné navážky vzorku sekvenčními stanoveními (frakcionace). V následných krocích jsou pro získání dané formy použita různá extrakční činidla od nejslabšího po nejsilnější. Postupem se však nezíská jediná forma, většinou je zahrnuta i jiná z forem uvolňující se částečně působením daného extrakčního činidla. Dle různých frakcionačních schémat se stanovují různé formy fosforu. Je důležité, aby byly definovány, vzhledem k předchozím extrakčním krokům mohou být i při použití stejného extraktantu odlišné od jiných extrakčních schémat. Extrakce probíhají na homogenizátoru. Některé ze jmenovaných forem fosforu mohou být určeny i nesequenční formou. Přehled vybraných forem fosforu běžného environmentálního zájmu zobrazuje tabulka 2.

Tabulka 2 Přehled některých forem fosforu v sedimentech běžného environmentálního zájmu a jejich význam (Spivakov et al., 2009)

Forma fosforu	Význam
1. Celkový fosfor	Indikuje zátěž celkovým fosforem
2. Adsorbovaný fosfor	Jednoduše přístupná frakce
3. Neapatitový fosfor	Dostupná forma fosforu za přítomnosti kyslíku
4. Apatitový fosfor	Relativně stabilní a inertní forma fosforu
5. Organický fosfor	Pomalu, ale kontinuálně dostupná frakce fosforu
6. Reziduální fosfor	Za běžných environmentálních podmínek nedostupná frakce

2.4.1 Anorganický fosfor

Nejběžnější anorganickou formou fosforu v půdě jsou apatity (fosforečnan vápenatý) a fosforečnany železa (strengit) a hliníku (variscit). Přímo biodostupné nejsou, ale zvětráváním a rozpuštěním se dostávají formou rozpuštěného reaktivního fosforu SRP do půdní vody, odkud jej dokáží využít rostliny, nebo obohacují řečiště prostřednictvím povrchového odtoku, tzn. dešťovou vodou, či vodou z tání sněhu, která byla ve styku s povrchem půdy (Reynolds a Davies, 2001).

Již dlouho je známo, že FeOOH je jednou z nejdůležitějších sloučenin adsorbujících orthofosforečnany na sedimenty. Dokonce hraje roli v tvrdých vodách, kde se nachází apatity nebo $\text{CaCO}_3\text{-P}$. Chemické složení $\text{Fe}(\text{OOH})\text{-P}$ není zcela objasněno, ale vazba orthofosforečnanů na FeOOH je popisována zjednodušeně dle rovnice 4 (Golterman, 2004).



Frakcionační metody stanovení anorganického fosforu jsou založeny na různých rozpustnostech různých anorganických forem v různých extraktantech. Nejprve bývá využit chlorid amonný, za účelem vyloučení rozpustného a volně vázaného fosforu. Fosfor

vázaný k hliníku (Al-P) je od fosforu vázaného k železu (Fe-P) oddělován fluoridem amonným, následně je Fe-P odstraňován hydroxidem sodným. Fosfor ze zbývajících minerálů v rámci matrice, rozpustný v redukčních činidlech, bývá extrahován pomocí směsi citronanu sodného a dithioničitanu sodného. Fosfor vázaný k vápníku (Ca-P) je extrahován kyselinou sírovou nebo chlorovodíkovou, protože Ca-P je nerozpustný ve směsi citronanu a dithioničitanu. Ve vápenatých půdách reaguje fluorid amonný s uhlíčitanem vápenatým za tvorby fluoridu vápenatého, který sráží rozpustný fosfor a snižuje efektivitu fluoridu amonného extrahovat fosfor, proto je extrakce fluoridem amonným ve vápenatých vzorcích omezována. Volně vázaný fosfor se v těchto vzorcích extrahuje pomocí NaOH/NaCl podobně jako frakce Al-P a Fe-P (Kovar a Pierzynski, 2009).

První frakcionační schéma sloučenin fosforu v půdě představil Chang a Jackson (1957). Použili NaOH a HCl, později byl extrakční krok obohacen o fluorid amonný a opět vynecháván, protože může způsobovat tvorbu fluoapatitů (Golterman, 2004). Olsen (1954) představil extrakci fosforu ze sedimentů 0,5 M NaHCO₃, který je doposud využíván ve vědách o půdě a v limnologii zřídka. Extrahuje se část Fe(OOH)~P a možná i část organického fosforu (Golterman, 2004). Metoda vědců Chang a Jackson (1957) byla lehce modifikována autory Hieltjes a Lijklema (1980), kteří představili první extrakční krok pomocí chloridu amonného, který předpokládá extrakci volně vázaného fosforu. Chemická identita této frakce není zcela objasněna, ale pravděpodobně se jedná o orthofosforečnany pocházející z intersticiální vody, která tvoří malé procento obsahu celkového fosforu. Také obsahuje určitý podíl apatitů. Golterman (2004) zmiňuje, že je možné, že se Fe(OOH)~P komplex rozpouští v mnohem kratším čase, než 17 hodin, jak uvádí Olsen (1954), delší trvání extrakce sedimentu nese rizika hydrolyzy organického fosforu.

Williams et al. (1980) používá k extrakci citrát sodný s dithioničitanem a hydrogenuhlíčitanem, následně hydroxid sodný. Směs dithioničitanu a hydrogenuhlíčitanu extrahuje Fe(OOH)~P, hydroxid sodný organický fosfor a kyselina chlorovodíková CaCO₃~P.

Pardo et al. (1999) obohatila metodu o stanovení organického fosforu (Williams et al., 1980). Provedla to výpočtem rozdílu mezi celkovým fosforem a anorganickým fosforem, později však i experimentálně. Podle schématu Pardo se anorganický fosfor stanoví extrakcí vzorku 1 M HCl a po 16-ti hodinovém míchání je analyzován supernatant (Pardo et al., 2004; 2003a). Stejně stanovuje i Ruban et al. (2001b), z něhož pravděpodobně díky spolupráci Pardo vycházela. Ve vzorcích z eutrofních vod je však v této metodě část Fe(OOH)~P, extrahovaná hydroxidem sodným, znovu vysrážena jako CaCO₃~P (Golterman, 2004).

Problematika frakcionací je velmi složitá, protože se zdá, že různá činidla neposkytují vždy jednu specifickou formu fosforu. Dlouhou dobu nebylo známo, že NaOH má podobné účinky jako NH₄F, který namísto tvorby fluorapatitů vyvolává tvorbu hydroxylapatitů, tvorba apatitů vede ke špatným výsledkům. Také bylo zjištěno, že NaOH hydrolyzuje určité množství organického fosforu, množství závisí na délce extrakce. Fe(OOH)~P a CaCO₃~P bývají extrahovány NTA (tzv. chelaton I, nitrilotriacetic acid-kyselina nitrilotrioctová) a Na₂-EDTA. K extrakci 80% Fe(OOH)~P jsou pravděpodobně zapotřebí dvě extrakce NaOH. Hydroxid sodný extrahuje nejen Fe(OOH)~P, dochází také k tvorbě CaCO₃~P. Délka extrakce, koncentrace hydroxidu sodného vždy ovlivňuje množství

extrahovaného fosforu, proto NaOH neextrahuje jen jednu specifickou frakci. Koncentrace extrahovaného fosforu v některých případech s rostoucím časem vzrůstá, někdy však klesá. Pokles je způsoben re-adsorpcí na CaCO_3 , zatímco nárůst je způsoben hydrolyzou organického fosforu. Pokles, či nárůst proto závisí na relativní koncentraci sloučeniny a tvorbě komplexů fosforu s vápníkem a hořčíkem (Golterman, 2004).

Psenner a Pucsko (1988) představili jako první extrakční krok ve vzorku sedimentu redukční činidlo dithioničitan v roztoku hydrogenuhlčitanu sodného bez použití kyseliny citrónové, následuje hydroxid sodný. Směs dithioničitanu a hydrogenuhlčitanu extrahuje $\text{Fe}(\text{OOH})\sim\text{P}$, ale ne veškerý FeOOH vzhledem k možné re-adsorpci, což není v příspěvku zmíněno. Krok využívající NaOH předpokládá extrakci organického fosforu nebo nereaktivního fosforu. V dalším kroku se k extrakci používá kyselina chlorovodíková a následně hydroxid sodný (Golterman, 2004).

Jensen a Thamdrup (1993) dithioničitan v roztoku hydrogenuhlčitanu testovali i ve vzorcích mořských sedimentů a našli signifikantní korelaci mezi fosforem a železem.

Ruttenberg (1992) použil ve vzorku sedimentu pro první dva extrakční kroky MgCl_2 , v dalších citrát/dithioničitan/hydrogenuhlčitan, pufr octanu sodného/kyseliny octové a nakonec kyselinu sírovou. Mezi různými kroky promývání byl přidáván MgCl_2 . Předpokládá se, že octan sodný extrahoval jen biogenní fosfor, kyselina sírová apatity detritu (Golterman, 2004).

2.4.2 Organický fosfor

V sedimentech většiny jezer je původcem organických forem fosforu mrtvý sedimentující fytoplankton a jeho vstup reprezentuje majoritní část sedimentárního fosforu i přesto, že se velká část fosforu pocházejícího z fytoplanktonu cestou k sedimentu ztratí a malá část fosforu se stává součástí sedimentů. V organické frakci sedimentů byla zaznamenána přítomnost huminově vázaného fosforu a fytátů ve vazbě se železem, uvádí se, že však také, že v mořských sedimentech nejsou fytáty signifikantní částí organického fosforu. Organický fosfor se v sedimentech nachází ve velkých množstvích i přesto, že se většina sloučenin obsahujících organický uhlík stává biodegradabilními. Vysvětlením je přítomnost huminové vazby a inositol fosfatázy, obě jsou velmi rezistentní vůči bakteriím a navíc jsou silně adsorbovány na FeOOH , díky němuž se stávají téměř nerozpustnými (Golterman, 2004).

Frakcionace organicky vázaného fosforu byla vyvíjena v podstatně menší míře než frakcionace anorganického fosforu. Pokud nejsou FeOOH a/nebo CaCO_3 odstraněny ze sedimentu předchozími extrakčními kroky, budou tyto dvě sloučeniny adsorbovat volně vázaný orthofosforečnanový fosfor a koncentrace cílové sloučeniny nebude vykazovat korektní hodnoty (Golterman, 2004). Ashraf a Pillai (2003) sledovali organický fosfor v sedimentech jezer a potvrzují, že je tato forma součástí zásob obsahujících anorganicky vázaný fosfor, navíc se mineralizuje pomaleji. Golterman (2004) také uvádí, že NTA a EDTA extrahuje malá množství organického fosforu, jen v sedimentech bohatých na organické látky byla v extraktech detekována vyšší množství organického fosforu. Je nepravděpodobné, že po extrakci fosforu vázaného na železo a vápník zůstává ve vzorku anorganický fosfor, a proto se také předpokládá, že zbývající fosfor po extrakci NTA a EDTA tvoří organický fosfor.

Williams et al. (1976) stanovoval organický fosfor po předchozích krocích extrakce neapatitového a apatitového fosforu 0,5 M kyselinou chlorovodíkovou, později pro stanovení této formy využil 1 M kyselinu chlorovodíkovou a zároveň prováděl kalcinaci. Stanovení organického fosforu kompletním odstraněním anorganických složek poprvé zdokonalil Groot (1990) a uvádí, že organicky vázaný fosfor může být ze sedimentu extrahován silnými kyselinami (např. 0,5 M H_2SO_4), extrakce by však měla probíhat krátce, např. 30 minut. Pro stanovení organického fosforu použil jako třetí extraktant kyselinu chlorovodíkovou (po extrakci vzorku v NTA/EDTA, následované horkým hydroxidem sodným).

Frakce organického fosforu byla shledána i v dalších extrakčních schématech, jedno z nich uvádí např. Golterman (1996), který využívá nejprve EDTA pro organický fosfor rozpustný v kyselinách a hydroxid sodný pro další organický fosfor. Ruttenberg (1992) stanovuje organicky vázaný fosfor jako poslední extrakční krok kalcinací a 1 M HCl, stejné činidlo i kalcinaci volí pro získání organického fosforu v předposledním extrakčním kroku (Ruban et al., 2001b). Jensen et al. (1998) využívá postupně pro různé formy fosforu také několik činidel (chlorid hořečnatý, dithioničitan, hydroxid sodný, octanový pufr, kyseliny i žihání) a detekuje nejen vyluhovatelný organický fosfor a těžko dostupný organický fosfor, tento postup je však dlouhý, nepraktický a dochází v něm ve vápenatých sedimentech k resorpci uhličitanů. Organický fosfor určuje i Oluyedun, k extrakci organického fosforu z reziduí předchozího sekvenčního kroku používá NaOH (Oluyedun et al., 1993).

Golterman (2004) uvádí, že organický fosfor není zcela prozkoumán, může zahrnovat stopová množství z extrakcí vzorku sedimentu EDTA a může také zahrnovat malá množství fulvinového fosforu. Po extrakci fosforu horkým NaOH může být identifikován huminový fosfor, který může tvořit 20–50 % organického fosforu. Qiu a McComb (2000) extrahovali huminový materiál 0,1 M NaOH, huminové kyseliny sráželi kyselinou chlorovodíkovou, opakovaně rozpouštěli v NaOH a sráželi znovu pomocí HCl. Křemičitany byly odstraněny 0,3 M kyselinou chlorovodíkovou a po rozkladu kyselinou chloristou byl stanoven organický fosfor. Autoři zhodnotili, že huminový fosfor je víceméně identický s organickým fosforem a dokázali, že značná část fosforu extrahovaného hydroxidem sodným je tvořena huminovým fosforem.

Pardo postupuje ve stanovení organického fosforu nejprve podobně jako u anorganické formy (Pardo et al., 2004; 2003a). Tento krok potvrzuje nutnost odstranění anorganických složek. Vzorek nejprve reaguje s kyselinou chlorovodíkovou, avšak po extrakci a centrifugaci se reziduum žihá a následně se 16 hodin extrahuje, opět v přítomnosti HCl. V extraktu je obsažena frakce organického fosforu. V příspěvku Pardo et al. (2003a), který se odkazuje i na práce Goltermana se k určení frakce obsahující organický fosfor používá rychlá extrakce kyselinou sírovou. Takto upravený vzorek reaguje s hydroxidem sodným za přítomnosti roztoku peroxodisíranu draselného $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ s kyselinou sírovou.

Kovar a Pierzynski (2009) uvádí pro stanovení celkového fosforu postup, kdy se rezidua sedimentu z reakce sedimentu s chloridem vápenatým (labilní fosfor) také extrahují pomocí hydroxidu sodného. Vzorek (rezidua) lze rozdělit a polovinu vzorku vyluhovat v NaOH. K reziduíům se přidává 0,1 M NaOH a vzorek se s činidlem míchá se 17 hodin. Následně se odstřeďuje při 7500 ot. a filtruje přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45 μm .

Rozdíl mezi vzorkem nevystaveným působení NaOH a vzorkem vyluhovaným v NaOH je organicky vázaný fosfor. Analýza fosforečnanů se provádí metodou dle Murphy a Riley (1962).

2.4.3 Biodostupný, labilní fosfor

Frakce označovaná jako labilní, či biodostupný fosfor (také se uvádí volně sorbovaný fosfor) jsou orthofosforečnany, vázané na částicích sedimentu labilními vazbami. Jedná se o formu, která se desorpčními procesy snadno uvolňuje ze sedimentu do vodního sloupce, a proto má vysokou biodostupnost (Pitter, 1999). Biologicky dostupný (využitelný) fosfor zahrnuje jak rozpuštěné orthofosforečnany, tak i orthofosforečnany volně vázané na povrchu nerozpuštěných látek, které je schopen využívat fytoplankton (Pitter, 1999). Biodostupný fosfor je frakcí celkového fosforu, ale hodnota koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu stanovitelného metodou fosfomolybdenové modře může být vyšší, i nižší než hodnota biodostupného fosforu. Obvykle však právě orthofosforečnany tvoří velký podíl frakce biodostupného fosforu (Barker et al., 1989).

Není vyjasněno, kdy se stává sediment zdrojem biodostupného fosforu, nebo kdy je spíše pastí fosforu (Reynolds a Davies, 2001). Mnoho prací však potvrzuje, že se biodostupný fosfor uvolňuje z oxických, stejně tak jako z anoxických sedimentů a nevychází jen z hlubokých sedimentů, ani pouze z eutrofních systémů (Ahlgren, 1976; Riley a Prepas, 1984; Twinch a Peters, 1984 in Reynolds a Davies, 2001). Golterman (2004) uvádí, že biodostupnost úzce souvisí s chemickým původem sloučenin fosforu. Biodostupný rozpuštěný fosfor může být převeden na méně dostupné partikulované a organické frakce, které jsou absorbovány do sedimentů nebo spotřebovávány biotou (McDowell a Sharpley, 2001). Sedimenty mohou být potenciálním zdrojem fosforu při zvýšené mikrobiální aktivitě a v redukčních podmínkách, uvolňujících vazbu fosforu v sedimentech a uvolňujících rozpuštěný reaktivní fosfor do vodního sloupce (McDowell a Sharpley, 2001).

Nejvíce biodostupných forem fosforu je ve formě orthofosforečnanových iontů, nebo ve formách snadno rozpustných, či eluovatelných. Biodostupnost se shoduje s měřitelností jako molybdáto-reaktivní (MRP) nebo rozpuštěný reaktivní fosfor (SRP, RRP). Většina ostatních forem, zahrnujících fosforečnany kovů alkalických zemin, hliník a železo jsou dostupné zřídka. Orthofosforečnanové ionty, sorbované na oxidy kovů a hydroxidy nejsou běžně biologicky dostupné s výjimkou slabé disociace (desorpce). Biodostupné fosforečnany jsou uvolněny v případě rozpuštění hydroxidů kovů, citlivých na oxidačně redukční podmínky ale tyto procesy k biologickým odezvám na živinové obohacení přispívají minoritně (Reynolds a Davies, 2001).

Biodostupný fosfor zahrnutý v biogenních metabolitech a reziduích biomasy je obsažen například ve fosfolipidech, nukleových kyselinách, nukleotidech, inositech a cukrech obsahujících fosfátovou skupinu jako dihydroxyaceton fosfát, glukózu-6-fosfát, kyselinu fytovou či teichoovou. Tyto biodostupné formy jsou poměrně labilní a uvolňují se z hydrolyzovatelných frakcí a frakcí schopných výměny funkčních skupin. Formy, které jsou komplexovány s huminovými kyselinami jsou více rezistentní. Humínové kyseliny představují ve vodě největší frakci organických látek. Množství přítomných huminových látek může ovlivňovat vznik vloček železa a biodostupnost fosforu (Reynolds a Davies, 2001).

Biodostupný fosfor v sedimentech je definován jako suma okamžitě přístupného fosforu a fosforu, který může být transformován do dostupných forem přirozeně se vyskytujícími procesy. Za biodostupný fosfor je považována suma frakcí labilního fosforu ($\text{NH}_4\text{Cl-P}$), fosforu vázaného na železo (BD-P) a fosforu vázaného na oxidy kovů (NaOH-P) a je také uváděn jako neapatitový anorganický fosfor. Frakce fosforu vázaného na oxidy kovů (NaOH-P) je navíc považována za nejvíce dostupnou řasám. Biodostupná frakce fosforu se obvykle skládá z frakce adsorbovaného fosforu a fosforu spojeného s kovy, ale část organického fosforu nebo fosforu spojeného s vápníkem může být také dostupná mikroorganismům (Wang, 2012).

Partikulovaná frakce, která pochází z organismů, a forma dostupná v roztoku, můžou tvořit biologicky dostupnou formu (Reynolds a Davies, 2001). K desorpci volně sorbovaného fosforu bylo v minulosti použito mnoho solí (Kovar a Pierzynski, 2009). Podmíněně dostupný fosfor obsahuje orthofosforečnanové ionty, které jsou zaměnitelné s chloridovými ionty. Nejvíce snadno dostupných forem vázaných k částicím, je citlivých na iontovou sílu vody. Analyticky jsou uvolnitelné například 1 M roztokem chloridu amonného, tato frakce může být nazývána také jako $\text{NH}_4\text{Cl-P}$, tedy fosfor extrahovatelný chloridem amonným (Reynolds a Davies, 2001). Chlorid amonný pro tento účel vychází z metody stanovení labilního fosforu v půdách dle Chang a Jackson (1957) a později jej využili také Eck (1982 in), Kovar a Pierzynski (2009), Hieltjes a Lijklema (1980), Kaiserli et al. (2002), Kerr et al. (2010), Liu et al. (2009), Psenner a Pucsko (1988), SanClements et al. (2009), Søndergaard et al. (1996), Tallberg et al. (2008) ve vzorcích sedimentů jezer a moří. V některých studiích není přítomnost amonných iontů žádoucí a využívají se další extrakční činidla (Kovar a Pierzynski, 2009). Moore a Reddy (1994) využili chlorid draselný. V postupu se k navážce suchého sedimentu přidává 1 M KCl, protřepává se 2 hodiny, odstředí se 20 minut při 7500 otáčkách a ihned se zfiltruje přes filtr 0,45 μm . Filtrát může být okyselen na $\text{pH} = 2$ kyselinou chlorovodíkovou a fosforečnany reprezentující labilní fosfor se stanoví standartním vybarvením na fosfomolybdenovou modř (Kovar a Pierzynski, 2009).

Z dalších solí se ke stanovení volně sorbovaného fosforu využívá např. MgCl_2 (Jensen et al., 1998; Ruttenberg, 1992). Navážka sedimentu interaguje 2 hodiny na třepačce s chloridem hořečnatým, odstředí se a centrifugát se po stejnou dobu 2x promývá destilovanou vodou. Ve směsi získaných centrifugátů se stanoví fosforečnany.

K dalším slabším extraktantům biodostupného fosforu ze sedimentu patří kromě solí samotná destilovaná voda (Psenner a Pucsko, 1988), kterou používají např. Golterman (1996, FU et al. (2000), Selig a Schlunbaum (2003), Barker et al. (1989). Pro potřeby této práce byl ke stanovení labilního fosforu v sedimentech pomocí destilované vody upraven a použit postup uvedený v dokumentu Lai a Lam (2008). K navážce sedimentu se přidává destilovaná voda, směs se extrahuje na třepačce, odstředí se a stanoví se fosforečnany. Experimentálně bylo prokázáno, že množství sorbovaného fosforu, které je uvolněno do destilované vody, je nejmenší u sedimentů, na něž je sorbováno největší relativní množství fosforu (Davies, 1997 in Reynolds a Davies, 2001).

Biodostupný fosfor v sedimentech může být extrahován ze sedimentu také pomocí aneksu nebo na nosiči (papír, tkanina) právě vysráženého $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Sharpley, 1995), (Hejzlar a Borovec, 2004). Frakci získanou hydroxidem sodným nazývá Zhou et al. (2001) jako formu přístupnou řasám, podobně i Baker (2011).

2.4.4 Apatitový fosfor

Apatit je vyvřelá, metamorfovaná a sedimentární hornina (také přítomna v zubech a kostech). Sloučenina apatitu je pravděpodobně směs CaCO_3 s apatitem, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$. Apatit je téměř nerozpustný, rozpustnost ve vodě je cca 1 mg/l. Jeho nízká rozpustnost koriguje rozpustnost orthofosforečnanového fosforu ve vodě. Rozpustnost železitých a hlinitých fosforečnanů se zvyšuje s rostoucí hodnotou pH, rozpustnost vápenatých fosforečnanů se snižuje do hodnoty pH 8. Biogenní $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, se ve vodě tvoří koprecipitací s CaCO_3 . Malé krystaly $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ mohou být adsorbovány na mnohem větší částice CaCO_3 , v zápise vzniklé sloučeniny se pak používá $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$. Koprecipitace $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$ s CaCO_3 se využívá v managementu jezer (Golterman, 2004). Koprecipitaci jako nástroj ke snížení koncentrace orthofosforečnanového fosforu v tvrdých vodách jezer využil např. Dittrich a Koschel (2002). Pro čištění hypolimnia, kde se přirozeně vyskytuje CaCO_3 , použili $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a zjistili pokles koncentrace epilimnického fosforu. Idea použití $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ke srážení Ca^{2+} je často využívána také při úpravách pitných vod, k výhodám patří fakt, že se do hypolimnia nepřidává Ca^{2+} a proces funguje dle rovnice 5 (Golterman, 2004).



Golterman (2004) se také zabýval rovnovážnými stavy a diagramy rozpustnosti orthofosforečnanů, $\text{Fe}(\text{OOH})\sim\text{P}$ a $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$ a uvádí, že NaCl , MgCl_2 , CaCl_2 , tedy sloučeniny běžně se vyskytující v přírodních vodách, velmi zvyšují adsorpci fosforečnanů na FeOOH . Roztoky obsahující přirozeně se vyskytující koncentrace těchto kationtů byly přidány do suspenze $\text{Fe}(\text{OOH})\sim\text{P}$ v rovnovážném stavu s orthofosforečnanem a došlo ke snížení množství fosforu o více než 50 %. Přidavek NaCl a MgCl_2 nebyl problematický na rozdíl od CaCl_2 , kdy bylo těžké určit vliv Ca^{2+} na adsorpční procesy $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$. Ca^{2+} přidány do adsorpční směsi se z roztoku rychle vytratil, bylo proto těžké rozlišit mezi srážením a adsorpcí apatitu na FeOOH . V případě acidifikace sedimentů (např. produkce CO_2 mineralizací) se část $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$ rozpouští, ale v přítomnosti FeOOH se readsorbuje na tuto sloučeninu, která se silněji adsorbuje při nižších hodnotách pH.

Příčinou efektivní imobilizace volných fosforečnanů v jezerech obsahujících vápenaté ionty je stabilita uhličitanu vápenatého a apatitů. (Reynolds a Davies, 2001). V příspěvku se uvádí, že Davies, sledující vazebnou kapacitu sedimentů prokázala, že vazba fosforečnanů a kompletní nasycení nastalo ihned, nebo během 10 hodin. Rozložení fosforu na vazebná místa vápníku a železa závisí nejen na pH, ale i na procentuálním zastoupení $\text{Fe}(\text{OOH})$ v sedimentech (Ashraf a Pillai, 2003).

Apatitový fosfor je dle extrakčních schémat ze sedimentů extrahován buď kyselinou, nebo zásadou, či chelatačními činidly. Chang a Jackson (1957) stanovují apatitový fosfor ve čtvrtém kroku extrakčního schématu po labilním fosforu a fosforu vázaném na hliník, fosforu vázaném na železo. K extrakci je použita 0,5 M kyselina chlorovodíková. Kyselinu chlorovodíkovou k jeho extrakci používají ve stejné koncentraci také Hieltjes a Lijklema (1980), Kerr et al. (2010), Kovar a Pierzynski (2009). Ve schématu dle Burrus založeném na metodě Williams se využívá k extrakci apatitového fosforu 1 a 3,5 M HCl (Wang et al., 2013). Williams et al. (1976) extrahuje sedimentární apatitový fosfor pomocí 1 M NaOH stejně jako Psenner a Pucsko (1988). Golterman (1996) využívá k extrakci apatitového fosforu $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ v koncentraci 0,5 M. Jensen et al. (1998) a Ruttenberg (1992)

používají ke stanovení apatitového fosforu z detritu (biogenní apatit a $\text{CaCO}_3\text{-P}$) 1 M octanový pufr a 1 M HCl. Pardo et al. (2003a, 2003b) v přehledu porovnání metod podle Goltermana uvádí stejně jako Lai a Lam (2008) možnost použít chelát kyseliny ethylendiamintetraoctové $\text{Na}_2\text{-EDTA}$.

Dle dalšího schématu, uvedeného v dokumentu Pardo et al. (2004, 2003a) a vycházejícího z procedury extrakce forem fosforu, doporučeného Evropskou komisí, je pro stanovení použit 1 M hydroxid sodný, z něhož se po dlouhém míchání (16 hodin) v extraktu stanoví neapatitový fosfor a působením HCl v reziduích v koncentraci 1 M se extrahuje fosfor apatitový. V modifikovaném postupu, vycházejícím z procedury od Psenner a Pucsko (1988), je jedním ze sekvenčních kroků stanovení forem fosforu pro extrakci apatitového fosforu použita 0,5 M HCl. Stejný postup pro suché vzorky sedimentů jezer používá i Liu et al. (2009). HCl ke stanovení apatitového fosforu používají také Kaiserli et al. (2002), Katsaounos et al. (2007a), Søndergaard et al. (1996), Tallberg et al. (2008).

2.4.5 Neapatitový fosfor

Psenner a Pucsko (1988) definovali neapatitový anorganický fosfor, extrahovaný pomocí NaOH nebo přidavkem NaOH a dithioničitanu jako fosfor související s oxidy kovů a hydroxidy. Dithioničitan extrahuje fosfor rozpustný v redukčních činidlech, zejména z povrchů hydroxidů. Neapatitový anorganický fosfor bývá spojován s koncentrací železa a s jemnými částicemi sedimentu. Bonin (1990) a Manning et al. (1984) uvádí souvislost s reaktivním železem v sedimentech, souvislost neapatitového fosforu s amorfními hydratovanými oxidy železa je sledována v prokysličených sedimentech. V redukčních podmínkách jsou komplexy obsahující fosfor a železo rozkládány a při tom dochází k uvolňování fosforu do vodního sloupce (Bonin, 1990).

Neapatitový fosfor se zdá být nejdůležitější frakcí v mechanismech uvolňování a zadržování fosforu. Uvolňování neapatitového fosforu se věnovalo mnoho studií, v nichž se tato frakce spojuje s extrakčním činidlem hydroxidem sodným. Drake a Heaney (1987 in Reynolds a Davies (2001) uvádí, že výměnnou rovnováhu ve směru odstranění imobilizovaných fosforečnanů hydroxylovými skupinami z hydroxidů posouvá vzrůstající alkalita. Frakce získaná činidlem dithioničitanem sodným prokazuje silnou korelaci s rychlostí uvolňování fosforu v anoxických podmínkách.

Neapatitový fosfor také souvisí se vstupem reaktivního rozpuštěného fosforu do povrchových vod (Ros a Fornells, 1992). Předpokládalo se, že je tento fosfor zodpovědný za rozvoj řas, jeho biodostupnost potvrdilo několik autorů, např. Williams et al. (1980). Wang (2012) uvádí, že je neapatitový anorganický fosfor v sedimentech součástí biodostupné formy, jenž je sumou okamžitě přístupného fosforu a fosforu, který může být transformován do dostupných forem přirozeně se vyskytujícími procesy. Někteří však korelaci nepotvrdili (Ros a Fornells, 1992). Reynolds a Davies (2001) uvádí, že je neapatitový fosfor biodostupný zřídka.

Davies (1997) in Reynolds a Davies (2001) shledal v sedimentech hlubokých vod obsah fosforu od 1,5 do 5,1 mg P / g suchého sedimentu, zkoumané sedimenty byly schopny absorbovat další fosfor, obsahující vazbu se železem, především do frakce NaOH-rP v rozmezí 0,4 do 3,2 mg fosforu na gram suché hmotnosti.

Zdá se, že sedimenty, které již měly vázaný fosfor, byly schopny vázat další fosfor (Cranwell et al., 1995 in Reynolds a Davies, 2001). Mezi koncentrací fosforu a frakcí NaOH-rP byla nalezena silná korelace.

Pro extrakci neapatitového fosforu ze vzorku sedimentu používá Pardo et al. (2003a, 2003b) roztok NaOH v koncentraci 1 M. Po extrakci (16 hodin) se neapatitový fosfor dále extrahuje (16 hodin) v extraktu pomocí HCl v koncentraci 3,5 M, (Pardo 2003a, 2003b). Hieltjes a Lijklema (1980) extrahují 17 hodin pomocí 0,1 M NaOH. Podobný postup je volen i v příspěvku Pardo et al. (2004). Dalším extrakčním činidlem pro extrakci neapatitového anorganického fosforu může být dle Goltermana chelát kyseliny ethylendiamintetraoctové Ca-EDTA. Extrakce probíhá 3 x 2 hodiny (Pardo et al., 2003b). Cheláty používá i Lai a Lam (2008).

2.4.6 *Formy fosforu vázané na kovy*

Søndergaard et al. (1996) analyzoval sedimenty jezer s velkým rozsahem koncentrace celkového fosforu a shledal silné korelace mezi celkovým fosforem, vnějším zatížením fosforem a obsahem celkového železa v sedimentech (mimo jiné nepotvrdil vztah mezi celkovým fosforem v sedimentu a obsaženém vápníku)(Søndergaard 1996). Golterman (2004) rozdělil sedimenty, v nichž se vyskytuje akumulovaný fosfor, pomyslně na centimetrové vrstvy a zjistil, že většina orthofosforečnanů vstupujících do horní vrstvy sedimentu je adsorbována na Fe(OOH).

Výměna ligandů na povrchu oxidů, hydroxidů kovů a jílových minerálů může způsobit rychlou sorpci uvolněných fosfátových skupin z reaktivního rozpuštěného fosforu na podmíněně dostupnou formu $\text{NH}_4\text{Cl-P}$, NaOH-rP. (Davies, 1997 in Reynolds a Davies, 2001) shledal největší podíl frakce fosforu, přes 50 %, vázaného na železo. Hydroxid železitý má v sedimentech, podobně jako ve vlhkých půdách afinitu k fosforečnanovým iontům.

Reynolds a Davies (2001) uvádí, že největším zdrojem uvolněného fosforu je frakce vázaná se železem (fosfor extrahovatelný citrát-dithioničtanem nebo $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4\text{-P}$) (Reynolds a Davies, 2001). Železo je v oxických sedimentech schopno imobilizovat až jednu desetinu vlastní hmotnosti fosforu. Dynamika sorpcí a desorpcí napovídá, že rovnovážná koncentrace vzrůstá s nasycením fosforu (Reynolds a Davies, 2001). Desorpci fosforečnanů ze sedimentů může způsobovat i přítomnost křemičitanových iontů (Tuominen et al., 1998). Pro stanovení fosforu vázaného na křemičitany a oxidy hliníku používá (Kerr et al., 2010) NaOH.

V mělkých vodách vede rovnovážný stav mezi orthofosforečnany, $\text{CaCO}_3\text{-P}$ a Fe(OOH)~P k rovnováze mezi orthofosforečnany ve vodě a v sedimentech, v nichž se akumuluje velké množství fosforu. Pant a Reddy (2001) došli k závěrům, že sedimenty bohaté na amorfní a slabě krystalické formy železa hrají důležitou roli v ukládání fosforu formou adsorpce přebytků fosforu v zónách aerobních sedimentů a v jejich desorpci v anaerobních podmínkách (např. při překrývání sedimentů). Asociaci fosforu s kalcitem a fosforu se železem, vázaným na jílovitých částicích, potvrdilo i stanovení elektronovou mikroskopií (Evans et al, 2004). Ashraf a Pillai (2003) uvádějí, že rozložení fosforu na vazebná místa vápníku a železa závisí nejen na pH, ale i na procentuálním zastoupení Fe(OOH) v sedimentech.

Nízký redoxní potenciál (< 200 mV) nebo těsný povrch organických sedimentů vede k redukci amorfního hydroxidu železitého na rozpustné železnaté ionty a k uvolnění sorbovaného a okludovaného orthofosforečnanového iontu do vodního sloupce. V případě, že je redoxní potenciál ve vodě nízký (např. v letním hypolimniu produktivních nádrží), jsou orthofosforečnanové ionty uvolněny přímo do vody. Jsou-li fosforečnany ze sedimentů s nízkým redoxním potenciálem uvolněny do vody, hrají v nádržích, v nichž se nachází, významnou roli v hospodaření s uhlíkem. Pokud je redoxní potenciál dostatečně nízký (-100 mV), sírany jsou redukovány na sulfidy, sráží se sulfid železnatý a možnost vazby s fosforečnany je znemožněna (Reynolds a Davies, 2001).

Hupfer a Lewandowski (2008) uvádí, že přítomnost redox-nelabilní vazby fosforu, jako $\text{Al}(\text{OH})_3$ nebo neredukovatelné minerály obsahující $\text{Fe}(\text{III})$, může zvýšit retenci fosforu v sedimentu a zabránit jeho uvolnění ze sedimentu i v případě anaerobních podmínek (Hupfer a Lewandowski 2008). Alternativní mechanismy uvolňování, jako rozpuštění fosforu vázaného k vápníku a rozklad organického fosforu v aerobních i anaerobních podmínkách, jsou často důležitější než fosfor spojený se železem, ovlivňovaný redoxními podmínkami.

Časté změny redoxního potenciálu sedimentu, obsahujícího železo, zřejmě obnovují jeho sorpční vlastnosti vzhledem k fosforečnanům. Dynamika těchto sorpčně-desorpčních pseudo-rovnovážných stavů není zcela charakterizována, je proto těžké specifikovat, kolik fosforečnanů je imobilizováno v pevné formě a kolik je obsaženo v roztoku. Ačkoliv nejsou přesně známy produkty rozpustnosti hydroxidu železitého a železitých fosfátů v oxické, chemicky neutrální vodě, se předpokládá, že produkty směřují k pevné fázi (Cranwell et al., 1995 in Reynolds a Davies, 2001).

Mezi další známé formy fosforu vázané na oxidy kovů patří frakce citlivé na redoxní potenciál, vázané např. nejen na železo, ale i mangan. Redukce hydroxidu železitého v tlumivém roztoku hydrogenuhličitanu je dosaženo roztokem citronanu a dithioničitanu sodného. Fosfor extrahovatelný citronanem-dithioničitanem ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4\text{-P}$) představuje fosfor sorbovaný nebo poutaný na železo, který je za podmínek nižší oxidační kapacity obvykle desorbován. Fosfor vázaný na hliník, který je rovněž závislý na pH, je uvolnitelný v molárním hydroxidu sodném a může být označován jako frakce fosforu reaktivní s hydroxidem sodným (NaOH-rP) (Reynolds a Davies, 2001).

V literatuře je často jako adsorbent orthofosforečnanů uváděn také $\text{Al}(\text{OH})_3$, ale studován je zřídka. Chybí experimentální potvrzení, ale předpokládá se korelace mezi $\text{Al}(\text{OH})_3$ a sedimentárním fosforem (Golterman, 2004). V experimentálních studiích prováděných s mořskými jíly Hieltjes a Lijklema (1980) zaznamenali, že $\text{Al}(\text{OH})_3$ v adsorbci fosforu na sediment hraje svou roli, ale přítomnost komplexu $\text{Al}(\text{OH})_3\text{-P}$ neuvádějí. Předkládaná extrakční metoda (využívající NaOH , HCl , pufr šťavelanu amonného s kyselinou šťavelovou) však nerozlišuje mezi FeOOH vazbou a $\text{Al}(\text{OH})_3$, vázaných s fosforem. Lijklema (1980) experimentálně adsorpci fosforečnanů testovala a zjistila, že po přidání Al -solí k roztoku orthofosforečnanů jsou fosforečnany mnohem silněji vázány k $\text{Al}(\text{OH})_3$, než k $\text{Fe}(\text{OH})_3$, což se dnes využívá i při čištění vod, ale méně silněji jsou vázány při opačném postupu, jsou-li orthofosforečnany přidávány do roztoku $\text{Al}(\text{OH})_3$.

Fosfor vázaný k hliníku, který je citlivý na změny pH, je extrahovatelný hydroxidem sodným a tvoří frakci nazývanou NaOH-rP (Reynolds a Davies, 2001).

Jako indikátor biodostupnosti fosforu může být využit i poměr fosforu vázaného na železo k železo-oxohydroxidům, vzhledem k tomu, že v oxidech kovů zohledňuje počet dostupných sorpčních míst fosforu (Coelho et al., 2004). Wang (2012) uvádí, že fosfor vázaný na oxidy kovů (NaOH-P) a fosfor vázaný na železo (BD-P) jsou součástí biodostupného fosforu, zahrnujícího i další frakce jako je neapatitový anorganický fosfor a labilní fosfor ($\text{NH}_4\text{Cl-P}$). Předpokládá se také, že frakce fosforu vázaného na oxidy kovů (NaOH-P) je nejvíce dostupná řasám (Wang, 2012). Hupfer et al. (1995) zaznamenal, že změny ve frakci BD-P se signifikantní významností korelovaly se změnami koncentrace fosforu vázaného na železo v redukčních podmínkách. Většina organického fosforu a fosforu vázaného na železo a 70 % celkového fosforu se ze sedimentů uvolnilo v průběhu rané diagenese. Za zvýšení koncentrace fosforu se zdají být zodpovědné bakterie, oxidující železo a mangan.

V literatuře je možno se setkat za účelem extrakce forem fosforu vázaných na kovy s několika extrakčními činidly. K nejoblíbenějším extrakčním činidlům patří hydroxid sodný. Rezidua sedimentu z reakce sedimentu s chloridem vápenatým (labilní fosfor) se 17 hodin extrahují pomocí 0,1 M hydroxidu sodného a v extraktu se analýzou fosforečnanů stanoví fosfor vázaný k železu a hliníku (Kovar a Pierzynski, 2009), postup se shoduje s Hieltjes a Lijklema (1980). Stejnou koncentraci hydroxidu sodného používá pro extrakci fosforu vázaného k železu i Chang a Jackson (1957). Golterman (1996) extrahuje biodostupný fosfor vázaný k železu a nebiodostupný fosfor vázaný k vápníku pomocí směsi Ca-EDTA a dithioničitanu. Fosfor vázaný k hliníku stanovují Chang a Jackson (1957) pomocí 0,5 M NH_4F . Kerr et al. (2010) používá k extrakci fosforu vázaného na železo (hliník) 0,11 M směs extrakčních činidel $\text{NaHCO}_3\text{-Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, tzv. „BD“, stejně i např. Jensen et al. (1998); Psenner a Pucsko (1988).

2.5 Spektrofotometrické stanovení fosforečnanů

Ortofosforečnanové ionty (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}), které se stanovují standardní analytickou metodou molybdenové modře, definovali autoři Murphy a Riley (1962). Žlutý komplex orthofosforečnanů (heterokomplex polykyseliny molybdátosfosforečné sumárního vzorce $\text{H}_3\text{P}(\text{Mo}_{12}\text{O}_{40})$ s molybdenanem amonným je redukován kyselinou askorbovou za vzniku modrého roztoku fosfomolybdenové modře, reakce probíhá za katalytického účinku antimonitých iontů (Horáková, 2007; Murphy a Riley, 1962; Pitter, 1999). Tato metoda je citlivá na fosforečnany přítomné v koloidech, v mnoha případech tato molybdato-reaktivní frakce převyšuje množství fosforu v pravém roztoku (Rigler, 1968 in Reynolds a Davies, 2001). Frakci rozpuštěného fosforu je možné odlišit mikrofiltrací. Frakce molybdato-reaktivního fosforu nebo rozpuštěného reaktivního fosforu měřená v surovém vzorku je obvykle zcela biologicky využitelná, alespoň v mezích analytické detekce, molybdato-reaktivní fosfor je považován za snadno biodostupný (Reynolds a Davies, 2001).

Intenzita zabarvení je úměrná množství fosforečnanů, které jsou porovnávány s připravenou kalibrační křivkou. Extrakcí vybarveného vzorku do 1-hexanolu, nebo butanolu je možné snížit minimální stanovitelnou koncentraci orthofosforečnanů na 0,5 $\mu\text{g/l}$. Intenzita zbarvení v rozmezí hmotnostních koncentrací 0,005–1 mg/l

pro měření při $\lambda = 690 \text{ nm}$ a $0,005\text{--}0,75 \text{ mg/l}$ při $\lambda = 880 \text{ nm}$ splňuje podmínky Lambertova-Beerova zákona a je vhodná pro spektrofotometrické vyhodnocení (Horáková, 2007). Lambert-Beerův zákon, podle kterého je hodnota absorbance A při vlnové délce λ přímo úměrná látkové koncentraci c (mol/l), jak vidno v rovnici 6.

$$A = -\log \tau = \log\left(\frac{\Phi_0}{\Phi}\right) \quad (6)$$

A – absorbance, τ – transmittance, Φ_0 – vstupující tok záření, Φ – vystupující zářivý tok, v případě jediné absorbující látky platí rovnice 7.

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda \cdot b \cdot c = k \cdot c \quad (7)$$

Konstantou úměrnosti je součin tloušťky vrstvy b (cm) a molárního absorpčního koeficientu při dané vlnové délce ε_λ , který má rozměr $\text{l mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Z uvedeného vztahu dále vyplývá, že součin $\varepsilon_\lambda \cdot b$ je pro měření stejného analytu při stejné vlnové délce a ve stejné kyvetě konstantní a může být nahrazen konstantou k .

Vlnová délka je volena podle určení absorpčního maxima, nejčastěji $690\text{--}710 \text{ nm}$. K měření absorbance se však doporučují vlnové délky 810 nm , 880 nm , 690 nm , 700 nm (Horáková, 2007).

Výhodou metody stanovení fosforečnanů vycházející z postupu Murphy a Riley (1962) je oproti jiným metodám (např. s chloridem cínatým) delší stabilita modrého zabarvení a tolerance k vysokým koncentracím solí a Fe^{3+} , až do $2,5 \text{ mg/l}$. Je však nutno poznamenat, že polyfosfáty a sloučeniny organického fosforu, které hydrolyzují v kyselém prostředí a přítomnost arseničnanů ve vzorcích ve formě AsO_4^{3-} mohou poskytovat podobně modré zabarvení jako fosforečnany. Tento problém lze eliminovat redukcí arseničnanů AsO_4^{3-} na arsenitany AsO_3^{3-} roztokem hydrogensířičitanu sodného Kovar a Pierzynski (2009), nebo thiosíranem sodným (ČSN EN ISO 6878; Horáková, 2007). Rušivé vlivy mají kromě arseničnanů také křemičitany, které reagují s molybdenanem amonným podobně jako orthofosforečnany. Do koncentrace 5 mg/l však koncentrace křemičitanů (jako Si) neruší. Přítomnost fluoridů do koncentrace 70 mg/l lze tolerovat, v koncentracích vyšších než 200 mg/l zcela znemožňují vybarvení. Vyšší obsah železa ($> 10 \text{ mg/l}$) a vanadičnanů ($> 10 \text{ mg/l}$) zvyšuje intenzitu zabarvení asi o 5% . Zdrojem chyb může být také nádobí umývané detergenty s obsahem fosforu, dále polyfosforečnany s labilní vazbou a některé organické sloučeniny fosforu podléhající za podmínek stanovení hydrolýze, které pak způsobují pozitivní chybu (ČSN EN ISO 6878; Horáková, 2007).

Další rušivé vlivy mohou mít přechodné kovy. Koncentraci sulfidické síry lze tolerovat do 2 mg/l , vyšší koncentraci je možno snížit probubláváním okyseleného vzorku dusíkem. Chrom (III) a chrom (VI) v koncentracích do 10 mg/l neruší, ale koncentrace vyšší než 50 mg/l zvyšují absorbanci o 5% . Měď v koncentracích do 10 mg/l neruší (ČSN EN ISO 6878).

Rušivé vlivy může mít např. mořská voda, změna salinity však působí na intenzitu zabarvení zanedbatelně. Další rušivé vlivy mohou mít dusitany, překročí-li koncentraci 3,29 mg/l, kdy může docházet k odbarvování. Dusitany rozloží malý přebytek kyseliny amidosírové, 100 mg kyseliny amidosírové zruší vliv 32,9 mg/l dusitanů (ČSN EN ISO 6878).

Postup přípravy činidla a vybarvení vzorku je dle Murphy a Riley (1962) in a Kovar a Pierzynski (2009) následující: Je potřeba připravit činidlo molybdenové modře A: Smíchá se 1500 ml vody, 125 ml koncentrované kyseliny sírové a nechá se vychladnout.

Přidá se 10,66 g molybdenanu amonného a 50 ml vinanu antimonylo-draselného. Roztok se doplní po rysku do 2l odměrné baňky. Činidlo se uchovává v lednici. Činidlo B se připraví tak, že se rozpustí 42 g kyseliny askorbové v 1l vody a uchová se v lednici. Činidlo Murphy and Riley umožňující vybarvení vzorku se připraví tak, že se v odměrném válci smíchá 9 dílů činidla A a 1 díl činidla B. Každý vzorek ve 25ml odměrné baňce vyžaduje 5 ml tohoto činidla. Některé součásti činidla jsou velmi nákladné, proto se připravuje jen množství potřebné pro analýzy prováděné v daný den. Po smíchání činidel A a B je nutné vytvořené činidlo použít do jednoho dne. Pro potřebu neutralizace se připravuje neutralizační činidlo. Obsahuje p-nitrofenol, hydroxid sodný a kyselinu sírovou, postup přípravy je uveden v (Kovar a Pierzynski, 2009). Činidlo se přidává ještě před vybarvením vzorku, tedy před přidavkem činidla molybdenové modře (Murphy a Riley, 1962 in Kovar a Pierzynski, 2009).

3 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem této práce je vývoj a hodnocení metod stanovení celkového fosforu modifikací stávajících postupů a hodnocení frakcionačních metod vybraných forem fosforu, používaných pro hodnocení fosforu v sedimentech.

Dále ověření navržených metod na reálné vzorky sedimentů zvolených drobných vodních toků s odlišným charakterem dna a sedimentů toků a to v různých ročních obdobích. K dalším cílům práce patří sledování souvislostí vybraných forem fosforu s obsahem železa a vápníku v sedimentech.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Instrumentace

Analytická prosévačka Fritsch Analysette JPRO
Analytické váhy Sartorius AC120S
Centrifuga Hettich universal 30RF
Fotometr WTW MPM 2010
Hach Lange kyslíková sonda, pH, vodivostní sonda s určením teploty
Jádrový vzorkovač Beekerova typu pro sedimenty Eijkelkamp
Mineralizátory Hach Digesdahl; WTW Thermoreaktor CR3000
Pece laboratorní Classic; Memmert model 100-800
pH metr WTW inolab 720
Předvážky
Rotační homogenizátor Heidolph Reax 20
Spektrofotometr Cecil C2021
Sušárna Stericell 55
Topná deska HT03
Ultrazvuková lázeň powersonic PS10000A

4.2 Používané chemikálie

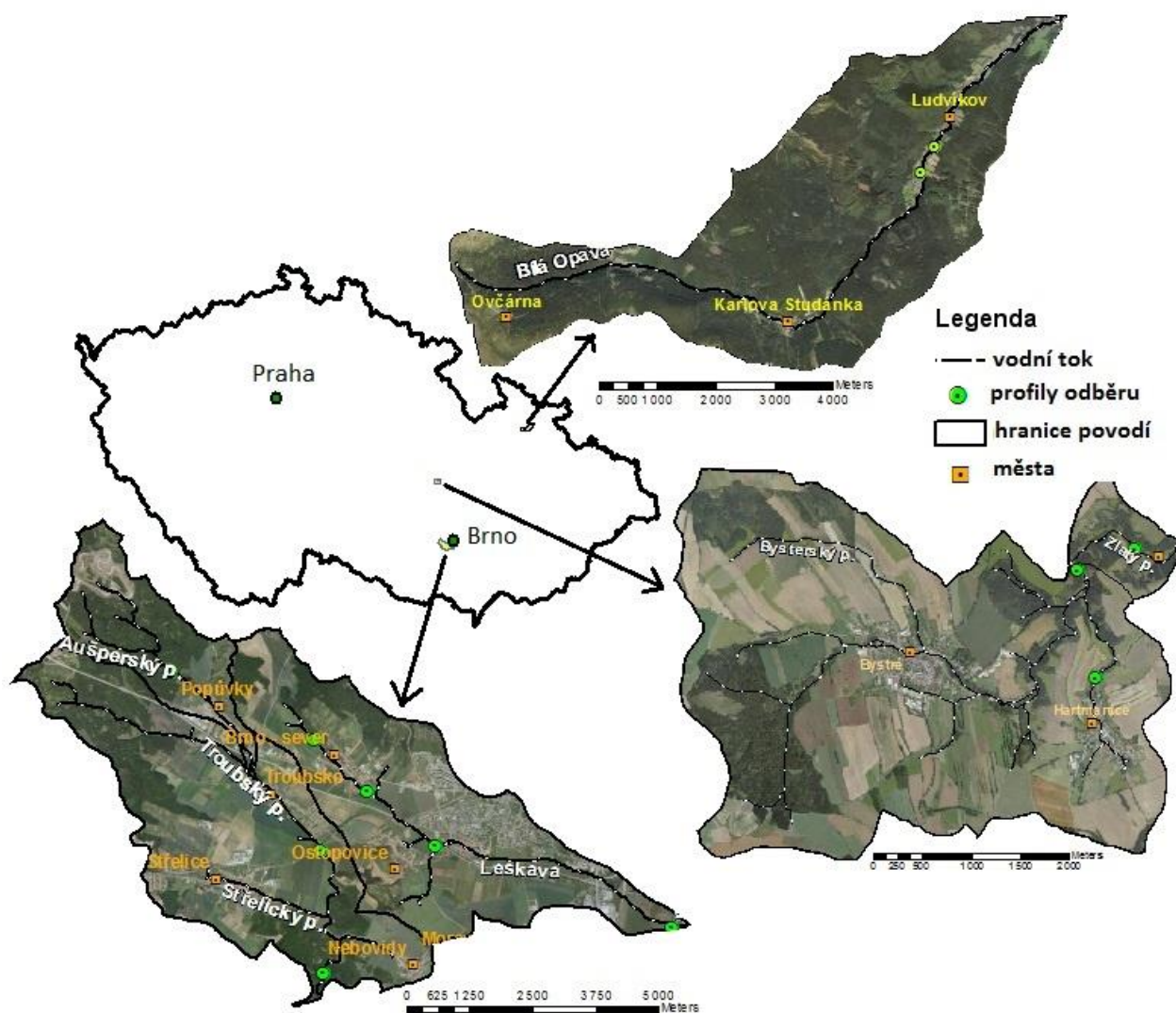
Pro stanovení forem fosforu nebo celkového fosforu ve vzorcích sedimentů se využívají silné kyseliny, zásady, nebo soli. Patří k nim zejména následující chemikálie o čistotě, uvedené v závorce:

$(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (p.a.)
2,4-dinitrofenol (97 % hm.)
 $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (p.a.)
 $\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (p.a.)
Ca-EDTA, tedy $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{CaNa}_2$ (p.a.)
Destilovaná voda
 H_2O_2 (p.a.)
 H_2SO_4 (p.a.)
HCl (p.a.)
 HNO_3 (p.a.)
 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ (p.a.)
 Na_2CO_3 (p.a.)
Na₂-EDTA, tedy $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{Na}_3\text{O}_8 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (p.a.)
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (čistý)
 NaHCO_3 (p.a.)
NaOH (p.a.)
 NH_4Cl (p.a.)
 $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (p.a.)
 NH_4OH (p.a.)
 $\text{NH}_4\text{S}_2\text{O}_8$ (p.a.)
Referenční materiál CRM BCR 684

4.3 Výběr odběrných míst

Odběrná místa byla vybrána s ohledem na nepřítomnost kanalizace v obcích ležících na toku (úživnost toků je zvýšená nebo vysoká, předpoklad výskytu fosforu v sedimentech), tak i dle rozdílného využití území (nížinná zemědělsky využívaná krajina, podhorská převážně zalesněná krajina) a intenzity osídlení.

Pro vzorkování byla zvolena odběrná místa drobných vodních toků v Jihomoravském kraji v příměstské oblasti Brna - přítok Svatky Aušperský a Troubský potok (3 odběrná místa), Leskava (4 odběrná místa). Dále byla zvolena 3 odběrná místa na drobných vodních tocích v kraji Vysočina. V obci Hartmanice na Bezejmenném potoce a pod obcí ve Zlatém potoce. V Moravskoslezském kraji byla zvolena 2 odběrná místa na drobném vodním toku Bílá Opava v obci Ludvíkov. Odběrná místa jsou zakreslena v následujícím obrázku (Obr. 8). Základní charakteristiky sledovaných lokalit jsou uvedeny v tabulce 3.



Obr. 8 – Mapa a zakreslení odběrných míst Ludvíkov, Aušperský-Troubský potok, Leskava a Hartmanice

Tabulka 3 Charakteristiky sledovaných lokalit

Vodní tok	Počet odběrných míst	Označení lokality	Místo	Délka km	Nadmořská výška pramen m n. m.	Číslo hydrologického pořadí	Povodí km ²	Soutok m n. m.
Aušperský potok	1	A-T	Brno	5,52	426,0	4-15-03-014	7,28	270,8 (s Troubským p.)
Troubský potok	2			10,70	379,3	4-15-03-017	30,12	232,0 (s Bobravou)
Leskava	4	Le	Brno	10,05	288,7	4-15-01-158	21,19	192,6 (se Svatkou)
Zlatý potok	2	H	Hartmanice	8,41	615,2	4-15-02-021 až	59,13	513,0 (s Křetínkou)
Bezejmenný tok	1			2,20	626,8	4-15-02-024 (část)	7,16	546,6 (s Bysterským p.)
Bílá Opava	2	Lu	Ludvíkov	14,41	1359,4	2-02-01-009	29,82	542,6 (se Střední Opavou)

4.3.1 Povodí Aušperského, Troubského potoka

Vodní tok

Troubský potok pramení v Popůveckém lese, protéká zemědělskou krajinou přes obce Popůvky a Troubsko a vlévá se do toku Bobrava v zalesněné části povodí při okraji přírodního parku Bobrava.

Troubskému potoku o délce 10,7 km náleží číslo hydrologického pořadí 4-15-03-013(017) o rozloze 30,1 km². Substrát dna je zanesen bahnem a kaly. Vodní tok je v zastavěných územích zkapacitněn a upraven do obdélníkového průřezu, břehy toku jsou opevněny. V zemědělsky využívané krajině, je tok napřímen a upraven do lichoběžníkového průřezu.

Odběrná místa A1 (Obr. 9) a T1 se nachází v neobydlené části. Odběrné místo A1 bylo vybráno jako referenční stav nacházející se v blízkosti prameniště. Odpadní vody obcí nad odběrným místem T1 nejsou svedeny do ČOV a je patrné, že jsou vyústěny do Troubského potoka.

Využití území

V povodí Troubského potoka je významně zastoupeno zalesnění 39,2 %, orná půda 38,2 % a také zastavěné plochy cca 18,6 %. V povodí se vyskytují především půdy podzolové. Povodí se vyznačuje nízkou hustotou zalidnění 351 ob. /km².

Geologické a geomorfologické poměry

V povodí Troubského potoka se vyskytují dvě kategorie hornin, a to především horniny kvartéru (hlíny, spraše, písky, štěrky) a také horniny granitoidy assytské (žuly, granodiority). Podle geomorfologického členění náleží povodí k podcelku Lipovská pahorkatina Hercynského systému. Nejvíce zastoupeným okrskem je Omnická vrchovina v horních částech povodí. Průměrná nadmořská výška povodí je 325 m n. m. (min. 232 m n. m., max. 478 m n. m.).

Klimatické poměry

Převážná část Troubského potoka se řadí dle Quittovy stupnice (1971) do oblasti MT 11 a nižší části povodí pak do T 2.



Obr. 9 – Odběrné místo na Aušperském potoce

Obr. 10 – Jedno z odběrných míst na Troubském potoce

4.3.2 Povodí Leskavy

Vodní tok

Vodní tok Leskava pramení severně od městské části Brno - Bosonohy. Po krátkém zalesněném úseku protéká střídavě zemědělskou a zastavěnou krajinou. Vodní tok dále protéká po okraji městské části Starý Lískovec, protéká městskou částí Dolní Heršpice a následně se vlévá do řeky Svratky. Leskavě náleží číslo hydrologické pořadí 4-15-01-158 o rozloze 21,2 km².

Trasa 10, 1 km dlouhého toku je ve většině úseků napřímena a je zde několik stupňů. Původní dno tvořené štěrkopískem až kameny je překryto jemným sedimentem. V zastavěných úsecích je koryto toku opevněno. Tok je v některých částech zatrubněn.

Odběrné místo L1 se nachází pod obydlenou částí, přilehlé plochy jsou zemědělsky využívány. Odběrné místo L2 (Obr. 11) se nachází v neobydlené části. Nečištěné odpadní vody z obce Bosonohy dotují vodní tok Leskava.

Využití území

V povodí Leskavy převažuje orná půda cca 42 %, v povodí jsou také významně zastoupeny zastavěné plochy cca 40 %. Dále se v povodí nachází plochy zalesněné, zatravněné včetně sadů a zahrad. V povodí se vyskytují především půdy podzolové. Povodí se vyznačuje nízkou hustotou zalidnění 1323 ob./km².

Geologické a geomorfologické poměry

V povodí Leskavy převažuje kategorie hornin kvartéru (hlíny, spraše, písky, štěrky), v horních částech povodí se také vyskytují diority a gabra, assyntské a variské. Podle geomorfologického členění náleží spodní část povodí k Alpsko-Himalájskému systému

a k provincii Západní Karpaty. Horní části povodí náleží k systému Hercynskému a k provincii Česká vysočina. Průměrná nadmořská výška povodí je 273 m n. m. (min. 193 m n. m., max. 415 m n. m.).

Klimatické poměry

Povodí Leskavy se dle Quittovy stupnice (1971) klimatických oblastí ČR, částečně řadí do oblasti T2, T4 a MT 11.



Obr. 11 – Jedno z odběrných míst na toku Leskava

4.3.3 Povodí Bílé Opavy

Jako místo s očekávanou vyšší úživností toku, byla vybrána pro svou dostupnost obec Ludvíkov, která leží mezi Vrbnem pod Pradědem a lázněmi Karlova Studánka v Moravskoslezském kraji. Celé území patří do chráněné krajinné oblasti Jeseníky. Zastavěná část obce se rozkládá v horském údolí podél řeky Bílá Opava, okolní hřebeny dosahují výše až 1000 m. Střední nadmořská výška je 620 m. n. m. Místa odběru sedimentů se nachází 3566 m nad soutokem Bílé Opavy se Střední Opavou (vzorek L1) a 4100 m nad soutokem Bílé Opavy se Střední Opavou (vzorek L2). V obci o rozloze katastrálního území 2220 ha se nenachází kanalizace.

Vodní tok

Bílá Opava pramení v národní přírodní rezervaci Praděd v Hrubém Jeseníku. Protéká obcemi Karlova Studánka a Ludvíkov. Ve Vrbně pod Pradědem se vlévá do toku Střední Opava. Mimo obce protéká zalesněným územím. Bílé Opavě náleží číslo hydrologického pořadí 2-02-01-009 o ploše 27,7 km². Jedná se o horský až podhorský vodní tok o délce 14,4 km s vysokou transportní schopností. Břehy toku protékajícím územím obce Ludvíkov, jsou lokálně upraveny kamennou dlažbou či gabiony. Dno toku je převážně kamenito-šterkovité, v místech pomalejšího proudu s písčítými usazeninami.

Odběrná místa B1 (Obr. 12) a B2 se nachází v obydlené části, ve které jsou zřejmě z některých přilehlých objektů vypouštěny odpadní vody.

Využití území

Jedná se převážně o lesnaté povodí, v nižších polohách jsou svahy zatravněny. Orná půda se v povodí nenachází. Dle morfogenetického klasifikačního systému půd v povodí (MKSP) se v povodí vyskytují především půdy podzolové. Povodí se také vyznačuje nízkou hustotou zalidnění 20 ob. /km².

Geologické a geomorfologické poměry

V povodí se vyskytují především dvě kategorie hornin, a to proterozoické horniny assyntsky zvrásněné, s různě silným variským přepracováním (břidlice, fylity, svory až pararuly) a paleozoické horniny zvrásněné a metamorfované (fylity, svory). Podle geomorfologického členění náleží povodí k Jesenické oblasti a k celku Hrubý Jeseník. Spodní část povodí pak náleží k podcelku Medvěžské hornatiny a horní část k podcelku Pradědské hornatiny. Průměrná nadmořská výška povodí je 925 m n. m. (min. 542 m n. m., max. 1492 m n. m.).

Klimatické poměry

Převážná část povodí se dle Quittovy (1971) stupnice klimatických oblastí ČR, řadí do oblasti CH6 a nejvyšší polohy povodí pak do CH4.



Obr. 12 – Jedno z odběrných míst na Bílé Opavě

4.3.4 Povodí Zlatého potoka

Vodní tok

Zlatý potok pramení nad obcí Jedlová. Pod touto obcí se do něj levostranně vlévá Baldovský potok a dále pak Bysterský potok. Mimo zastavěné úseky protéká vodní tok převážně zemědělskou krajinou. V obci Hamry se Zlatý potok vlévá do Křetínky. Dno vodního toku je převážně kamenité s písčitohlinitými sedimenty. Zlatému potoku o délce 8,4 km náleží číslo hydrologického pořadí 4-15-02-021(025) s povodím o ploše 34,5 km².

Odběrná místa H1 a H2 (Obr.13) se nachází v neobydlené části. Odpadní vody obcí nad těmito odběrnými místy nejsou svedeny do ČOV.

Využití území

V povodí převažuje orná půda cca 42 %, trvalých travních porostů se v povodí nachází cca 22 % a 28 % plochy povodí je zalesněno. Dle MKSP v povodí převažují kambizemě dystrické, dále se vyskytují kambizemě typické a pseudogleje primární. Povodí se vyznačuje hustotou zalidnění 72 ob. /km².

Geologické a geomorfologické poměry

V povodí převažuje kategorie hornin assyntsky zvrásněných, s různě silným variským přepracováním (břidlice, fylity, svory až pararuly), vyskytují se také horniny mezozoické (pískovce, jílovce) a granodiority až diority (tonalitou řada). Podle geomorfologického členění náleží povodí k provincii Česká vysočina a z převážné části k subprovincii Česko-moravská soustava. Horní část povodí pak náleží k subprovincii Česká tabule. Průměrná nadmořská výška povodí je 632 m n. m. (min. 513 m n. m., max. 756 m n. m.).

Klimatické poměry

Převážná část povodí se dle Quittovy (1971) stupnice klimatických oblastí ČR, řadí do oblasti CH 7 a východní část povodí pak do MT3.



Obr. 13 – Jedno z odběrných míst v Hartmanicích

4.4 Odběr, zpracování a uchování vzorků sedimentů i vody

Způsob vzorkování vychází z (ČSN ISO 5667-1). Odebírány byly jak vzorky vody (Obr. 14), tak vzorky sedimentů. Vzorky byly odebírány z mostů, ze břehů, nebo přímo po vstupu do říčního koryta. Nejprve byly odebírány vzorky vody, následně sedimenty, aby opačným postupem nedošlo ke znečištění vzorku porušením dna. V každé lokalitě byly pozorovány případné příčiny znečištění. Vzorky byly v jednotlivých obdobích odebírány v podobných klimatologických podmínkách.



Obr. 14 – Odběr vzorků vody



Obr. 15 – Zpracování vzorků sedimentů

Vzorky sedimentů byly manuálně odebrány jádrovým vzorkovačem jako směsné tak, aby reprezentovaly celek a poskytly údaje o průměrném složení sedimentů daného odběrného místa (ČSN 1998, 2007). Z výčtu jádrových vzorkovačů byl vzhledem k možnosti odběru širokého spektra druhů sedimentů vybrán, zakoupen a použit Beekerův jádrový vzorkovač (ČSN 1998). Jako vzorkovnice byly zvoleny uzavíratelné sáčky z inertního plastu, použité k tomuto účelu jednorázově. Vzorky byly v chladničkách přepraveny autem do laboratoře. Do 24 hodin byly zpracovány (Obr. 15). Z odebraných směsných vzorků byly odstraněny nežádoucí předměty jako větvičky, kousky úlomků skla, schránky živočichů apod. Vzorky byly dále předupraveny prosíváním za účelem získání částic menších než 100 μm , proto bylo zapotřebí zpracovat větší objemy vzorků. K separaci částic menších než 100 μm bylo používáno pro tyto účely vyrobené inertní nylonové síto, běžně dostupné kovové síto by mohlo být příčinou zkreslení výsledků.

Ačkoliv je doporučeno vlhké sedimenty pro potřeby dlouhodobějšího uchovávání konzervovat zmrazením v parách kapalného dusíku (ČSN ISO 5667-15), je zároveň známo, že rychlé zmrazení vzorků může způsobit mobilizaci znečišťujících látek, případně se může měnit umístění vazeb, což by mohlo mít vliv na zkoumané formy fosforu. Vzhledem k velkému množství vzorků však nebylo možné vzorky sedimentů analyzovat čerstvé. Zamrazení je prostorově náročné, navíc by se výrazně zvýšily náklady na pořízení mrazících pultů a přesto by nebyla zvolená metoda konzervace vzorků pro zamýšlené analýzy nejvhodnější. Metoda konzervace sedimentů sušením také není optimální, ale byla z dostupných možností zvolena jako nejvhodnější. Vzorky byly po vysušení při 105 °C do konstantní hmotnosti uchovány v suchu a temnu v prachovnicích, z nichž byly pro jednotlivá stanovení odebírány potřebné navážky.

Pro zpracování vzorků sedimentů, vody a analýzy bylo používáno laboratorní sklo určené jen pro účely stanovení fosforu, toto sklo nebylo omýváno detergenty a bylo čištěno v ultrazvukové lázni s destilovanou vodou dle postupu uvedeného v příloze 1 kapitoly 11.

Voda byla vzhledem ke stanovovaným parametrům (ČSN ISO 5667-3) odebrána nepřímo, vzorkovačem z inertního plastu, spouštěným na provazu (ČSN ISO 5667-6), do jednorázových plastových vzorkovnic v souladu s pokyny k zabezpečování jakosti odběru vzorků vod (ČSN ISO 5667-14). *In-situ* byly ve vzorku vody stanoveny fyzikálně-

chemické parametry (pH, vodivost, teplota, rozpuštěný kyslík). Pro účel stanovení rozpuštěného fosforu byla část vzorku přefiltrována přes mikrofiltr s velikostí ok 45 µm. Vzorkovnice byly v chladničkách přepraveny autem do laboratoře. V laboratoři byly vzorky z lesních oblastí zfiltrvány filtrem s velkými oky s cílem odstranit nežádoucí přírodní částice jako jehličí apod. Vzorky byly po dobu analyzování vybraných chemických parametrů, provedených do 24 hodin (BSK₅, obsah forem N a P, ChSK_{Cr} atd.), uchovány v chladničce.

4.5 Certifikovaný referenční materiál BCR-684

Pro potřeby disertační práce byl jako certifikovaný referenční materiál se známým složením stanovovaných složek zvolen říční sediment BCR-684. Pochází z velké řeky Pád (Itálie), která je ovlivněna zemědělstvím a odtokem ze zemědělských ploch, průmyslem a povodí řeky je hustě osídleno (Ruban et al., 2001a). Materiál je pod záštitou Institutu pro referenční materiály a měření, Společného výzkumného centra Evropské komise. Obsahuje v sedimentu extrahovatelný fosfor a definuje obsah pěti forem fosforu. Fosfor extrahovatelný NaOH, fosfor extrahovatelný HCl, anorganický a organický fosfor a fosfor extrahovatelný koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Příložený certifikát uvádí následující certifikované hodnoty koncentrací jednotlivých složek a nejistoty (tabulka 4).

Tabulka 4 Certifikát analýzy referenčního materiálu BCR-684 (European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements 2012)

Formy fosforu extrahovatelné ze sedimentu		
	Hmotnostní podíl	
	Certifikovaná hodnota [mg/kg]	Nejistota [mg/kg]
Fosfor extrahovatelný NaOH	550	21
Fosfor extrahovatelný HCl	536	28
Anorganický fosfor	1113	24
Organický fosfor	209	9
Fosfor extrahovatelný koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou	1373	35

Konečná metoda stanovení fosforečnanů je kolorimetrická (European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements 2012).

4.6 Kritéria výběru metod

Pro případy použití metod fosforu v širším měřítku (např. orgány státní správy či samosprávy) je potřeba zohlednit cenovou dostupnost analýz. Metody jak pro stanovení celkového fosforu, tak frakcionační, jsou vybrány především dle možností přístrojové vybavenosti a tak, aby bylo možné volit pro analytickou koncovku v laboratořích běžně dostupné spektrofotometry. Metody, které jsou na vybavení náročnější, musí být vypuštěny, nebo modifikovány. Např. mineralizace vzorku kyselinou chloristou vyžaduje použití dražšího typu mineralizátoru s termostatem zajišťujícím přesně dané teploty, aby byl dodržen pozvolný průběh mineralizace a byla zachována bezpečnost.

Kromě cenové přijatelnosti probíhá volba metod tak, aby byly prováděné analýzy relativně snadné, v postupech používané látky nebyly příliš agresivní, nebo nebezpečné při manipulaci. Úpravy metod by měly vést k jejich zjednodušení, časové nenáročnosti a maximálním výtěžkům extrahovaného fosforu. Po ověřování a vyhodnocení se další úpravy budou týkat např. změn dávkování činidel, čas zahřívání a reakční doby, změn teplot, koncentrací extrakčních činidel, přizpůsobení vlnových délek pro spektrofotometrické stanovení atd.

Pro stanovení koncentrace celkového fosforu jsou vybrány a ověřovány metody mineralizace H_2SO_4 s indikátorem 2,4-dinitrofenol, metoda SMTP, metoda tavení vzorku s Na_2CO_3 a metoda mineralizace vzorku pomocí H_2SO_4 s H_2O_2 . Tyto metody byly ověřovány na reálných vzorcích sedimentů.

První vybranou a testovanou metodou mineralizace vzorku za účelem stanovení koncentrace celkového fosforu je metoda popsána a uvedena v příspěvku Bílikové (1992), v kapitole 2.2.4. Autorka, jako většina dalších autorů popisujících analytické metody stanovení koncentrace celkového fosforu, neuvádí zcela přesné parametry, podle nichž by bylo možné zopakovat přesný postup, takže metoda musela být za tímto účelem upravena a byly zpřesněny její podmínky. Postup je uveden v kapitole 4.7.3, metoda je označena jako $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$. Další vybranou metodou, použitou za účelem stanovení koncentrace celkového fosforu, je metoda SMT popsána v příspěvku Pardo et al. (2003a) a v kapitole 2.2.3. Postup je popsán v kapitole 4.7.1, metoda je značena jako SMTP. Jako třetí vybranou a testovanou metodou je tavení vzorku s uhličitánem sodným, doporučený v publikaci Kovar a Pierzynski (2009). Tato metoda bude značena jako Na_2CO_3 . Poslední testovanou metodou je metoda používaná na Ústavu chemie Fakulty stavební VUT pro analýzy celkového fosforu jak ve vodě, tak v sedimentech mnoho let. Její modifikace oproti používaným postupům je popsána v kapitole 2.2.5 a postup je uveden v kapitole 4.7.4. Tato poslední metoda bude značena jako $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$.

Pro stanovení vybraných forem fosforu (frakcionace) byly vybrány metody SMT, EDTA a BD. Metoda značená jako SMT je zkratkou pro Standards, measurements and testing harmonised protocol, což je metoda doporučená Evropskou komisí, vyvinuta spolu s výzkumným centrem Evropské komise za účelem sjednocení stanovení sledovaných forem fosforu z důvodu dosavadního nedostatku uniformity metod. Tento název je v příspěvcích běžně používán.

Metoda SMT zahrnuje stanovení fosforu extrahovatelného hydroxidem sodným (NaOH-P, fosfor vázaný k Al, Fe, oxidům nebo hydroxidům Mn), fosforu extrahovatelného kyselinou chlorovodíkovou (HCl-P, fosfor vázaný k vápníku), organického fosforu (OP), anorganického fosforu (IP) a fosforu uvolnitelného koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou (conc. HCl-P, celkový fosfor) (Ruban et al., 2001a).

Název metody EDTA je zkratkou, odlišující se od dalších metod stanovení různých forem fosforu používanými extraktanty, solemi kyseliny ethylendiamintetraoctové. Metoda EDTA zahrnuje stanovení fosforu labilního, fosforu vázaného se železem, fosforu vázaného s vápníkem.

Označení metod BD je opět v zahraničních příspěvcích používanou zkratkou pro extraktant (bicarbonate/dithionite) dithioničitan a hydrogenuhličitan sodný. Extraktant se opět liší od dalších vybraných a testovaných metod. Aby se mezi sebou rozpoznaly i 2 metody „BD“ používající pro stanovení jedné z frakcí fosforu směs dithioničitanu a hydrogenuhličitanu, byly všechny vybrané metody očíslovány.

Z používaných analytických metod stanovení forem fosforu byly vybrány metody, které budou následně značeny jako 1. SMT, 2. EDTA, 3. BD a 4. BD. Metoda 3. BD zahrnuje stanovení fosforu labilního, fosforu vázaného se železem, fosforu vázaného s křemičitany a oxidy hliníku a fosforu apatitového. Metoda 4. BD zahrnuje stanovení fosforu labilního, fosforu vázaného se železem, fosforu vázaného na oxidy kovů Fe a Al a stanovení fosforu apatitového a organického rozpustného v kyselinách.

4.7 Celkový fosfor - ověřování postupu na reálných vzorcích

Následující metody stanovení celkového fosforu se ověřují na reálných vzorcích sedimentů drobných vodních toků.

4.7.1 SMTP – kalcinace

0,2 g vzorku se 3 hodiny žihá v porcelánovém kelímku při 450 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu se přidá 20 ml HCl 3,5 mol/l a roztok se míchá 16 hodin na překlápěcí míchačce při rychlosti 5 ot./min při laboratorní teplotě. Suspenze se vloží na centrifugu a odstředí se při 5000 ot./min po dobu 10 minut. V extraktu se stanoví koncentrace fosforečnanů.

4.7.2 Tavení s uhličitanem sodným

1,0 g sedimentu (zrnitost < 0,15 mm) a 4 g Na₂CO₃ se vloží do platinového kelímku. Směs se převrství 1 g Na₂CO₃. Ze směsi se odpaří voda mírným zahříváním na Meckerově kahanu. Kelímek se překryje víčkem tak, aby cca 1/5 zůstala otevřená. Směs se mírně zahřívá po dobu 10 min, aby došlo k jejímu pozvolnému tavení. Kahan se seřídí na plný výkon a směs se zahřívá 20 min. V kelímku je potřeba zajistit oxidační prostředí občasným odkrytím víčka. Kelímek také nesmí být v redukční části plamene. Pak se kelímek odstaví z kahanu. Otáčí se s ním tak, aby tavenina vytvořila tenkou vrstvu na stěnách. Tavenina se vyjme 30 ml H₂SO₄ 4,5 mol/l. Kelímek a víčko se vloží do kádinky s 25 ml H₂SO₄ 1 mol/l a zahřeje se k varu. Roztok se z kádinky i z kelímku převede do 250ml odměrné baňky. Doplní se po rysku deionizovanou vodou, nechá se usadit.

Na analýzu celkového fosforu se odeberou 2 ml (nebo jiný objem, podle obsahu P) do 50ml odměrné baňky. Přidá se 5 kapek p-nitrofenolového indikátoru. Upraví se na pH = 5 roztokem NaOH 5 mol/l (změna barvy indikátoru z bezbarvé do žluté). Dále se stanoví PO_4^{3-} obvyklým způsobem.

4.7.3 Mineralizace kyselinou sírovou

2 g sedimentu se vloží do kjeldahlizační baňky, přidá se 4 ml H_2SO_4 konc., varné kamínky a vzorek se mineralizuje při teplotě 440 °C do vyčiření. Po ochlazení se obsah baňky převede do 200ml odměrné baňky, přidá se 0,2 ml 2,4-dinitrofenolu, zneutralizuje se pomocí NH_4OH a po doplnění po rysku se promíchá a nechá se usadit. V roztoku se stanoví koncentrace fosforečnanů.

4.7.4 Mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku

Do 100 ml kjeldahlizační baňky se naváží 0,1 g vzorku sedimentu. Přidají se 3 ml koncentrované H_2SO_4 , vloží se do mineralizační aparatury, po dosažení 440 °C se směs zahřívá 5 minut až do objevení se bílých dýmů. Přes nálevku se přikape 17 ml H_2O_2 . Po vykapání peroxidu se zahřívá se ještě 5 minut. Baňka se po ochlazení na vzduchu doplní po značku 100 ml destilovanou vodou. Stanoví se koncentrace fosforečnanů.

4.7.5 Interference reagensů při fotometrickém stanovení fosforečnanů

Koncentrace reagensů, použitých v metodách stanovení koncentrace celkového fosforu, které ještě neinterferují s fotometrickým stanovením fosforečnanů, jsou zobrazeny v následující tabulce 5. Tabulka také zaznamenává SiO_2 a Fe^{3+} vzhledem k tomu, že jsou běžnou součástí sedimentů. Je potřeba brát v úvahu vliv těchto sloučenin na fotometrické stanovení.

Tabulka 5 Koncentrace vybraných sloučenin, použitých v různých testovaných metodách stanovení koncentrace celkového fosforu, které ještě neinterferují při fotometrickém stanovení fosforečnanů (Malá a Lagová, 2014)

Sloučenina	Koncentrace [mmol/l]	Chyba [%]
NaHCO_3	10	0,7
NaOH	40	0,3
HCl	200	0,7
H_2SO_4	120	0,8
NH_4OH	30	0,6
H_2O_2	0,88	0,4
SiO_2	1,5	0,1
Fe^{3+}	0,13	0,7

Metoda H_2SO_4 +DNF používá kyselinu sírovou, jejíž koncentrace ve výluhu je 0,37 mol/l. Před fotometrickou analýzou je vzorek rozpuštěn a neutralizován NH_4OH na pH = 5, proto H_2SO_4 neinterferuje s fotometrickým stanovením fosforečnanů.

Metoda SMTP používá tepelný rozklad vzorku následovaný extrakcí kyselinou chlorovodíkovou. Koncentrace HCl ve výluhu je 3,5 mol/l, k interferencím aciditou nedochází vzhledem k maximální přípustné koncentraci 200 mmol/l. Výluh musí být před fotometrickým stanovením neutralizován nebo ředěn nejméně 17,5x.

Metoda tavení vzorku s uhličitarem sodným zahrnuje před fotometrickým stanovením fosforečnanů 25 násobné ředění vzorku a neutralizaci kyselého vzorku pomocí NaOH. Pokud proces rozpouštění ztuhlé taveniny acidifikací neodstraní uhličitany ve formě CO₂, mohou být v roztoku přítomny reziduální hydrogenuhličitany a i přes jejich pufrací kapacitu interferovat. V doporučeném ředění by koncentrace hydrogenuhličitanů neměla přesáhnout kritickou hodnotu 10 mmol/l.

Ve výluhu z metody H₂SO₄+H₂O₂ je koncentrace kyseliny sírové 0,55 mol/l. Podmínka acidity je splněna po 4,6 násobném ředění nebo neutralizaci před provedením fotometrického stanovení. Peroxid vodíku interferuje jen při velmi nízkých koncentracích. Vzhledem k reakčnímu času je však peroxid vodíku zcela rozložen v průběhu mineralizace sedimentu.

K interferenci Fe³⁺ dochází při koncentracích vyšších než 1,5 mmol/l. Navážky sedimentů byly 100–200 mg. V metodách dochází k velkému ředění výluhů, takže jsou koncentrace železa podstatně nižší, než je tato hodnota, dokonce i v případě vzorků sedimentů bohatých na obsah železa.

4.8 Frakcionace - ověřování postupu na reálných vzorcích

Některé formy fosforu (anorganický, organický, neapatitový) jsou stanoveny pouze jednou metodou, protože se jiné metody stanovení těchto forem běžně nepoužívají. Pro další formy fosforu je však běžné užití různých metod.

4.8.1 Anorganický fosfor

Laboratorní postup pro stanovení anorganického fosforu ve vzorku metodou 1. SMT

Do 40 ml PP vzorkovnice se naváží 0,2 g sedimentu. Přidá se 20 ml HCl 1 mol/l. Vzorkovnice se uzavře a upevní se při laboratorní teplotě namíchačku s překlápěním, kde se obsah 16 hodin míchá při rychlosti 5 ot/min. Odstředí se (laboratorní teplota, 3000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do kádinky. Infranatant se použije v dalším kroku. Supernatant se zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm a stanoví se koncentrace fosforečnanů.

4.8.2 Organický fosfor

Laboratorní postup pro stanovení organického fosforu ve vzorku metodou 1. SMT (zahrnuje i část anorganického fosforu)

Veškerý infranatant z předchozího kroku se převede do porcelánového kelímku předem vyžeháného a zváženého. Infranatant ulpívající na stěnách vzorkovnice se do porcelánového kelímku převede šetrně stříčkou s minimálním množstvím destilované vody. Porcelánový kelímek se žihá v peci 3 hodiny při 450 °C. Po této době se vloží na vychladnutí do exsíkátoru a po ochlazení na laboratorní teplotu se zváží. Obsah kelímku se převede kvantitativně pomocí 20 ml HCl 1 mol/l do PP vzorkovnice. Vzorkovnice se uzavře a upevní se při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se obsah 16 hodin

míchá při rychlosti 5 ot./min. Odstředí se (laboratorní teplota, 3000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do kádinky, zfiltruje se stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm a stanoví se koncentrace fosforečnanů.

4.8.3 Labilní fosfor

Stanovení labilního fosforu ve vzorku metodou 2. EDTA

Postup vychází z publikace Lai a Lam (2008) a je založen na práci Goltermána (1996).

Do vzorkovnice se naváží 0,5 g sedimentu. K navážce se přidá 30 ml destilované vody, vzorkovnice se uzavře a upevní se při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se směs extrahuje 5 minut při rychlosti 8 ot./min. Vzorkovnice se umístí na centrifugu a obsah se 10 minut odstředí při 5000 ot./min. Supernatant se odlije a stanoví se v něm koncentrace fosforečnanů. Infranatant se uchová pro další krok.

Stanovení labilního fosforu ve vzorku metodou 3. BD

Postup vychází z příspěvku Tallberg et al., (2008) a je založen na práci Psenner a Pucsko (1988). V drobných modifikacích postup použili také např. Jensen a Thamdrup (1993), Ribeiro et al. (2008) nebo SanClements et al. (2009).

Do vzorkovnice nebo do 50 ml PP centrifugační zkumavky se naváží 1 g sedimentu a přidá se 25 ml NH_4Cl 1 mol/l. Vzorkovnice se uzavře a upevní se při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se směs extrahuje při rychlosti 5 ot./min (jemné míchání) 1 hodinu. Poté se vzorek odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot., 10 minut). Supernatant se oddělí a uchová se v další vzorkovnici.

K infranatantu se znovu přidá 25 ml NH_4Cl , uzavře se a silně se 1 minutu protřepává za účelem rozrušení infranatantu a vytvoření směsi s NH_4Cl , poté se odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot., 10 minut). Vzniklý supernatant se odlije do vzorkovnice obsahující první podíl supernatantu. Takto vzniklá směs se následně promíchá, okyselí se 0,5 ml H_2SO_4 2 mol/l a stanoví se koncentrace fosforečnanů. Infranatant se uchová pro další krok.

Stanovení labilního fosforu ve vzorku metodou 4. BD

Postup vychází z práce Borovec a Hejzlar (2003) a je obdobný jako postup uvedený v publikaci Psenner a Pucsko (1988).

0,25 g sedimentu se naváží do 50 ml vzorkovnice. Přidá se 40 ml destilované vody bez kyslíku (považená destilovaná voda), vzorkovnice se uzavře a upevní se při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se 10 minut extrahuje při teplotě 25 °C při rychlosti 8 ot./min. Odstředí se. Supernatant se odlije do další vzorkovnice a uchová pro další krok. K infranatantu se přidá 40 ml destilované vody bez kyslíku. Vzorkovnice se uzavře, víčko se přelepí parafilmem a znovu se 10 minut extrahuje na překlápěcí míchačce při teplotě 25 °C a rychlosti 8 ot./min, následně se odstředí. Supernatant se přidá do vzorkovnice k prvnímu podílu supernatantu, směs se zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm a stanoví se v ní koncentrace fosforečnanů.

4.8.4 Apatitový fosfor

Laboratorní postup pro stanovení apatitového fosforu ve vzorku metodou 1. SMT

K infranatanu z předchozí kapitoly se do stejné vzorkovnice přidá 20 ml HCl 1 mol/l. Vzorkovnice se uzavře, víčko se přelepí parafilmem a několikrát se silně protřepe. Vzorkovnice se upevní při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se obsah 16 hodin míchá při rychlosti 5 ot./min a poté se odstředí (laboratorní teplota, 3000 ot., 10 minut). Supernatant se odlije a zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm do další vzorkovnice, následně se obvyklým způsobem stanoví koncentrace fosforečnanů.

Stanovení apatitového fosforu ve vzorku metodou 3. BD

K infranatanu z předchozího kroku se do stejné vzorkovnice přidá 25 ml HCl 0,5 mol/l. Infranatant z postupu pro fosfor vázaný s křemičitany a oxidy hliníku se několikrát silně protřepe, aby se extraktant HCl se sedimentem promíchal. Poté se vzorek vloží na 1 hodinu na překlápěcí míchačku a extrahuje se při rychlosti 5 ot./min. Následně se vzorek odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot., 10 minut) a supernatant se odlije do čisté vzorkovnice.

Infranatant se smíchá s 25 ml HCl 0,5 mol/l, poté se vzorek odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot., 10 minut). Supernatant se odlije do vzorkovnice k prvnímu podílu supernatantu (postupu apatitový fosfor) a oba se promíchají.

K infranatanu se přidá 25 ml destilované vody, poté se vzorek odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot., 10 minut). Supernatant se odlije do vzorkovnice ke dvěma předešlým supernatantům a směs se promíchá. Ve vzniklém roztoku se stanoví koncentrace fosforečnanů obvyklým způsobem.

Stanovení apatitového fosforu ve vzorku metodou 4. BD (zahrnuje i organický fosfor rozpustný v kyselinách, resp. fosfor vázaný na uhličitany a apatitový fosfor)

K infranatanu z předchozího kroku se do stejné vzorkovnice přidá 40 ml HCl 0,5 mol/l, uzavře se, víčko lahvičky se přelepí parafilmem a umístí se na 24 hodin na překlápěcí míchačku (rychlost 5 ot./min, teplota 25 °C). Poté se odstředí, supernatant se odlije a zfiltruje přes nylonový filtr 0,45 µm do další vzorkovnice. Ve filtrátu se stanoví koncentrace fosforečnanů.

4.8.5 Neapatitový fosfor

Laboratorní postup pro stanovení neapatitového fosforu ve vzorku metodou 1. SMT

Do vzorkovnice se naváží 0,2 g sedimentu a přidá se 20 ml NaOH 1 mol/l. Vzorkovnice se uzavře, víčko se přelepí parafilmem, upevní se při laboratorní teplotě na překlápěcí míchačku, kde se obsah 16 hodin míchá při rychlosti 5 ot./min. Dále se směs odstředí (laboratorní teplota, 3000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do kádinky. Infranatant se použije v následující kapitole. Do další vzorkovnice se odebere přesně 10 ml promíchaného supernatantu a přidají se 4 ml HCl 3,5 mol/l. Směs se protřepe a nechá se stát 16 hodin při laboratorní teplotě, poté se zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm do další vzorkovnice. Ve filtrátu se stanoví koncentrace fosforečnanů.

4.8.6 Fosfor vázaný na kovy

Stanovení fosforu vázaného ve vzorku se železem (Fe (OOH) ~ P) metodou 2. EDTA

K infranatanu z předchozího kroku se do stejné vzorkovnice přidá 30 ml roztoku připraveného z Ca-EDTA 0,05 mol/l v 1% dithioničitanu sodném, při pH = 8 (pH se dorovná NaOH 1mol/l nebo HCl 1mol/l). Vzorkovnice se umístí na 2 hodiny na překlápěcí míchačku, rychlost otáčení je 5 ot./min. Vzorkovnice se umístí na centrifugu, kde se 10 minut odstředí při 5000 ot./min. Supernatant se odlije, poté se zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm a ve filtrátu se stanoví koncentrace fosforečnanů obvyklým způsobem.

Stanovení fosforu vázaného ve vzorku s vápníkem (CaCO₃ ~ P) metodou 2. EDTA

K infranatanu z předchozího kroku se přidá do stejné vzorkovnice Na₂-EDTA 0,1 mol/l při pH = 4 (pH se dorovná NaOH 1 mol/l nebo HCl 1mol/l). Vzorkovnice se umístí na překlápěcí míchačku, kde se 17 hodin míchá při rychlosti 5 ot./min, poté se směs odstředí (10 minut, 5000 ot./min.). Supernatant se zfiltruje stříkačkou přes nylonový filtr 0,45 µm a následně se ve filtrátu stanoví obvyklým způsobem koncentrace fosforečnanů. Infranatant se uchová.

Stanovení forem fosforu vázaného ve vzorku se železem metodou 3. BD

K infranatanu z předchozího kroku se přidá do stejné vzorkovnice 25 ml extraktantu připraveného z NaHCO₃ 0,22 mol/l a Na₂S₂O₄ 0,22 mol/l. Poté se vzorek vloží na 30 minut na překlápěcí míchačku a extrahuje se při rychlosti 8 ot./min. Vzorek se odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut) a supernatant se odlije do nové vzorkovnice.

Infranatant se smíchá s 25 ml extraktantu připraveného z NaHCO₃ 0,22 mol/l a Na₂S₂O₄ 0,22 mol/l, po dobu jedné minuty se silně protřepává, odstředí se (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut) a supernatant se odlije do vzorkovnice k předešlému supernatantu.

Infranatant se znovu smíchá s 25 ml extraktantu připraveného z NaHCO₃ 0,22 mol/l a Na₂S₂O₄ 0,22 mol/l. Po dobu jedné minuty se směs silně protřepává, poté se odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut) a supernatant se odlije do vzorkovnice k předešlým supernatantům.

Infranatant se smíchá s 25 ml destilované vody a několikrát se silně protřepe, poté se vzorek vloží na odstředivku (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do vzorkovnice k předešlým supernatantům. Infranatant se uchová pro stanovení fosforu vázaného s křemičitany a oxidy hliníku. Celkem 4 smíchané podíly supernatantů (3x NaHCO₃ 0,22 mol/l + Na₂S₂O₄ 0,22 mol/l, 1x DV) se zhomogenizují a okyselí se 4 ml H₂SO₄ 2 mol/l. Ve vzniklém roztoku se obvyklým způsobem stanoví koncentrace fosforečnanů.

Stanovení forem fosforu vázaného ve vzorku s křemičitany a oxidy hliníku metodou 3. BD

K infranatanu z předchozího kroku se do stejné vzorkovnice přidá 25 ml NaOH 0,1 mol/l. Směs se několikrát silně protřepe, poté se vzorek umístí na 18 hodin na překlápěcí míchačku a extrahuje se při rychlosti 5 ot./min. Následně se vzorek odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut) a supernatant se odlije do další vzorkovnice.

Infranatant se smíchá s 25 ml NaOH 0,1 mol/l, několikrát se silně protřepe, poté se vzorek

umístí na odstředivku (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do vzorkovnice k prvnímu podílu supernatantu (postup fosfor vázaný s křemičitany a oxidy hliníku) a směs se promíchá.

K infranatanu se přidá 25 ml destilované vody, několikrát se silně protřepe a odstředí se (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut). Supernatant se odlije do vzorkovnice k dalším podílům supernatantů, promíchá se, směs se okyselí 1,5 ml H_2SO_4 2 mol/l a koncentrace fosforečnanů se stanoví obvyklým způsobem. Infranatant se uchová pro další krok.

Stanovení fosforu vázaného na železo metodou 4. BD (redox labilní P vázaný na hydroxidy a jiné sloučeniny Fe (Mn); P vázaný na org. hmotu sorbovanou na hydroxidech Fe)

K infranatanu z postupu pro labilní fosfor se do stejné vzorkovnice přidá 40 ml roztoku vzniklého smícháním $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 0,1 mol/l s NaHCO_3 0,1 mol/l. Infranatant se silně protřepe, do obsah se na elektromagnetickém míchadle promíchává 30 minut při 40 °C. Vzorek se odstředí (laboratorní teplota, 2000 ot./min, 10 minut), supernatant se odlije a zfiltruje přes nylonový filtr 0,45 μm . Ve filtrátu se stanoví koncentrace fosforečnanů.

Stanovení fosforu vázaného na oxidy kovů Fe, Al metodou 4. BD (P vázaný na hydratované oxidy kovů – Fe, Al a vázaný ve sraženinách huminových látek s kovy, P v organismech, včetně polyfosfátů a detritu)

K infranatanu z předchozího kroku se do stejné vzorkovnice přidá 40 ml NaOH 1 mol/l, uzavře se, víčko se přelepí parafilmem a 16 hodin se extrahuje na překlápěcí míchačce při teplotě 25 °C a rychlosti 5 ot./min. Infranatant se několikrát silně protřepe, odstředí se, supernatant se zfiltruje přes nylonový filtr 0,45 μm a ve filtrátu se stanoví koncentrace fosforečnanů.

4.9 Postup spektrofotometrického stanovení fosforečnanů

Postup používaný na Ústavu chemie vychází z publikace Horáková, (1986; 2007), která je podobná se stanovením fosforu spektrofotometrickou metodou s molybdenanem amonným (ČSN EN ISO 6878). Tyto metody vychází ze stanovení uvedeného Murphy a Riley (1962) a je blíže popsáno v kapitole 2.5.

Ke stanovení fosforečnanů se používají chemikálie zaručené analytické jakosti a redestilovaná voda. Připraví se činidlo připravené z roztoku molybdenanu amonného s vinanem antimonylo-draselným a kyselinou sírovou (stálost činidla 2 měsíce v tmavé lahvi). Dále se připraví roztok kyseliny askorbové (stálost roztoku je 14 dní v tmavé lahvi v chladničce) (ČSN EN ISO 6878).

V případě provedení kalibrační křivky je nutno připravit kalibrační roztoky fosforečnanů o známé koncentraci, k nimž se přidá roztok kyseliny askorbové, roztok molybdenanu a po promíchání a 10 minutách se spektrofotometrem při stanoveném absorpčním maximu (např. 690, 880 nm) změří v kyvetě absorbance proti vodě.

Koncentrace fosforečnanů ve vzorcích se stanovuje tak, že se k 50 ml vzorku přidá 1 ml kyseliny askorbové a 4 ml směsného činidla, obsahujícího kyselinu sírovou, molybdenan amonný a vinan antimonylodraselný. Po promíchání a 10 minutách se na předem připravené kalibrační přímce spektrofotometricky změří koncentrace orthofosforečnanů

ve skleněných kyvetách proti destilované vodě (při stejném absorpčním maximu, které bylo použito pro sestrojení kalibrační křivky). Koncentrace se uvádí pro vodné roztoky v mg/l, pro sedimenty se přepočítává na mg/g.

4.10 Statistické hodnocení výsledků

Naměřené hodnoty koncentrací fosforu byly statisticky hodnoceny ve volně šiřitelném softwaru „R“ pro statistické výpočty a grafiku. K hodnocení dat byly využity následující metody. Byly vytvořeny popisné statistiky posuzovaného datového souboru, obsahující dle různého členění informaci o průměrné hodnotě, směrodatné odchylce (parametrické statistiky, které jsou zařazeny pouze orientačně) a dále informaci o 0., 25., 50., 75. a 100. percentilu, jakožto neparametrickém popisu datového souboru.

Jako první náhled datového souboru pro celkový fosfor byl vygenerován krabicový graf v různém členění (např. podle lokality, metod, období). Grafické prvky krabicového grafu mají následující význam: dolní vous znamená minimum, dno krabice znamená 25. percentil, tučná čára označuje medián, strop krabice značí 75. percentil a horní vous je maximum.

Další vizuální pomůckou pro vyhodnocení vzájemných vazeb mezi analytickými metodami jsou korelační grafy, které ve formě bodových grafů znázorňují relace mezi dvojicemi metod resp. referenčních kovů. Srovnání dvou metod pro stanovení téže látky je velmi časté a provádí se metodou regresní analýzy. Pro vyjádření vzájemného vztahu byla použita neparametrická lineární regrese, tzv. Theil-Senův odhad trendu (kap. 4.10.1), znázorňující velikost (ovšem nikoliv statistickou významnost) korelace obou metod.

Obdobným, ovšem číselným, vyjádřením vzájemného vztahu obou metod jsou korelační koeficienty, které vyjadřují míru rozptylu bodů kolem regresní přímky. Maximální hodnota korelačního koeficientu je 1, v tom případě leží všechny body na přímce dané rovnicí regresní přímky. Při zvyšujícím se rozptylu bodů hodnota korelačního koeficientu klesá. Korelace je měřítkem těsnosti mezi oběma porovnávanými metodami, a ne shody hodnot produkovaných oběma metodami. Obvykle platí, že větší počet měření má tendenci poskytnout vyšší korelační koeficient, naproti tomu i malé množství odlehklých hodnot může vést k výrazně nižšímu korelačnímu koeficientu (Racek, 2006). Vzhledem k tomu, že se posuzovaná data vymykají normálnímu rozdělení, byl pro interpretaci zvolen Spearmanův korelační koeficient (kap. 4.10.2). Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu (ρ) a odpovídající statistická významnost jsou shrnuty v příslušných tabulkách ve formě p-hodnot.

K testování rozdílnosti naměřených hodnot v závislosti na lokalitě byl využit neparametrický Kruskal-Wallisův test (kap. 4.10.3), který v jednorozměrném uspořádání (faktorové kombinace lokalita $\times$ metoda) testoval rozdíly v souborech naměřených hodnot. Výsledné p-hodnoty Kruskal-Wallisova testu pro jednotlivé metody jsou uvedeny v příslušné tabulce. Statistická významnost určuje fakt, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a metody se statisticky významně liší od jiné. Kruskal-Wallisův test ovšem není schopen poskytnout informaci o tom, která kombinace to je, proto byla za účelem podrobnějšího porovnání zařazena metoda Tukeyova HSD testu (kap. 4.10.4), který s příslušnou korekcí proti kumulativní chybě testuje oproti sobě jednotlivé skupiny ve členění podle lokality.

Konkrétní popis dat a jejich hodnocení se nachází v kapitole 5. Veškeré statistické analýzy uvedené v následujících kapitolách byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

4.10.1 Theil-Senův odhad trendu

Theil-Senova regrese je neparametrická metoda lineární regrese bodů ve dvou nebo vícedimenzionálním prostoru. Ve srovnání s běžnou lineární regresí metodou nejmenších čtverců jde o robustní a rychle spočitatelnou metodu lineárního proložení bodů, která není citlivá na odchylky od normálního rozdělení včetně odlehlých hodnot (outlierů). Tato regrese je využita v kapitole 5.1 a 5.2. Princip výpočtu spočívá v nalezení mediánové směrnice všech možných směrnic určených dvojicemi bodů ze zadané množiny a následném dopočtení absolutního členu (interceptu) jako mediánu rozdílů mezi hodnotou bodů v prostoru (tj. hodnotou závislé proměnné) a hodnotou určenou získanou přímkou s nulovým absolutním členem (Kalina et al., 2014).

V prvním kroku výpočtu se pro všechny dvojice bodů s (alespoň jednou) vzájemně rozdílnou hodnotou nezávislé proměnné spočítají směrnice přímek, procházejících oběma body z dvojice. Ze získané množiny reálných čísel je následně vypočten medián, který představuje směrnici hledané lineární závislosti (přímky). Pro úplný předpis zbývá zjistit absolutní člen, který je určen jako medián rozdílů mezi hodnotami závislé proměnné v zadaných bodech a hodnotami určenými přímkou s vypočítanou směrnicí a nulovým absolutním členem v týchž bodech (Kalina et al., 2014)..

Ve dvourozměrném případě s nezávislou proměnnou x a závislou proměnnou y jsou nejprve pro množinu n bodů určeny všechny směrnice $s_{ij} = (y_i - y_j) / (x_i - x_j)$ a z těchto směrnic je vybrána mediánová směrnice s_m (Kalina et al., 2014):

$$s_m = \left(\widehat{\frac{y_i - y_j}{x_i - x_j}} \right) \quad (8)$$

x nezávislá proměnná

y závislá proměnná

s_m mediánová směrnice

Absolutní člen i_m se posléze určí jako mediánová hodnota množiny rozdílů mezi skutečnými hodnotami závislé proměnné a hodnotami vypočtené směrnice s nulovým absolutním členem, odpovídajícími zadaným hodnotám nezávislé proměnné $s_m x_i$ (Kalina et al., 2014):

$$i_m = y_i - \widehat{s_m x_i} \quad (9)$$

i_m absolutní člen

y závislá proměnná

$s_m x_i$ nezávislá proměnná

(s_m mediánová směrnice,

x nezávislá proměnná)

4.10.2 Spearmanův korelační koeficient

Máme-li statistické znaky měřeny v měřítku, které umožňuje seřadit oba zkoumané znaky do dvou pořadí (uspořádaných posloupností), můžeme ke zjištění míry intenzity (těsnosti) použít Spearmanův koeficient pořadové korelace. Spearmanův korelační koeficient je narozdíl od Pearsonova korelačního koeficientu odolný vůči odlehlým hodnotám. Lze jej použít ve všech případech, kdy již Pearsonův korelační koeficient použít nelze.

Používá se u všech ordinálních i metrických dat, která nesplňují podmínky normálního rozdělení a očekávání lineárního vztahu 10 (Havel et al., 2011). Spearmanův korelační koeficient je využit v kapitole 5.1 a 5.2.

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum_{i=1}^n d_i^2}{n(n^2 - 1)} \quad (10)$$

r_s Spearmanův koeficient pořadové korelace d_i rozdíl obou pořadí n celková četnost všech hodnot

Koeficient determinace d umožňuje velice srozumitelně vysvětlit souvislost (závislost) mezi dvěma proměnnými, neboť jeho hodnotu lze převést na procenta. Pokud je možno určit korelační koeficient, potom platí, že koeficient determinace je jeho druhou mocninou a jeho hodnota vynásobená 100 říká, kolika procenty se podílí sledovaný faktor na výsledném efektu (Havel et al., 2011).

4.10.3 Kruskal-Wallisův test

V případě, že je třeba porovnat více než dva soubory a nelze usuzovat na normální rozdělení, použijeme pro prokázání rozdílů v jednotlivých skupinách Kruskal-Wallisův test. Je využit v kapitole 5.1 a 5.2. Test je neparametrickou analogií jednofaktorové analýzy rozptylu, a právě proto se mu někdy přezdíívá neparametrická ANOVA. Testovým kritériem je hodnota H , která se vypočítá podle vztahu 11 (Havel et al., 2011).

$$H = \left[\frac{12}{n(n+1)} \sum \frac{R_i^2}{n_i} \right] - 3(n+1) \quad (11)$$

H testové kritérium n celková četnost všech hodnot R_i součet pořadí v jednotlivých skupinách n_i četnosti hodnot v jednotlivých skupinách

Nulovou hypotézu zamítáme (rozdíl mezi výběry prokážeme), jestliže vypočítané testové kritérium H je větší než kritická hodnota testového kritéria χ^2 . Kritickou hodnotu vyhledáváme pro $k - 1$ stupňů volnosti, kde k je počet skupin, které srovnáváme. (Havel et al., 2011).

4.10.4 Tukeyova metoda HSD testu

Tukeyova metoda HSD testu patří k post-hoc (následným) metodám mnohonásobného porovnávání a je vhodná pro nestejné rozsahy výběrů (Budíková et al., 2010). Je využita v kapitole 5.1 a 5.2. Zkratka HSD pochází z anglického honest significant difference. Postup byl původně navržen pro situaci, kdy jsou všechny rozsahy výběru n_i stejné, ale jeho rozšíření lze použít i při nestejných rozsazích. Populační průměry i -tý a j -tý se od sebe na hladině významnosti α významně liší, pokud platí vztah 12 (Zvára, 2013).

$$|\bar{Y}_{i\bullet} - \bar{Y}_{j\bullet}| \geq q_{k,n-k}(1-\alpha) \sqrt{\frac{S^2}{2} \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)} \quad (12)$$

$|\bar{Y}_{i\bullet} - \bar{Y}_{j\bullet}|$ odchylky od průměrů jednotlivých výběrů

$q_{k,n-k}(1-\alpha)$ je $(1-\alpha)$ - kvantil studentizovaného rozpětí s parametry k a $n - k$
 n_i, n_j rozsahy výběru α hladina významnosti S odhad směrodatné odchylky

4.10.5 Shapiro-Wilkův test

Shapiro-Wilkův test je využit v kapitole 5.2. Jedná se o neparametrický pořádkový test normality dat, který se využívá nejčastěji pro malé a střední rozsahy dat. Test je založen na statistice dle rovnice 13 (Žváček, 2013):

$$W_n = \frac{\sum_{i=1}^{k_n} a_{n,i} \cdot (\chi_{(n-i+1)} - \chi_{(i)})^2}{\sum_{i=1}^n (\chi_i - \bar{\chi})^2} \quad (13)$$

$\chi_{(i)}$ i -tá pořádková statistika (indexy jsou v závorkách), tedy i -té nejmenší číslo ve výběru
 $a_{n,i}$ jsou tabelované konstanty závislé na rozsahu výběru

k_n je počet konstant $a_{n,i}$ závislý na rozsahu výběru,

n rozsah výběru

$\bar{\chi}$ je aritmetický průměr výběru

Hodnota W je ve své podstatě korelační koeficient, který říká, jak těsně data korelují s křivkou normálního rozdělení (Žváček, 2013).

Hypotézu H_0 zamítáme na hladině významnosti α , když $W_n > CW_{n,\alpha}$

$CW_{n,\alpha}$ jsou tabelované kritické hodnoty

V opačném případě ji nelze zamítnout (Žváček, 2013).

5 VÝSLEDKY A JEJICH HODNOCENÍ, DISKUSE

5.1 Celkový fosfor

Pro stanovení koncentrace celkového fosforu byly využity 4 analytické metody. Tyto analytické metody byly hodnoceny statistickými analýzami, kde u vybraných byly využity informace o koncentraci železa a vápníku ve vzorcích. Hodnotí se analytické metody stanovení koncentrace celkového fosforu SMTP (metoda doporučená Evropskou komisí - Standards, Measurements and Testing Programme), dále Na_2CO_3 (metoda tavení s uhlíčitanem sodným), $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$ (metoda mineralizace kyselinou sírovou), $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ (metoda mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku).

Statistickými analýzami bylo hodnoceno 12 vzorků sedimentu ve třech opakováních. Testované vzorky byly odebrány na podzim 2011 a pochází ze čtyř lokalit:

- Aušperský a Troubský potok (3 vzorky, značeny A-T),
- Leskava (4 vzorky, značeny Le)
- Bysterský a Zlatý potok (3 vzorky, značeny H)
- Ludvíkov (2 vzorky, značeny Lu).

Popisné statistiky jsou členěny podle jednotlivých metod a přidáných obsahů Ca a Fe a jsou shrnuty v tabulce 6. Prvním náhledem datového souboru pro celkový fosfor je krabicový graf vygenerovaný ve členění podle lokality (4 varianty) a metod (4 varianty), celkem o 16 krabicích (graf 1).

Podrobné porovnání rozdílnosti naměřených hodnot koncentrací celkového fosforu v závislosti na lokalitě, zobrazila metoda Tukeyova HSD testu, který proti sobě testuje jednotlivé dvojice ve členění podle lokality.

Spearmanova korelace je další statistickou analýzou, která byla využita za účelem prokázání závislosti stanovených koncentrací celkového fosforu na jednotlivých analytických metodách stanovení koncentrace celkového fosforu. Dále byla využita k prokázání závislosti koncentrací celkového fosforu, stanoveného jednotlivými analytickými metodami, na koncentracích kovů. Číselným vyjádřením vzájemného vztahu obou metod je Spearmanův korelační koeficient (ρ) a odpovídající statistická významnost, která je reprezentována p-hodnotou. Obě tyto charakteristiky jsou shrnuty v tabulce 10.

Dále byly pomocí neparametrické lineární regrese (Theil-Senův odhad trendu) za účelem vyhodnocení existence vzájemného vztahu mezi analytickými metodami zvoleny korelační grafy, znázorňující relace mezi dvojicemi metod ve formě bodových grafů. Koncentrace zjištěné první metodou jsou vždy vyneseny na osu x, koncentrace zjištěné druhou metodou na osu y.

Tabulka 6 Popisná statistika – celkový fosfor

	SMTP	Na ₂ CO ₃	H ₂ SO ₄ +DNF	H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	Ca	Fe
Parametr	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
Průměrná hodnota	1,319	1,054	1,479	1,525	7,858	22,450
Směrodatná odchylka	0,595	0,326	0,411	0,397	4,969	8,218
Minimální hodnota	0,600	0,517	1,022	0,677	2,300	10,100
25. percentil	1,011	0,764	1,201	1,290	2,800	14,175
Medián	1,188	1,130	1,434	1,523	8,850	24,400
75. percentil	1,601	1,191	1,598	1,684	11,250	29,350
Maximální hodnota	2,796	1,738	2,511	2,280	17,800	32,800

Z tabulky 6 je zřejmé, že nejvyšší průměrná koncentrace celkového fosforu byla získána metodou H₂SO₄+H₂O₂. Následují metody H₂SO₄+DNF, SMTP a nejnižší průměrná koncentrace celkového fosforu byla získána metodou Na₂CO₃. Nejvyšší maximální hodnota koncentrace celkového fosforu byla získána metodou SMTP, nejnižší maximální hodnota metodou Na₂CO₃. Nejvyšší minimální hodnota koncentrací celkového fosforu byla získána metodou H₂SO₄+DNF. Nejnižší minimální hodnota byla získána metodou Na₂CO₃. Nejvyšší hodnota mediánu koncentrací celkového fosforu byla získána metodou H₂SO₄+H₂O₂, následovala metoda H₂SO₄+DNF, nejnižší hodnota mediánu koncentrací celkového fosforu se nachází u metody Na₂CO₃. V tabulce 6 popisných statistik se nachází také koncentrace vápníku a fosforu v analyzovaných sedimentech. Je tedy patrné, že se ve vzorcích nachází více železa, než vápníku.

Údaje o zatížení drobných vodních toků fosforem v souvislostech s dalšími parametry se v literatuře vyskytují zřídka. House a Denison (2002) v rámci studie řek ve Velké Británii uvádí následující průměrné hodnoty (medián):

- celkový fosfor 1,9 (0,7) mg/g,
- železo 75 (37) mg/g,
- vápník 36 (18) mg/g,
- organická hmota (OM) 4,2 (2,7) %.

Katsaounos et al. (2007b) uvádí v řeckých řekách následující průměrné koncentrace:

- celkový fosfor 0,4–0,6 mg/g,
- železo 1,3–10,8 mg/g,
- vápník 2,2–4,7 mg/g,
- organická hmota 1,6–7,1 %.

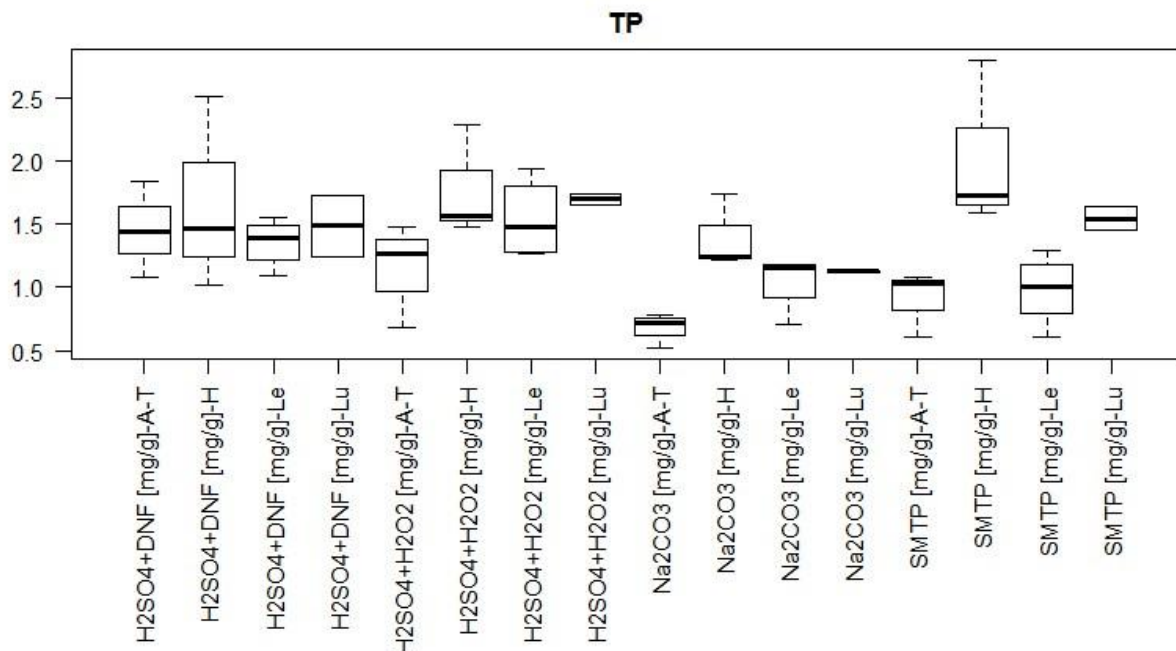
Evans et al. (2004) uvádí pro vzorky sedimentů z nížinných toků ve Velké Británii následující hodnoty:

- celkový fosfor 114–200 mg/g,
- železo 9,51–31,2 mg/g,
- vápník 4,43–144 mg/g,
- organická hmota 16,9–17 %.

Další autoři (Borovec a Hejzlar, 2003; Pagliosa et al., 2005; SanClements et al., 2009) prezentovali podobné nebo nižší hodnoty celkového fosforu v sedimentech evropských, amerických, australských jezer, či řek.

Náhled na datový soubor celkového fosforu v testovaných sedimentech zobrazuje následující graf 1.

Graf 1 Náhled datového souboru – celkový fosfor



Z grafu 1 zobrazujícího náhled datového souboru na koncentrace celkového fosforu pro vzorky z různých lokalit, jenž jsou stanovené čtyřmi metodami, je patrné, že lze u jednotlivých metod očekávat rozdíly.

Tukeyův test

Pro účel podrobnějšího testování, jako rozdílnosti naměřených hodnot koncentrací celkového fosforu, zjištěných různými metodami či rozdílnosti naměřených hodnot koncentrací celkového fosforu v závislosti na konkrétní kombinaci lokalit, byl využit Tukeyův HSD test.

Tabulka 7 Celkový fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita

Lokalita	Metody vs. lokalita			
	H ₂ SO ₄ +DNF	H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	Na ₂ CO ₃	SMTP
	vs. lokalita p-hodnota	vs. lokalita p-hodnota	vs. lokalita p-hodnota	vs. lokalita p-hodnota
H - A-T	0,943	0,172	0,002	0,018
Le - A-T	0,993	0,505	0,144	0,994
Lu - A-T	1,000	0,331	0,102	0,308
Le - H	0,814	0,826	0,131	0,009
Lu - H	0,974	0,995	0,514	0,562
Lu - Le	0,988	0,957	0,973	0,336

Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací celkového fosforu v závislosti na konkrétní kombinaci lokalit (tabulka 7, graf 2) se metody stanovení koncentrace celkového fosforu ve výsledku shodují až na výjimky. Mezi tyto výjimky patří porovnání výsledků lokality Hartmanice s Aušperským-Troubským potokem, získaných metodou Na_2CO_3 a SMTP a též výsledků lokality Leskava s Hartmanicemi, získaných metodou SMTP. Rozdíly ve výsledcích mohou být vysvětleny diverzitou sedimentů ve smyslu jejich složení viz tabulka 8.

Tabulka 8 Obsah železa a vápníku v testovaných sedimentech

Lokalita	Složení vzorků sedimentů v zájmové lokalitě			
	Fe [mg/g]		Ca [mg/g]	
	Minimální hodnota	Maximální Hodnota	Minimální hodnota	Maximální hodnota
Hartmanice	25,1	31,1	9,0	11,2
Leskava	10,1	14,3	2,4	4,2
Aušperský-Troubský	23,6	24,4	2,3	17,8
Ludvíkov	29,0	32,8	10,4	11,5

Vzorky sedimentů z lokality Leskava vykazují nízký obsah vápníku i železa, vzorky z lokality Aušperský-Troubský vykazují nízký obsah vápníku a střední obsah železa, vzorky z lokality Hartmanice nízký obsah vápníku a střední obsah železa. Podobná data, která byla naměřena ve sledovaných sedimentech drobných vodních toků viz tabulka 8, uvádí i House a Denison (2002).

Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací celkového fosforu (tabulka 9, graf 3) se kromě porovnání metod Na_2CO_3 s H_2SO_4 +DNF a Na_2CO_3 s H_2SO_4 + H_2O_2 metody stanovení koncentrace celkového fosforu ve výsledku shodují.

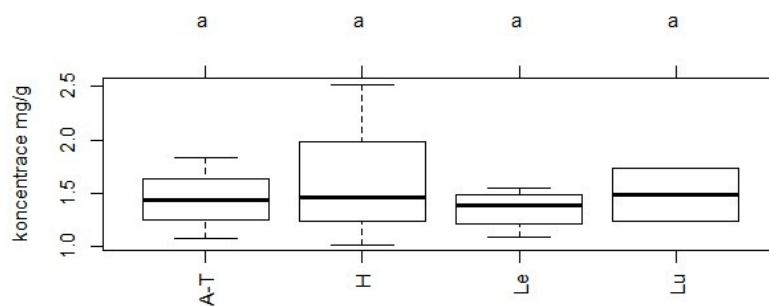
Tabulka 9 Celkový fosfor - Tukeyův test – metody stanovení koncentrace celkového fosforu

TP vs. metody	
Metody	p-hodnota
H_2SO_4 + H_2O_2 [mg/g] - H_2SO_4 +DNF [mg/g]	0,983
Na_2CO_3 [mg/g] - H_2SO_4 +DNF [mg/g]	0,035
SMTP [mg/g] - H_2SO_4 +DNF [mg/g]	0,913
Na_2CO_3 [mg/g] - H_2SO_4 + H_2O_2 [mg/g]	0,013
SMTP [mg/g] - H_2SO_4 + H_2O_2 [mg/g]	0,735
SMTP [mg/g] - Na_2CO_3 [mg/g]	0,157

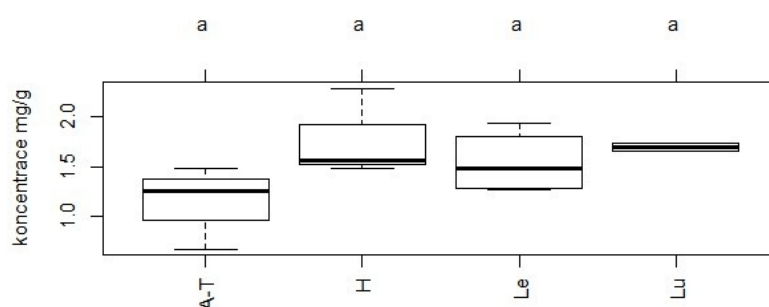
Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 2 a 3 (Graf 2 pro Tukeyův test porovnání metody vs. lokality, Graf 3 pro Tukeyův test porovnání metod mezi sebou).

Graf 2 Znázornění Tukeyova testu - celkový fosfor – metody vs. lokalita

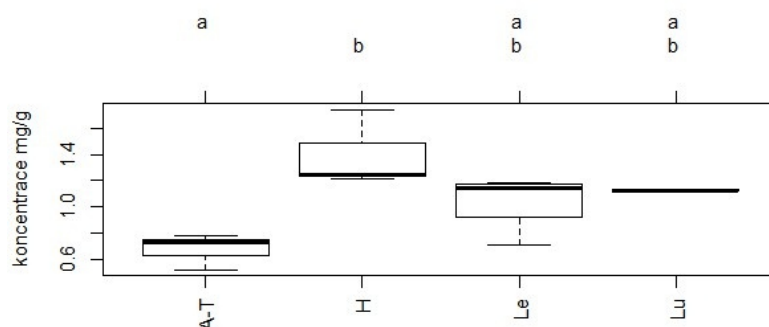
Tukey test lokalit ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$)



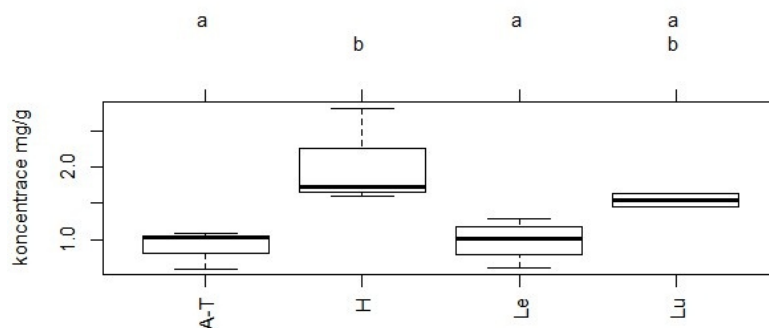
Tukey test lokalit ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$)



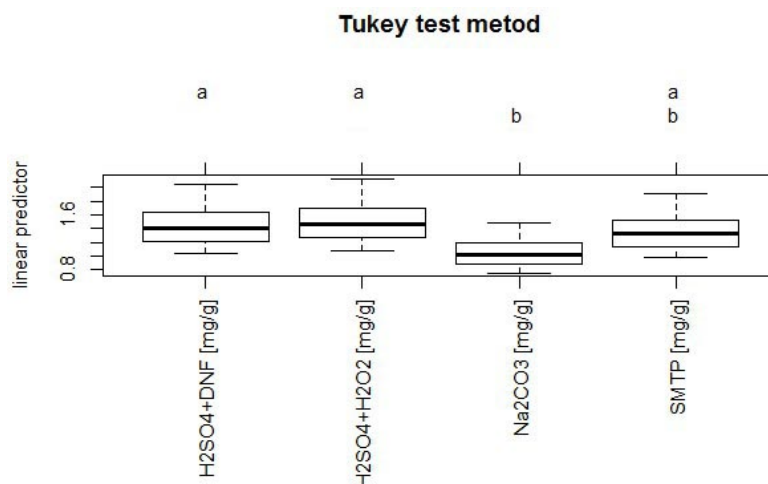
Tukey test lokalit (Na_2CO_3)



Tukey test lokalit (SMTP)



Graf 3 Znázornění Tukeyova testu – celkový fosfor – metody mezi sebou



Spearmanova korelace

Za účelem prokázání závislosti stanovených koncentrací celkového fosforu na použité metodě a kovu byl vypočten Spearmanův korelační koeficient ρ , k němuž je v tabulce 10 uvedena příslušná statistická významnost vyjádřená formou p-hodnoty.

Tabulka 10 Celkový fosfor – vzájemná závislost metod a závislost metod na kovech

		Spearmanova korelace				Ca	Fe
		Na ₂ CO ₃	H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	H ₂ SO ₄ +DNF	SMTP		
Na ₂ CO ₃	ρ	1	0,650	0,287	0,762	0,140	0,266
	p-hodnota	0	0,026	0,366	0,006	0,667	0,403
H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	ρ	0,650	1	0,490	0,720	-0,021	0,347
	p-hodnota	0,026	0	0,110	0,011	0,956	0,269
H ₂ SO ₄ +DNF	ρ	0,287	0,490	1	0,406	0,322	0,291
	p-hodnota	0,366	0,110	0	0,193	0,308	0,359
SMTP	ρ	0,762	0,720	0,406	1	0,385	0,760
	p-hodnota	0,006	0,011	0,193	0	0,218	0,004

Fytianos a Kotzakioti (2005) i Lin et al. (2009) zaznamenali, že je přítomnost železa indikátorem celkového fosforu. Uvádí se, že sorpční schopnosti sedimentů jsou lepší v přítomnosti organických látek, které tvoří komplexy s kovy (Fe, Al, Ca). V jejich přítomnosti se také váže fosfor (Borovec a Hejzlar, 2003; Pagliosa et al., 2005). Vztah mezi fosforem, železem, manganem a organickou hmotou popsal také Evans et al. (2004), podobně House a Denison (2002) našli vztah mezi obsahem celkového fosforu, organickou hmotou, obsahem vápníku a železa. Vazbu fosforu s vápníkem a železem uvádí také Gonsiorczyk et al. (1998), ale Liu et al., (2015) shledal pozitivní korelaci celkového fosforu pouze se železem ($r = 0,664$).

Závislosti koncentrací celkového fosforu, zjištěných metodou SMTP, na koncentracích kovů se prokázala u železa, korelace s vápníkem se nepotvrdila viz tabulka 10 a korelační grafy v příloze č. 2.

Očekávaná korelace koncentrace celkového fosforu s vápníkem dle House a Denison (2002) a Gonsiorczyk et al. (1998) se nepotvrdila, což lze vysvětlit nízkými hodnotami vápníku ve vzorcích. Průměrná hodnota koncentrace vápníku v sedimentech je 7,98 mg/g, průměrná hodnota koncentrace železa v sedimentech je 20,21 mg/g, průměrná koncentrace celkového fosforu je 1,344 mg/g. Podobné hodnoty koncentrací vápníku (1,5–7,6 mg/g) ve vzorcích sedimentů jezer uvádí Liu et al., (2015), který korelaci s vápníkem také nepotvrdil. Naopak pozitivní korelace koncentrace celkového fosforu se železem, jak prokázal také Liu et al. (2015), byla potvrzena u metody SMTP. House a Denison (2002) uvádí vyšší hodnoty, průměrnou hodnotu koncentrace železa 75 mg/g, vápníku 36 mg/g, průměrnou koncentraci celkového fosforu 1,9 mg/g. Katsaounos et al. (2007b) uvádí nižší hodnoty, koncentrace železa byly 1,3–10,8 mg/g, vápníku 2,2–4,7 mg/g, hodnoty koncentrací celkového fosforu 0,4–0,6 mg/g. Evans et al. (2004) uvádí hodnoty koncentrace železa 9,51–31,2 mg/g, vápníku 4,43–144 mg/g, hodnoty koncentrací celkového fosforu 114–200 mg/g.

Srovnáním analytických metod použitých ke stanovení koncentrace celkového fosforu v sedimentech drobných vodních toků nebyla zjištěna korelace metody $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$ s žádnou jinou metodou. Z tabulky 10 je naopak zřejmá silná pozitivní korelace mezi metodami:

- $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ a Na_2CO_3 ,
- SMTP a Na_2CO_3 ,
- SMTP a $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$.

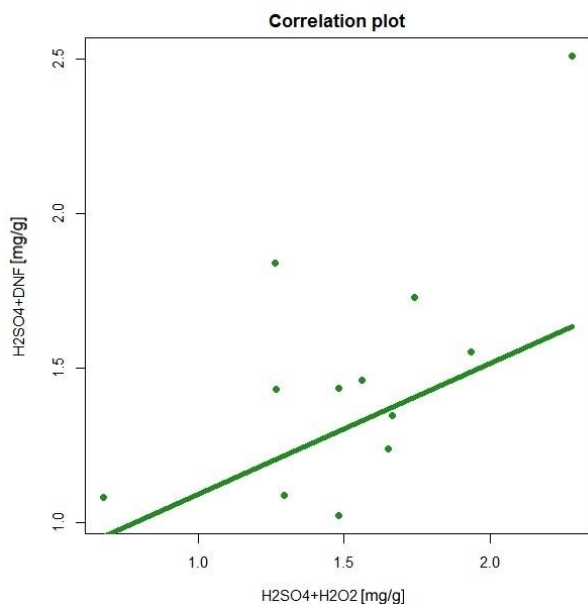
Korelace jednotlivých metod klesala se snižující se hodnotou korelačního koeficientu v pořadí: $\text{Na}_2\text{CO}_3 - \text{SMTP} > \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2 - \text{SMTP} > \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ a Na_2CO_3 . Tyto metody jsou tedy spolu zaměnitelné.

Theil-Senův odhad trendu

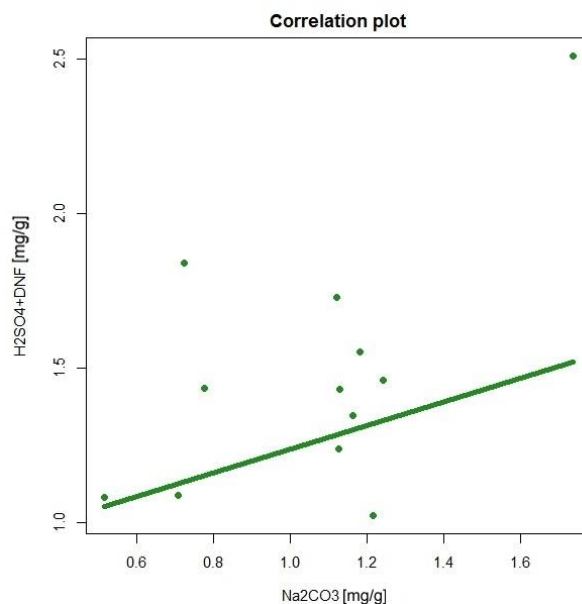
Následující korelační graf 4 znázorňuje lineární závislosti stanovených koncentrací celkového fosforu na použité metodě. Potvrzuje se korelace mezi těmito dvojicemi analytických metod:

- $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ a Na_2CO_3 ,
- SMTP a Na_2CO_3 ,
- SMTP a $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$.

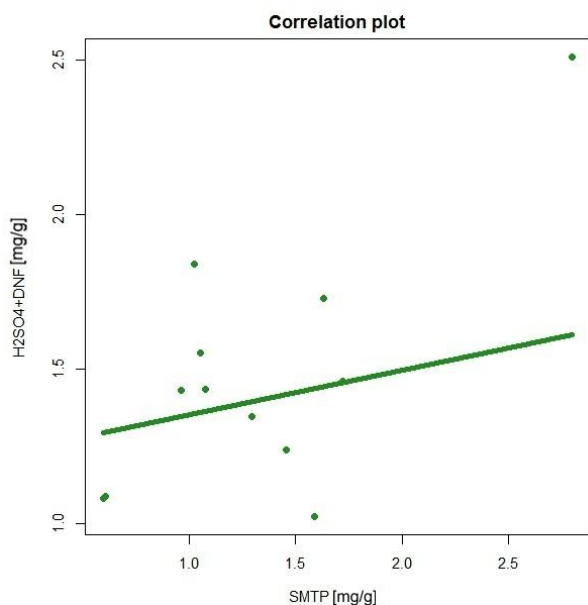
Graf 4 Korelační grafy, srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace celkového fosforu



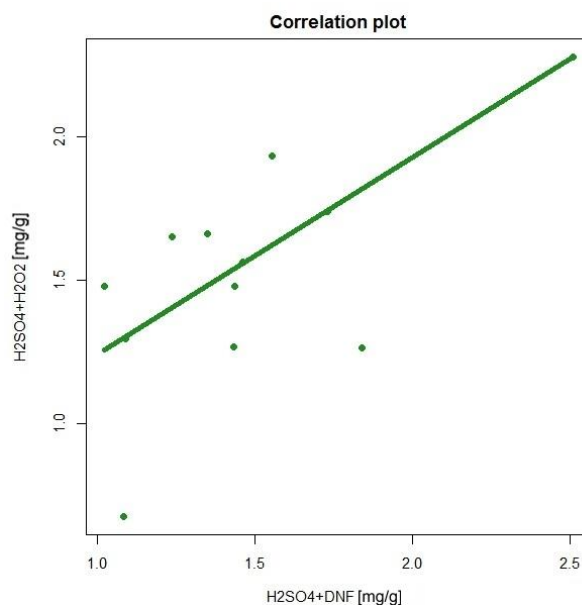
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+DNF, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou H₂SO₄+H₂O₂



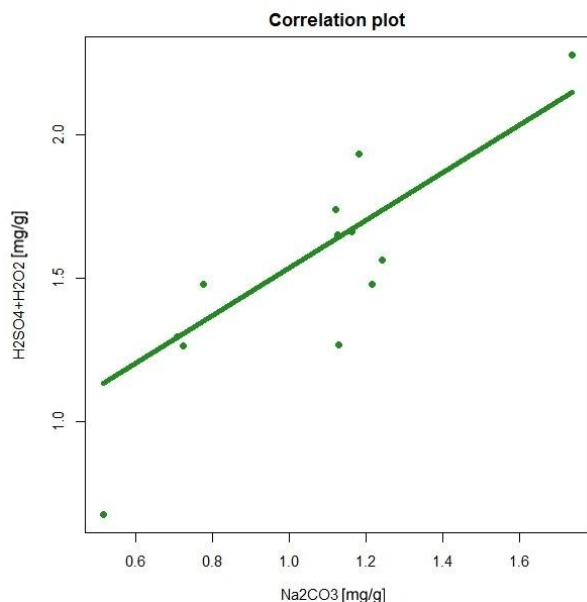
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+DNF, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou Na₂CO₃



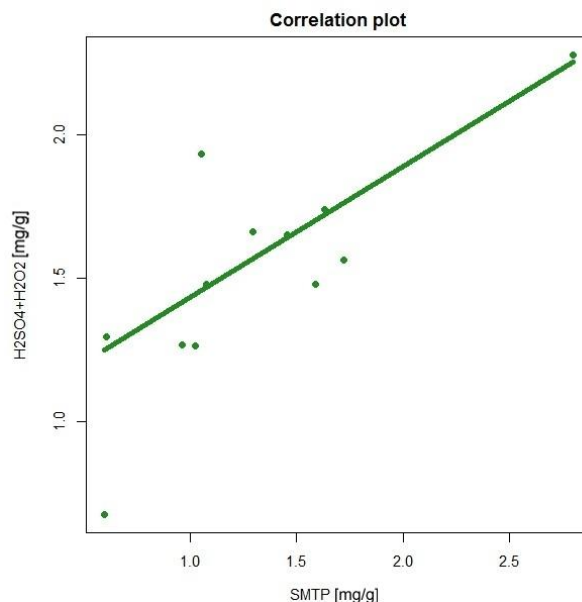
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+DNF, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou SMTP



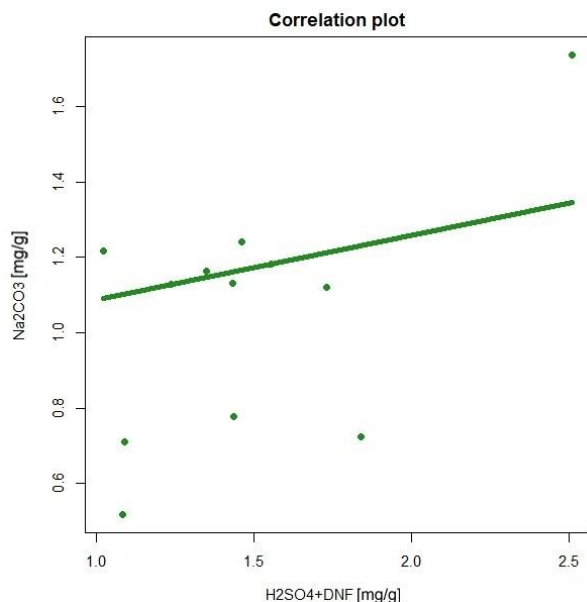
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+H₂O₂, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou H₂SO₄+DNF



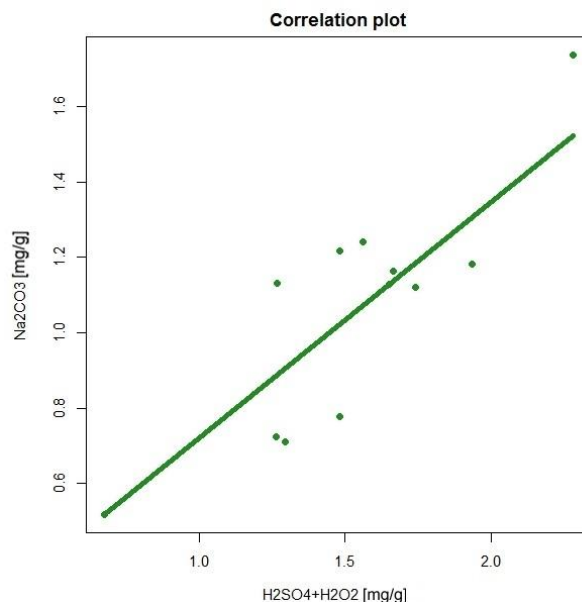
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou Na_2CO_3



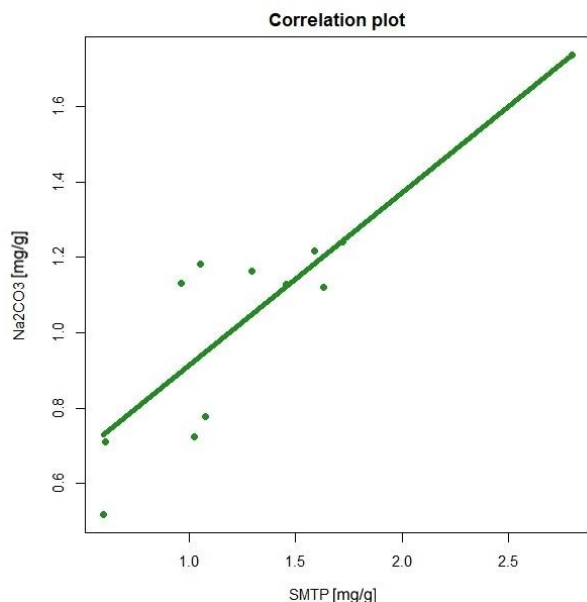
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou SMTP



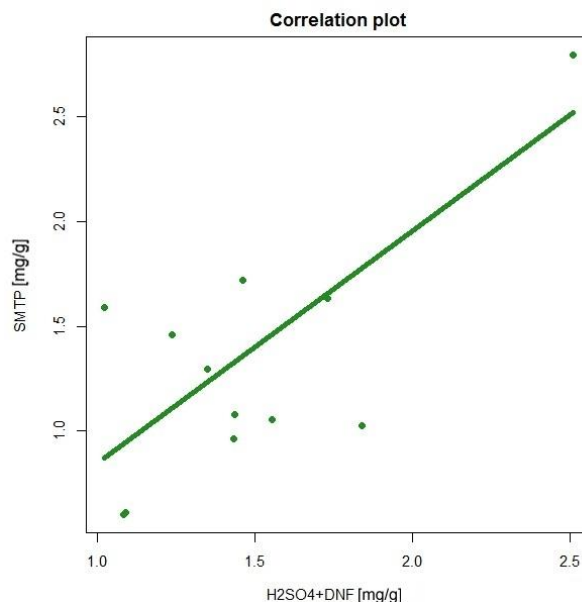
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou Na_2CO_3 , na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{DNF}$



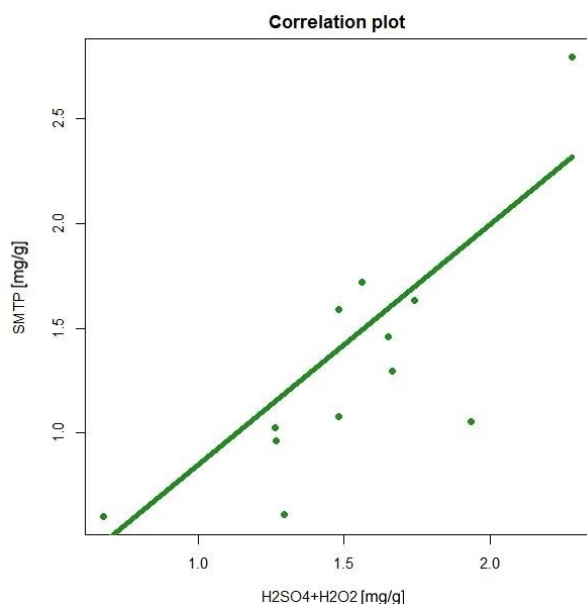
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou Na_2CO_3 , na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$



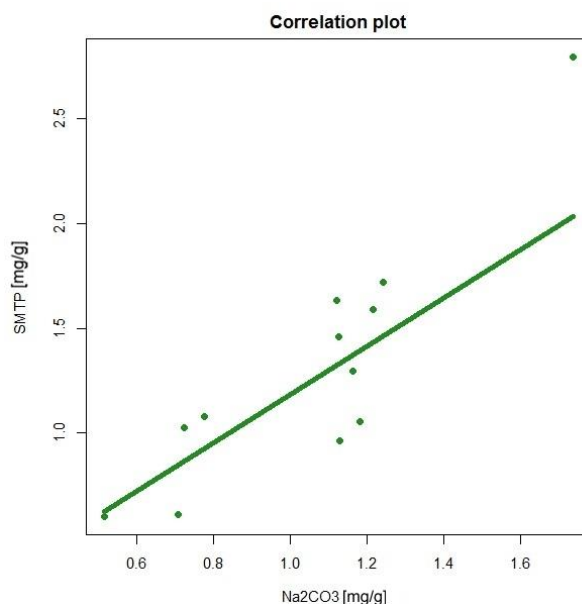
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou Na_2CO_3 , na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou SMTP



Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou SMTP, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{DNF}$



Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou SMTP, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$



Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou SMTP, na koncentraci celkového fosforu, stanovené metodou Na_2CO_3

Celkový fosfor v referenčním vzorku BCR-684

Dále bylo v této práci provedeno porovnání metod stanovení koncentrace celkového fosforu, využitím referenčního vzorku.

Porovnání koncentrací celkového fosforu, stanoveného metodami $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{H}_2\text{SO}_4+\text{DNF}$, SMTP a Na_2CO_3 s referenční hodnotou zobrazuje tabulka 11. Nutno však uvést, že referenční hodnota je sice v certifikačním protokolu také stanovena metodou SMTP, ale není v protokolu udávána jako hodnota pro celkový fosfor, nýbrž jako „fosfor extrahovatelný koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou“. Dle stejného postupu SMTP v příspěvcích Pardo et al. (2004) a Ruban et al. (2001b), se jedná o stanovení

koncentrace celkového fosforu. Na základě těchto příspěvků, jejichž autoři na vývoji metody SMTP pracovali, byla referenční hodnota, udávaná jako fosfor extrahovatelný koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, přijata jako hodnota pro fosfor celkový.

V porovnání s referenční hodnotou byly výsledky zjištěné metodou SMTP o 6,8 % vyšší. Výsledky, které se nejvíce přibližují referenční hodnotě, byly získány metodou $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ (rozdíl 2,3 %), následovaly metody Na_2CO_3 (rozdíl 3,2 %), $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$ (rozdíl 4,1 %).

Tabulka 11 Porovnání koncentrací celkového fosforu v referenčním materiálu stanovených vybranými metodami s referenční hodnotou

Metoda stanovení koncentrace celkového fosforu v referenčním vzorku	Průměrná hodnota koncentrace TP [mg/g]	Rozdíl [%]
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	1,342	-2,3
Na_2CO_3	1,329	-3,2
SMTP	1,467	+6,8
Referenční hodnota – fosfor extrahovatelný koncentrovanou HCl	1,373	0

Na základě průměrných koncentrací celkového fosforu (tabulka 11) klesala efektivita výtěžnosti v pořadí těchto metod: $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2 > \text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{SMTP}$. Na základě výsledků, uvedených v tabulce 10, bylo prokázáno, že metoda $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{DNF}$ není s dalšími hodnocenými metodami zaměnitelná. Proto byla z porovnávání stanovených koncentrací celkového fosforu s referenční hodnotou v tabulce 11 vyřazena. Syers et al. (1967) dospěl k podobnému výsledku, kde jako nejefektivnější metodu stanovení koncentrace celkového fosforu ve vzorku půdy shledal metodu tavení s Na_2CO_3 . Dále také stanovil efektivitu metod v tomto pořadí: $\text{Na}_2\text{CO}_3 > \text{mineralizace HF} > \text{mineralizace HClO}_4 > \text{extrakce H}_2\text{SO}_4$ následovaná žíháním. Ostrofsky (2012) srovnával efektivitu čtyř metod mineralizací vzorků sedimentů pocházejících z jezer. Jednalo se o metodu spalování/žíhání (podobná, ne však identická s metodou SMPT), metodu s peroxodisíranem draselným, metodu mineralizace kyselinou chloristou a dusičnou a metodu mineralizace kyselinou sírovou a peroxidem vodíku. Ostrofsky (2012) neshledal ve výsledcích koncentrací celkového fosforu, stanovenými různými metodami, signifikantní rozdíly.

5.2 Frakcionace

Ke stanovení koncentrací jednotlivých forem fosforu byly využity analytické metody označené jako 1. SMT, 2. EDTA, 3. BD, 4. BD, popsané blíže v kapitole 4. Každá forma byla tedy vyhodnocována samostatně a to pro 1–3 analytické metody. Všechny frakcionační analýzy byly provedeny třikrát, získané hodnoty koncentrací byly zpracovány v aritmetický průměr. Analytické metody byly hodnoceny statistickými analýzami, kde u vybraných byly využity informace o koncentraci železa a vápníku ve vzorcích. Testovaný datový soubor hodnotil celkem 48 vzorků pro 7 forem fosforu označených LP (labilní fosfor), P-Fe (fosfor vázaný na železo), P-kovy (fosfor vázaný na oxidy kovů), AP (apatitový fosfor), IP (anorganický fosfor), OP (organický fosfor) a NAP (neapatitový fosfor). Testované vzorky pochází ze čtyř lokalit:

- Aušperský a Troubský potok (3 vzorky, značeny A-T),
- Leskava (4 vzorky, značeny Le),
- Bysterský a Zlatý potok (3 vzorky, značeny H),
- Ludvíkov (2 vzorky, značeny Lu).

Vzorkování probíhalo ve čtyřech různých obdobích (podzim 2011, jaro 2012, léto 2012 a podzim 2012) a tato informace byla do některých statistických analýz zahrnuta.

Popisné statistiky jsou členěny podle jednotlivých metod a přidaných obsahů Ca a Fe a jsou shrnuty v následující tabulce 12.

Tabulka 12 Základní popisné statistiky koncentrací jednotlivých forem fosforu stanovených různými analytickými metodami a koncentrací kovů

Parametr	IP	OP	LP			AP			NAP	P-Fe			P-oxidy kovů		Ca	Fe
	1.	1.	2.	3.	4.	1.	3.	4.	1.	2.	3.	4.	3.	4.		
	SMT	SMT	EDTA	BD	BD	SMT	BD	BD	SMT	EDTA	BD	BD	BD	BD		
	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
Průměrná hodnota	0,755	0,387	0,024	0,078	0,106	0,204	0,258	0,417	0,620	0,151	0,297	0,310	0,175	0,503	13,165	21,204
Směrodatná odchylka	0,356	0,199	0,017	0,048	0,080	0,210	0,105	0,278	0,301	0,168	0,160	0,649	0,139	0,362	9,327	6,359
Minimální hodnota	0,161	0,125	0,002	0,015	0,008	0,005	0,060	0,025	0,061	0,009	0,042	0,003	0,030	0,042	2,250	10,100
25. percentil	0,507	0,263	0,010	0,041	0,056	0,054	0,177	0,226	0,425	0,030	0,167	0,043	0,053	0,232	6,075	15,950
Medián	0,655	0,325	0,022	0,062	0,085	0,104	0,238	0,330	0,595	0,061	0,301	0,079	0,144	0,415	10,800	21,650
75. percentil	0,949	0,487	0,032	0,114	0,144	0,311	0,364	0,456	0,786	0,316	0,375	0,186	0,252	0,698	19,475	25,325
Maximální hodnota	1,509	0,948	0,070	0,198	0,373	0,809	0,460	1,025	1,401	0,579	0,786	3,302	0,668	1,432	41,700	33,200

Z tabulky 12 je zřejmé, že nejvyšší průměrná koncentrace fosforu ve vzorcích se nachází v anorganické formě. Následuje fosfor neapatitový a fosfor vázaný na oxidy kovů, stanovený metodou 4. BD. Nejnížší průměrné koncentrace fosforu se nachází v labilní formě, vzestupně dle metod stanovení 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

Nejvyšší hodnota mediánu koncentrací se nachází v anorganické formě. Následuje medián neapatitového fosforu a fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovený metodou 4. BD. Nejnížší hodnoty mediánu koncentrací se nachází vzestupně v labilní formě, stanovené metodou 2. EDTA, neapatitovém fosforu a v labilní formě, stanovené metodou 3. BD.

Nejvyšší minimální hodnoty koncentrací lze nalézt v anorganické, organické formě a v neapatitovém fosforu. Nejnížší minimální hodnota koncentrací se vyskytuje v labilním fosforu, stanoveném metodou 2. EDTA, fosforu vázaného na železo, stanoveného metodou 4. BD a v apatitovém fosforu, stanoveném metodou 1. SMT.

Nejvyšší maximální hodnoty koncentrací lze nalézt v anorganické formě, dále ve fosforu vázaném na oxidy kovů, stanoveném metodou 4. BD a v neapatitovém fosforu.

Nejnížší maximální hodnota koncentrace se vyskytuje v labilním fosforu, a to vzestupně dle metod stanovení 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

V tabulce základních popisných statistik (tabulka 12) se nachází také koncentrace vápníku a fosforu v analyzovaných sedimentech. Ve vzorcích se nachází více železa, než vápníku, avšak maximální hodnota koncentrace se vyskytla u vápníku.

V sedimentech jezer Volvi a Koronia byl největší podíl frakce fosforu vázaného k vápníku (HCl-P), následoval fosfor vázaný k oxidům kovů (NaOH-P), fosfor vázaný k železu (BD-P labilní fosfor (NH₄Cl-P) (Kaiserli, 2002). K podobným výsledkům došel Wang (2012) v sedimentech Žluté řeky. Výsledky této práce, jak je patrné z tabulky 12, se s příspěvky Kaiserli et al. (2002) a Wang (2012) shodují v množství labilní formy fosforu. Wang (2012) zaznamenal, že obsah anorganického fosforu (skládajícího se z frakcí fosforu vázaného na oxidy kovů, fosforu vázaného k železu, labilního fosforu a fosforu vázaného k vápníku) ve 12 vzorcích říčních sedimentů byl majoritní, což se shoduje s výsledky této práce viz tabulka 12. Také Spivakov et al. (2009) uvádí, že obsah anorganického fosforu v sedimentech a vodě je značně vyšší než obsah organického fosforu, což je v souladu s výsledky této práce. Spivakov et al. (2009) dále uvádí, že anorganická frakce se skládá zejména z neapatitového fosforu (v sedimentech oblastí s vysokým podílem vápníku může být dominantní apatitový fosfor), což se také shoduje s výsledky této práce. V sedimentech analyzovaných v této práci byl však vysoký také podíl apatitového fosforu i fosforu vázaného na oxidy kovů.

Pro volbu použití parametrického, či neparametrického testu ke statistickému hodnocení dat uvedených v následujících podkapitolách byl využit Shapiro-Wilkův test (S-W test). Výsledky testu jsou ve formě p-hodnot v následující tabulce 13.

Tabulka 13 Výsledky Shapiro-Wilkova testu (p-hodnoty) pro koncentrace jednotlivých forem fosforu a použité analytické metody

Forma fosforu	Metoda stanovení	1. SMT	2. EDTA	3. BD	4. BD	Ca	Fe
IP	1. SMT	0	-	-	-	0,140	0,084
OP	1. SMT	0	-	-	-	0,025	0,028
	2. EDTA	-	0	0,001	0,016	0,003	0,001
LP	3. BD	-	0,056	0	0,001	0,013	0,001
	4. BD	-	0,000	0,000	0	0,007	0,000
AP	1. SMT	0	-	0,000	0,000	0,000	0,006
	3. BD	0,037	-	0	0,047	0,152	0,052
	4. BD	0,003	-	0,000	0	0,000	0,002
NAP	1. SMT	0	-	-	-	0,384	0,715
	2. EDTA	-	0	0,000	0,000	0,000	0,000
P-Fe	3. BD	-	0,007	0	0,049	0,068	0,033
	4. BD	-	0,000	0,000	0	0,000	0,000
P-kovy	3. BD	-	-	0	0,218	0,047	0,058
	4. BD	-	-	0,011	0	0,061	0,027

Z tabulky 13 je patrné, že většina hodnot (červeně) nemá normální rozložení a potvrzuje, že je vhodné neparametrickou metodu zvolit. Modré hodnoty zobrazují metody a formy fosforu, pro které by byla vhodná parametrická metoda. Černé nulové hodnoty patří shodě metod stanovení, pomlčky se vyskytují v polích, kde se daná forma fosforu nestanovuje příslušnou metodou. Provedený Shapiro-Wilkův test tedy rozhodl o zpracování naměřené sady dat 48 vzorků pomocí neparametrické statistické metody.

V následujících podkapitolách, rozdělených dle jednotlivých frakcí, jsou dále výsledky statistického hodnocení uvedeny vždy v tomto pořadí:

- Náhled na datový soubor pomocí krabicových grafů,
- Kruskal-Wallisův test (K-W test),
- Tukeyův test,
- Spearmanova korelace
- Theil-Senův odhad trendu.

Náhledem na datový soubor pro příslušnou formu fosforu byly vygenerovány krabicové grafy ve členění podle lokality (4 varianty), případně i období (4 varianty), celkem o 16 krabicích. Každý z krabicových grafů v následujících podkapitolách vždy odpovídá jedné formě fosforu a jedné analytické metodě.

Kruskal-Wallisův test stanovil rozdílnosti naměřených hodnot koncentrací jednotlivých forem fosforu v závislosti na období a lokalitě. Touto statistickou metodou bylo testováno 126 kombinací (lokalita $\times$ období) naměřených hodnot koncentrací jednotlivých forem fosforu. Výsledná statistická významnost reprezentovaná p-hodnotou Kruskal-Wallisova testu pro jednotlivé metody jsou uvedeny příslušných podkapitolách 5.2. Statistická

významnost určuje fakt, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a metody se statisticky významně liší od jiné.

Metoda Tukeyova HSD testu byla v této práci využita za účelem podrobnějšího porovnání rozdílnosti hodnot koncentrací jednotlivých forem fosforu, stanovených jednotlivými analytickými metodami, na konkrétní kombinaci lokalit či období odběru vzorků.

Spearmanova korelace byla v této práci využita za účelem prokázání závislosti stanovených koncentrací jednotlivých forem fosforu na jednotlivých analytických metodách stanovení koncentrace jednotlivých forem fosforu. Dále byla využita k prokázání závislosti koncentrací jednotlivých forem fosforu, stanovených jednotlivými analytickými metodami, na koncentracích kovů. Číselným vyjádřením vzájemných vztahů je Spearmanův korelační koeficient (ρ) a odpovídající statistická významnost, reprezentována p-hodnotou. Obě tyto charakteristiky jsou shrnuty v tabulce příslušné podkapitoly.

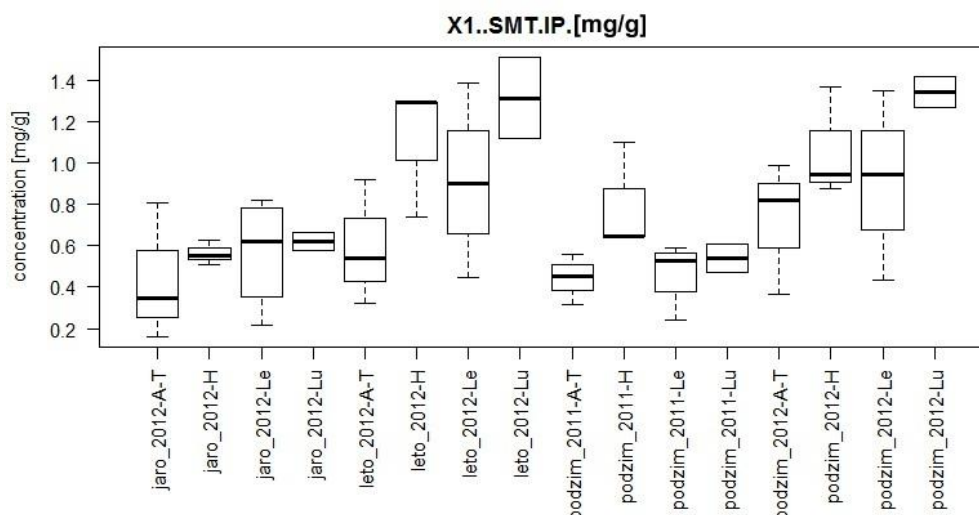
Theil-Senův odhad trendu (neparametrická lineární regrese) byl využit pro znázornění relace mezi dvojicemi analytických metod resp. analytických metod a referenčních kovů formou bodových korelačních grafů. Koncentrace jednotlivých forem fosforu, zjištěné první analytickou metodou, jsou vždy vyneseny na osu x, koncentrace zjištěné druhou analytickou metodou na osu y. Při porovnání analytické metody a referenčního kovu se koncentrace jednotlivé formy fosforu, zjištěná touto analytickou metodou, vynesla na osu x, koncentrace referenčního kovu na osu y. Korelační grafy pro hodnocení vztahu mezi analytickými metodami jsou uvedeny v příslušné podkapitole 5.2 a korelační grafy znázorňující relace mezi analytickými metodami a referenčními kovy jsou uvedeny v kapitole 0.

5.2.1 Anorganický fosfor

Tato frakce fosforu byla hodnocena jen metodou 1. SMT, z tohoto důvodu zde není uplatněno porovnání více metod stanovení koncentrace anorganického fosforu.

Náhled datového souboru pro koncentraci anorganického fosforu, zjištěnou metodou 1. SMT, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazuje následující krabicový graf 5.

Graf 5 Náhled datového souboru – anorganický fosfor - 1. SMT



Z grafu 5 je patrné, že lze očekávat rozdíly jak v různých obdobích, tak v různých lokalitách.

Kruskal-Wallisův test – anorganický fosfor

K-W testem dosažená p-hodnota 0,040 pro metodu 1. SMT je menší než 0,05. Tato hodnota tedy znázorňuje výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období se statisticky významně liší od jiné.

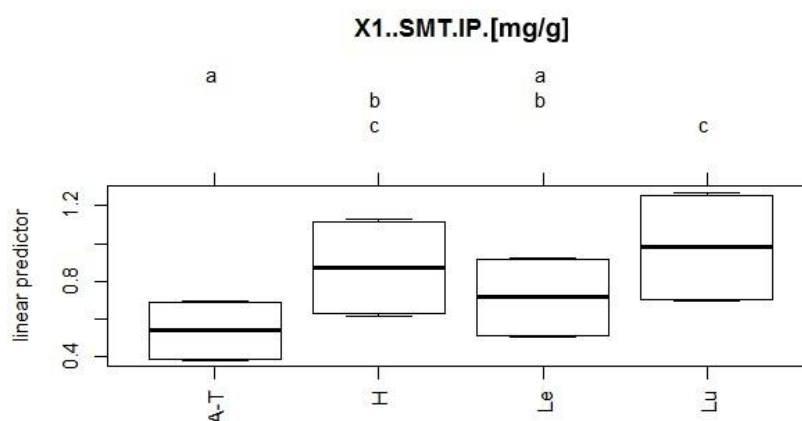
Tukeyův test – anorganický fosfor

U jednotlivých kombinací lokalit ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v levé části tabulky 14 na existující rozdílnost hodnot koncentrací anorganického fosforu stanoveného metodou 1. SMT. U jednotlivých kombinací období odběrů vzorků obdobně ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v pravé části tabulky 14 na existující rozdílnost hodnot koncentrací anorganického fosforu stanoveného metodou 1. SMT. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 6 a 7.

Tabulka 14 Anorganický fosfor - Tukeyův test – lokalita a období

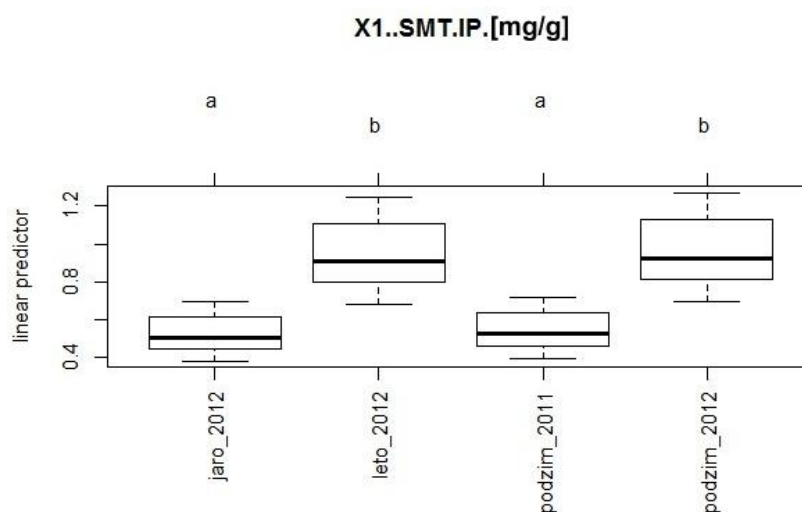
1. SMT vs. lokalita a období			
Lokalita	p-hodnota	Období	p-hodnota
H - A-T	0,009	leto_2012 - jaro_2012	0,001
Le - A-T	0,266	podzim_2011 - jaro_2012	0,997
Lu - A-T	0,001	podzim_2012 - jaro_2012	0,001
Le - H	0,329	podzim_2011 - leto_2012	0,002
Lu - H	0,758	podzim_2012 - leto_2012	0,998
Lu - Le	0,049	podzim_2012 - podzim_2011	0,001

Graf 6 Znázornění Tukeyova testu - anorganický fosfor - 1. SMT - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací anorganického fosforu metodou 1. SMT se prokázal rozdíl lokality Aušperský-Troubský od lokalit Hartmanice a Ludvíkov; dále rozdíl lokality Ludvíkov od lokality Leskava.

Graf 7 Znázornění Tukeyova testu - anorganický fosfor - metoda 1. SMT - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací anorganického fosforu metodou 1. SMT se prokázal rozdíl při porovnání období jaro 2012 s obdobím léto 2012 a podzim 2012. Dále se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2011 s obdobím léto 2012 a podzim 2012.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 15) prokázal závislost koncentrací anorganického fosforu, stanovených metodou 1. SMT, pouze na stanovených koncentracích železa. Z korelačního grafu (příloha č. 3) v kapitole 11 je tato lineární závislost patrná.

Tabulka 15 Anorganický fosfor – závislost metoda vs. kov

1. SMT vs. kov		Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	ρ	-0,087	0,379
	p-hodnota	0,573	0,008

Rozložení fosforu na vazebná místa železa a vápníku závisí nejen na pH, ale i na množství Fe(OOH) v sedimentech (Ashraf a Pillai, 2003), a proto se mohla projevit závislost pouze u železa, i když se očekává i závislost na vápníku.

Nejčastější anorganickou formou fosforu v půdě jsou apatity, fosforečnany železa a hliníku (Reynolds a Davies, 2001), které se vyskytují i ve vodách. Sedimentární anorganický fosfor v práci Wanga (2012), který sledoval sedimenty Žluté řeky, tvořil zásadní podíl fosforu a skládal se z:

- frakcí fosforu vázaného na oxidy kovů (NaOH-P),
- fosforu vázaného k železu (BD-P),
- labilního fosforu (NH₄Cl-P),
- fosforu vázaného k vápníku (HCl-P).

Také výsledky frakcionace v práci Syers et al. (1967) zobrazují, že většina fosforu vázaného k vápníku je extrahovatelná pomocí HCl. Lze tedy předpokládat závislost koncentrace anorganického fosforu na vápníku i železe. Dle Changa a Jackson (1957) je kyselina chlorovodíková (použitá v metodě 1. SMT jako extraktant extrahující anorganický fosfor a v dalším kroku také organický fosfor spolu s anorganickým fosforem) extraktantem extrahujícím CaCO₃-P, proto je také v této práci očekávána závislost koncentrace organického fosforu na vápníku.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Koncentrace anorganického fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze mezi sebou porovnávat různé metody stanovení koncentrace anorganického fosforu.

Theil-Senův odhad trendu

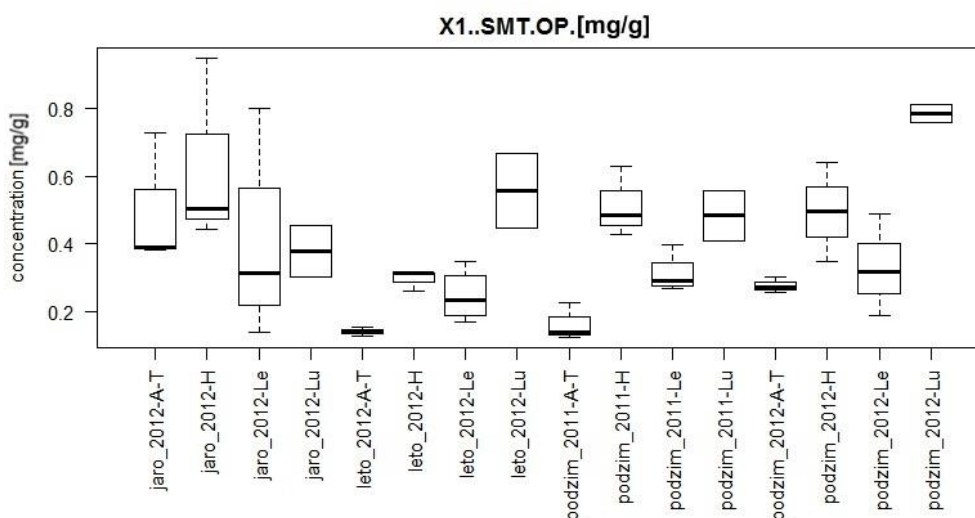
Koncentrace anorganického fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze znázornit relace mezi dvojicí analytických metod.

5.2.2 Organický fosfor

Koncentrace organického fosforu byla hodnocena jen analytickou metodou 1. SMT, z tohoto důvodu zde není uplatněno porovnání více analytických metod stanovení.

Náhled datového souboru pro koncentraci organického fosforu zjištěnou metodou 1. SMT, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazuje následující krabicový graf 8.

Graf 8 Náhled datového souboru – organický fosfor - 1. SMT



Z grafu č.8 je patrné, že lze očekávat rozdíly jak v různých obdobích, tak v různých lokalitách.

Kruskal-Wallisův test – organický fosfor

K-W testem dosažená p-hodnota 0,0035 pro metodu 1. SMT je menší než 0,05. Tato hodnota tedy znázorňuje výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období se statisticky významně liší od jiné.

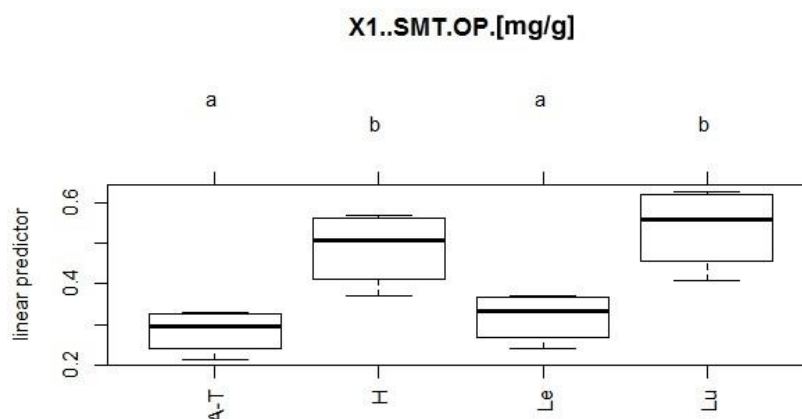
Tukeyův test – organický fosfor

Hodnoty koeficientu p menší než 0,05 (červeně) v levé části tabulky 16 ukazují na existující rozdílnost hodnot koncentrací organického fosforu jednotlivých kombinací lokalit. Hodnoty koeficientu p v pravé části tabulky jsou větší než 0,05 a neprokazují rozdílnost hodnot koncentrací organického fosforu jednotlivých kombinací období odběrů vzorků. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 9 a 10.

Tabulka 16 Organický fosfor - Tukeyův test – lokalita a období

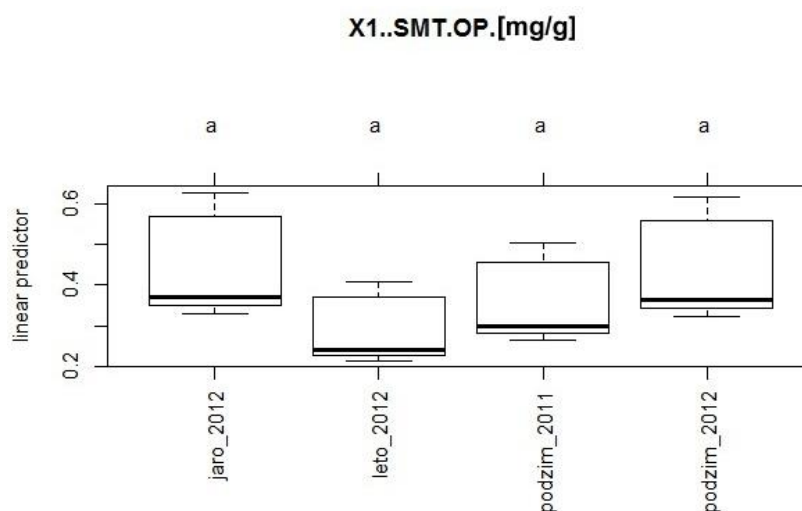
1. SMT vs. lokalita a období			
Lokalita	p-hodnota	Období	p-hodnota
H - A-T	0,020	leto_2012 - jaro_2012	0,090
Le - A-T	0,938	podzim_2011 - jaro_2012	0,515
Lu - A-T	0,005	podzim_2012 - jaro_2012	0,999
Le - H	0,035	podzim_2011 - leto_2012	0,717
Lu - H	0,899	podzim_2012 - leto_2012	0,114
Lu - Le	0,008	podzim_2012 - podzim_2011	0,585

Graf 9 Znázornění Tukeyova testu - organický fosfor - 1. SMT - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací organického fosforu metodou 1. SMT se prokázal rozdíl lokality Aušperský-Troubský od lokalit Hartmanice a Ludvíkov; dále se prokázal rozdíl lokality Leskava od lokalit Hartmanice a Ludvíkov.

Graf 10 Znázornění Tukeyova testu - organický fosfor - 1. SMT - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací organického fosforu metodou 1. SMT se neprokázal rozdíl při porovnání jednotlivých období.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 17) prokázal závislost koncentrací organického fosforu, stanovených metodou 1. SMT, pouze na stanovených koncentracích železa. Z korelačního (příloha č. 4) v kapitole 11 je tato lineární závislost patrná.

Tabulka 17 Organický fosfor – závislost metoda vs. kov

1. SMT vs. kov		Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	ρ	-0,218	0,431
	p-hodnota	0,155	0,002

Původ organického fosforu je méně probádaný, avšak spojuje se s nukleovými kyselinami, kyselinou fytoovou a huminovými látkami. V organické frakci sedimentů byla v příspěvku Goltermána (2004) zjištěna přítomnost fosforu vázaného k huminovým látkám a inositol fosfatázy, které jsou adsorbovány na FeOOH. Dle Changa a Jackson (1957) je kyselina chlorovodíková extraktantem extrahujícím $\text{CaCO}_3\sim\text{P}$, proto zde není očekávána, ani potvrzena závislost koncentrace organického fosforu na vápníku. Hupfer et al. (1995) upozornil, že v průběhu diagenese sedimentu se ze sedimentu uvolňuje většina organicky vázaného fosforu a fosforu vázaného k železu. Vzhledem k prokázané závislosti koncentrace organického fosforu, stanovené metodou 1. SMT, na koncentraci železa je možné předpokládat, že by se mohl organický fosfor v příhodných podmínkách ze sedimentů uvolňovat. Také Zaaboub et al. (2014) zaznamenal, že uvolňování fosforu ze sedimentů v anoxických podmínkách způsobuje přítomnost pyritu.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Koncentrace organického fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze mezi sebou porovnávat různé metody stanovení koncentrace organického fosforu.

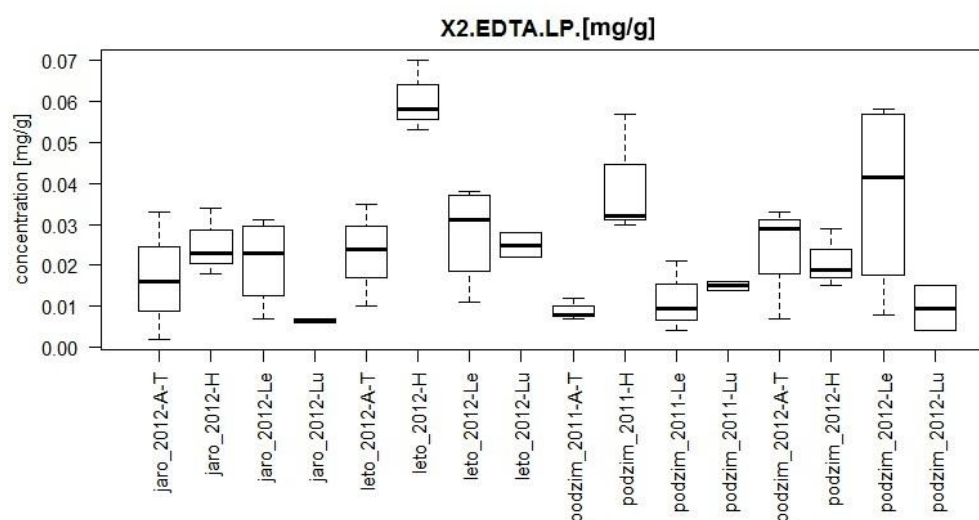
Theil-Senův odhad trendu

Koncentrace organického fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze znázornit relace mezi dvojicí analytických metod.

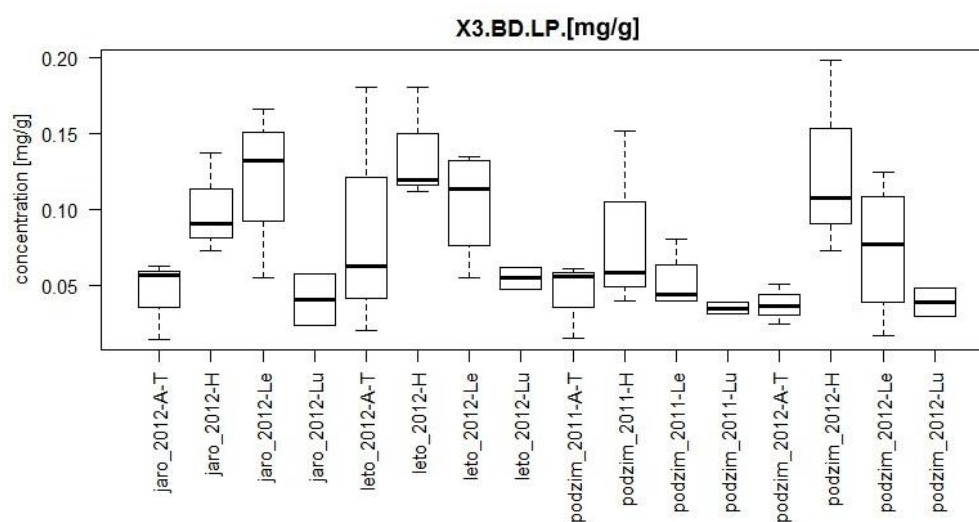
5.2.3 Labilní fosfor

Náhled datového souboru na koncentrace labilního fosforu, zjištěné metodou 2. EDTA, 3. BD i 4. BD, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazují následující krabicové grafy 11, 12 a 13.

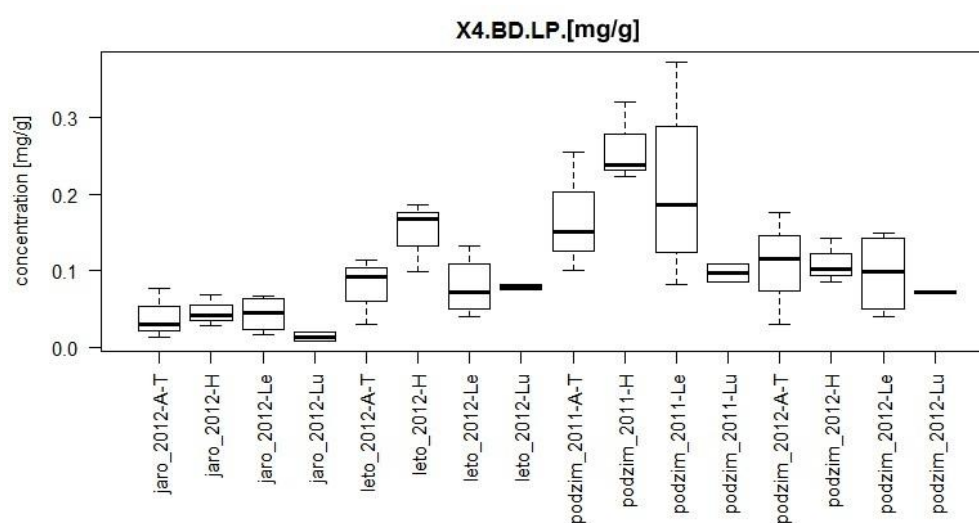
Graf 11 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 2. EDTA



Graf 12 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 3. BD



Graf 13 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 4. BD



Z grafů 11–13 je patrné, že lze očekávat rozdíly jak v různých obdobích, tak v různých lokalitách. V podzimních vzorcích 2011 jsou pro metodu 3. BD koncentrace labilního fosforu oproti ostatním srovnávaným obdobím nižší, pro metodu 4. BD koncentrace labilního fosforu oproti ostatním srovnávaným obdobím vyšší.

Kruskal-Wallisův test – labilní fosfor

K-W testem dosažené p-hodnoty 0,0449 pro metodu 2. EDTA a 0,0062 pro metodu 4. BD jsou menší než 0,05. Tyto hodnoty tedy znázorňují výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období pro jednotlivé testované metody se statisticky významně liší od jiné. Dosažená p-hodnota 0,0634 pro metodu 3. BD je větší než 0,05. Tato hodnota tedy znázorňuje výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období se statisticky významně neliší od jiné.

Tukeyův test – labilní fosfor

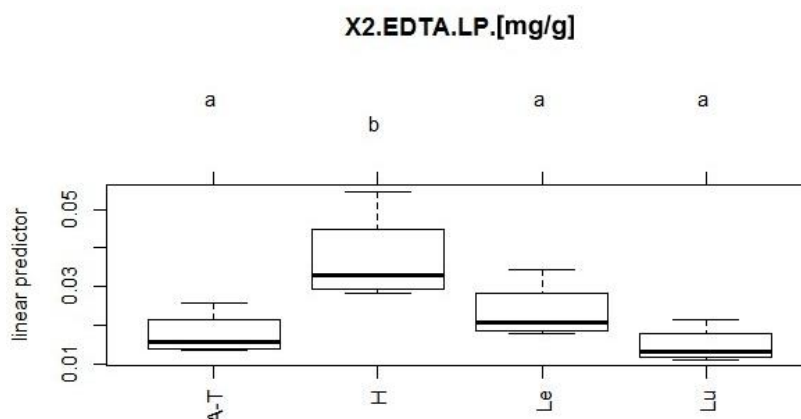
U jednotlivých kombinací lokalit ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 18, na existující rozdílnost hodnot koncentrací labilního fosforu, stanoveného metodami 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 18 Labilní fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita

Lokalita	Metody vs. lokalita		
	2. EDTA vs. lokalita p-hodnota	3. BD vs. lokalita p-hodnota	4. BD vs. lokalita p-hodnota
H - A-T	0,008	0,009	0,077
Le - A-T	0,664	0,140	0,907
Lu - A-T	0,960	0,909	0,431
Le - H	0,036	0,437	0,186
Lu - H	0,024	0,022	0,013
Lu - Le	0,505	0,122	0,191

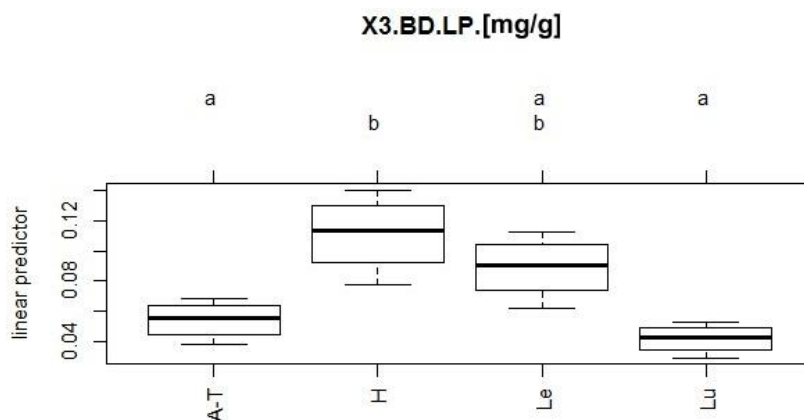
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu se kromě porovnání lokalit Hartmanice s Aušperským-Troubským potokem a Leskavou s Hartmanicemi metody stanovení koncentrace labilního fosforu ve výsledku shodují. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 14, 15 a 16.

Graf 14 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 2. EDTA - lokalita



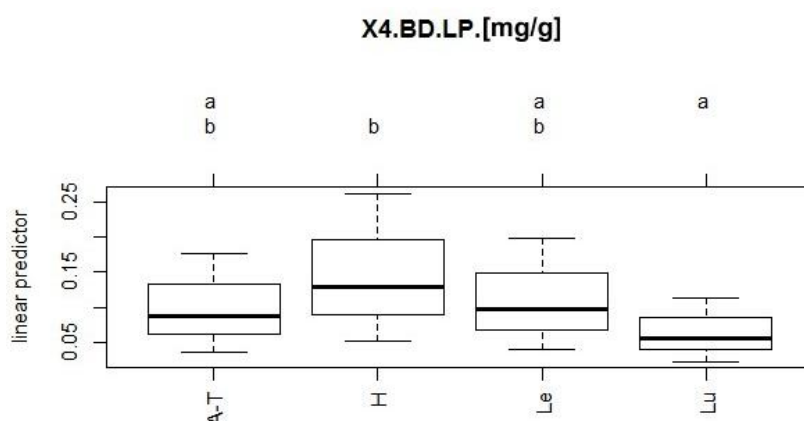
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 2. EDTA se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od všech ostatních lokalit.

Graf 15 Znáznornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 3. BD - lokalita



Při hodnocení rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 3. BD se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokalit Aušperský-Troubský potok a Ludvíkov.

Graf 16 Znáznornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 4. BD - lokalita



Při hodnocení rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 4. BD se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokality Ludvíkov.

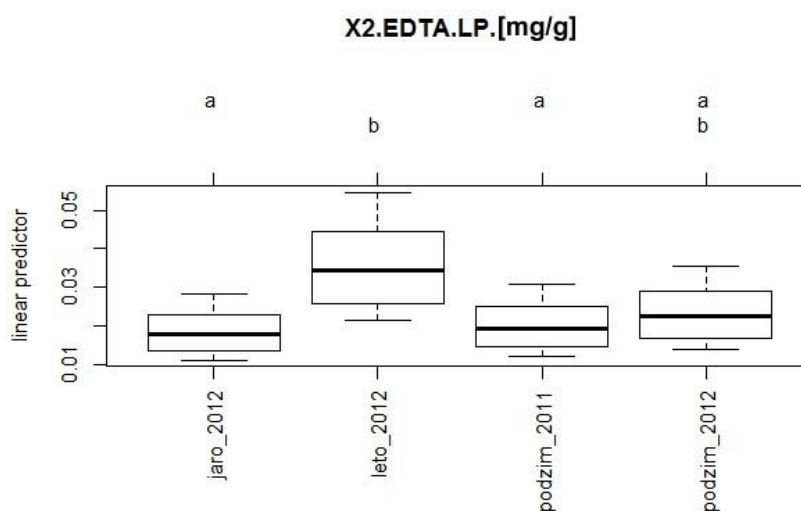
U jednotlivých kombinací období odběrů vzorků ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 19, na existující rozdílnost hodnot koncentrací labilního fosforu, stanoveného metodami 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 19 Labilní fosfor - Tukeyův test – metody vs. období

Období	Metody vs. období		
	2. EDTA vs. období p-hodnota	3. BD vs. období p-hodnota	4. BD vs. období p-hodnota
leto_2012 - jaro_2012	0,022	0,803	0,094
podzim_2011 - jaro_2012	0,990	0,258	0,000
podzim_2012 - jaro_2012	0,819	0,932	0,105
podzim_2011 - leto_2012	0,039	0,049	0,000
podzim_2012 - leto_2012	0,117	0,449	1,000
podzim_2012 - podzim_2011	0,941	0,567	0,000

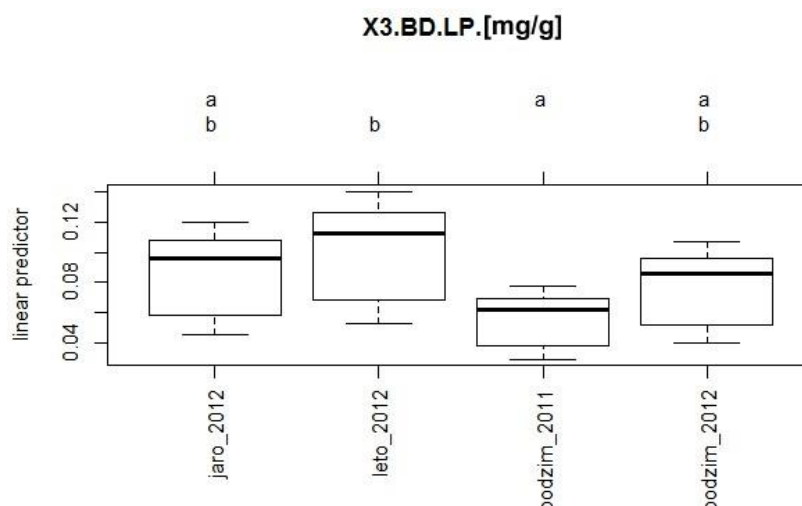
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu se výsledky koncentrací labilního fosforu stanovených jednotlivými metodami shodují v případě období podzim 2012 s jarem 2012, podzim 2011 s létem 2012 a podzim 2012 s létem 2012. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 17, 18 a 19.

Graf 17 Znáznornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 2. EDTA - období



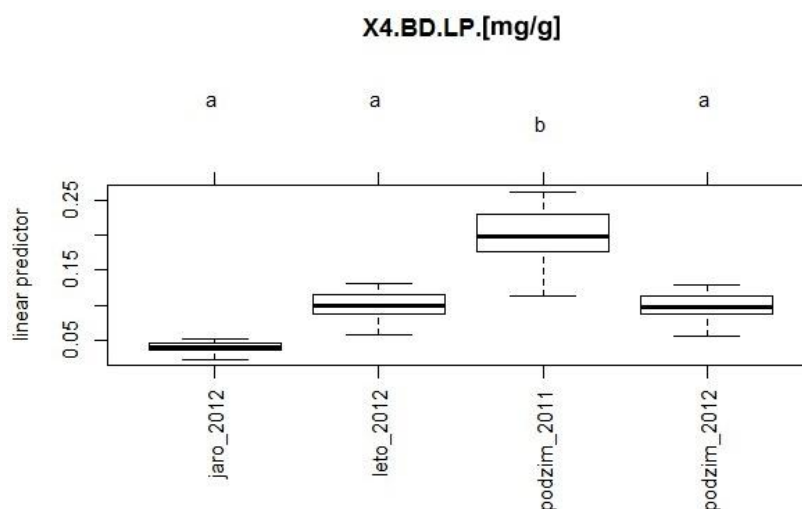
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 2. EDTA se prokázal rozdíl při porovnání období léto 2012 s obdobími jaro 2012 a podzim 2011.

Graf 18 Znáznornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 3. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 3. BD se prokázal rozdíl při porovnání období léto 2012 s obdobím podzim 2011.

Graf 19 Znáznornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 4. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací labilního fosforu metodou 4. BD se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2011 s ostatními obdobími.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 20) neprokázal závislost koncentrací labilního fosforu, stanovených jednotlivými metodami, na žádném z kovů. Z korelačního grafu (příloha č. 5) v kapitole 11 také není patrná žádná závislost.

Tabulka 20 Labilní fosfor – závislost metody vs. kov

Analytické metody vs. kov			Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	2. EDTA	ρ	0,223	0,096
		p-hodnota	0,146	0,514
	3. BD	ρ	0,124	0,018
		p-hodnota	0,421	0,905
	4. BD	ρ	-0,13	0,264
		p-hodnota	0,4	0,069

Orthofosforečnanové ionty, sorbované na oxidy kovů a hydroxidy, nejsou běžně biologicky dostupné s výjimkou slabé disociace (desorpce) (Reynolds a Davies, 2001). Labilní fosfor se extrahuje různými způsoby:

- v metodě 2. EDTA pomocí destilované vody,
- v metodě 3. BD pomocí chloridu amonného,
- v metodě 4. BD pomocí destilované vody.

Používané extraktanty napovídají, že labilní fosfor je formou snadno uvolnitelnou (extrahovatelnou), za samozřejmou se proto nepokládá případná korelace s vápníkem, či železem. V odborné literatuře souvislost labilního fosforu s kovy není obvykle předmětem zájmu. Amiard et al. (2012) zaznamenává velké množství labilního fosforu ve vápenatých sedimentech. Práce Kaiserli et al. (2002) zaznamenává vztah mezi Ca a labilním fosforem, labilní fosfor (extrahovaný NH_4Cl) zahrnuje i část fosforu spojeného s CaCO_3 . U další sledované nádrže zaznamenal naopak signifikantní roli výskytu sloučenin železa. Pozitivní korelaci labilního fosforu s vápníkem zaznamenal i Liu et al. (2015), který tuto frakci extrahuje pomocí MgCl_2 . Očekávané neprokázání závislosti viz tabulka 20 není však v souladu s několika málo výsledky zjištěnými u Kaiserli et al. (2002) a Liu et al. (2015).

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 21) prokázal závislost stanovených koncentrací labilního fosforu mezi dvojicemi analytických metod 2. EDTA a 3. BD a mezi dvojicí metod 2. EDTA a 4. BD. Z uvedeného lze konstatovat, že stanovení koncentrace labilního fosforu analytickou metodou 2. EDTA je zaměnitelné se stanovením koncentrace labilního fosforu analytickými metodami 3. BD nebo 4. BD.

Tabulka 21 Labilní fosfor – srovnání analytických metod

Srovnání analytických metod			2. EDTA	3. BD	4. BD
Spearman	2. EDTA	ρ	1	0,509	0,367
		p-hodnota	0	0	0,010
	3. BD	ρ	0,509	1	0,178
		p-hodnota	0	0	0,225
	4. BD	ρ	0,367	0,178	1
		p-hodnota	0,010	0,225	0

Korelační koeficienty vyjadřují vzájemný vztah dvou metod (míru rozptylu bodů kolem regresní přímky). Korelace je tedy měřítkem těsnosti dvou porovnávaných metod. Nižší korelační koeficient je uveden pro vztah metod 2. EDTA a 4. BD (0,367) s p-hodnotou 0,01. Vyšší korelační koeficient je uveden pro vztah metod 2. EDTA a 3. BD (0,509) s p-hodnotou 0 (oproti vztahu metod 2. EDTA a 4. BD).

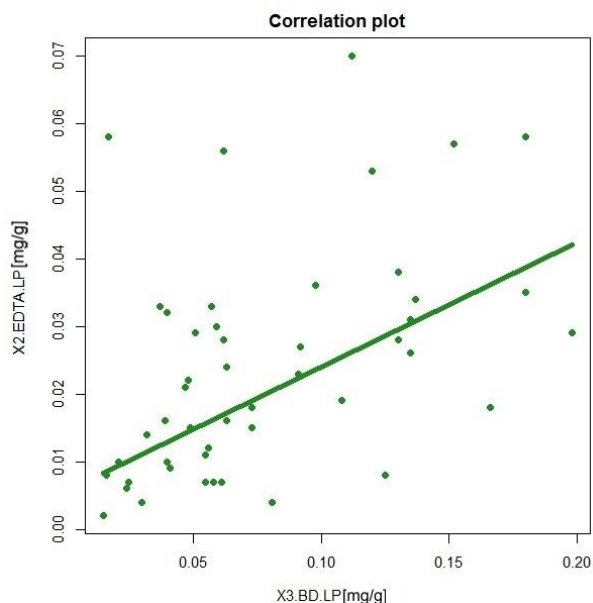
Rozdíl mezi metodou 2. EDTA a 4. BD je zejména v potřebném čase, extraktant se pro obě metody používá stejný - destilovaná voda. Časová náročnost je podobná, u metody 2. EDTA probíhá extrakce 10 minut, u metody 4. BD probíhá také 10 minut, ale postup extrakce se jednou opakuje, kromě celkových 20 minut pro extrakce je zapotřebí i jedna centrifugace vzorku navíc. Pro obě metody je potřebné přístrojové vybavení shodné, využívá se laboratorní homogenizátor a centrifuga pro odstředění kapalně a tuhé fáze. Finanční náročnost je podobná, u metody 4. BD se spotřebuje navíc minimální množství destilované vody a energie. Technická náročnost obou metod je stejná. Hodnoty základní popisné statistiky metody 2. EDTA pro koncentraci labilního fosforu (tabulka 12) jsou minimálně 4x nižší než hodnoty základní popisné statistiky pro koncentraci labilního fosforu metody 4. BD. Příčinu rozdílu těchto hodnot je možno vidět v rozdílném počtu extrakcí, kdy při metodě 2. EDTA byla použita jedna extrakce destilovanou vodou, u metody 4. BD byla extrakce destilovanou vodou provedena dvakrát.

Rozdíl mezi metodou 2. EDTA a 3. BD je zejména v použití extrakčního činidla, kdy se pro labilní fosfor u metody 2. EDTA využívá destilovaná voda a u metody 3. BD se používá chlorid amonný, tedy silnější extraktant. U metody 2. EDTA extrakce probíhá 10 minut, u metody 3. BD extrakce probíhá 60 minut, následně se vzorek 3x promývá chloridem amonným a po deseti minutách se vždy odstředí. Pro obě metody je potřebné přístrojové vybavení shodné, využívá se laboratorní homogenizátor a centrifuga pro odstředění kapalně a tuhé fáze. Metoda 3. EDTA je oproti metodě 2. EDTA časově náročnější. Finanční náročnost je podobná, pro metodu 2. EDTA se využívá destilovaná voda, kterou je nutno připravit, pro metodu 3. BD chlorid amonný a kyselina sírová v minimálních množstvích. Technická náročnost obou metod je malá, u metody 3. BD je potřeba navíc připravit 1 M NH_4Cl a 2 M H_2SO_4 . Hodnoty základní popisné statistiky metody 2. EDTA pro koncentraci labilního fosforu (tabulka 12) jsou minimálně o polovinu nižší než hodnoty základní popisné statistiky pro koncentraci labilního fosforu metody 3. BD.

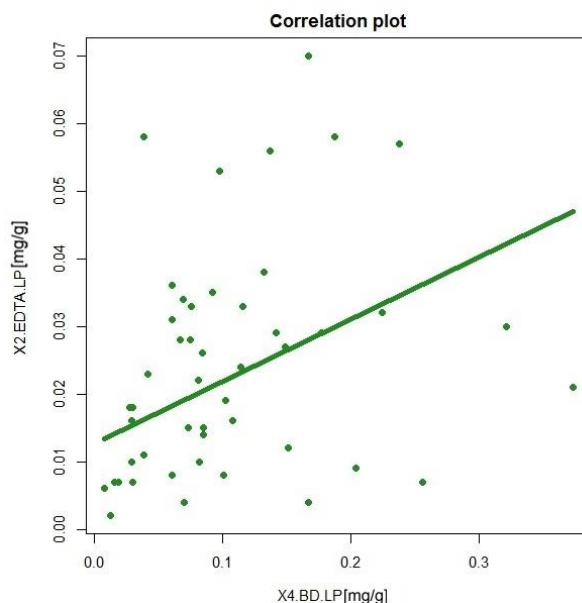
Theil-Senův odhad trendu

Následující korelační graf 20 znázorňuje lineární závislosti stanovených koncentrací labilního fosforu na použité metodě. Potvrzuje se korelace mezi dvojicemi analytických metod 2. EDTA a 3. BD a mezi dvojicí metod 2. EDTA a 4. BD.

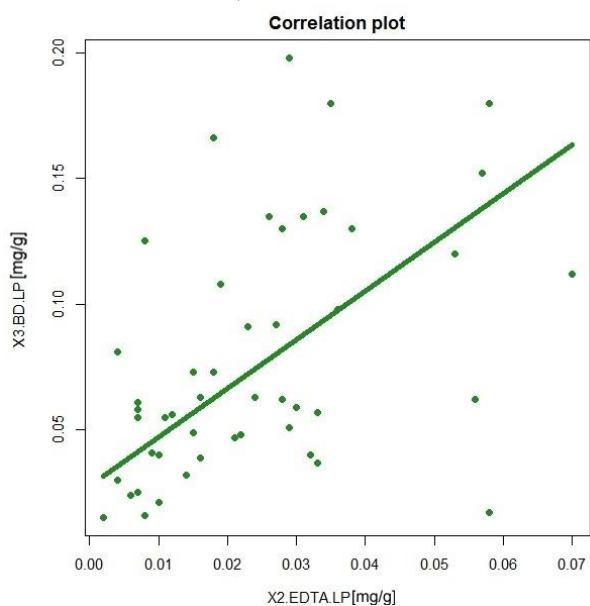
Graf 20 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace labilního fosforu



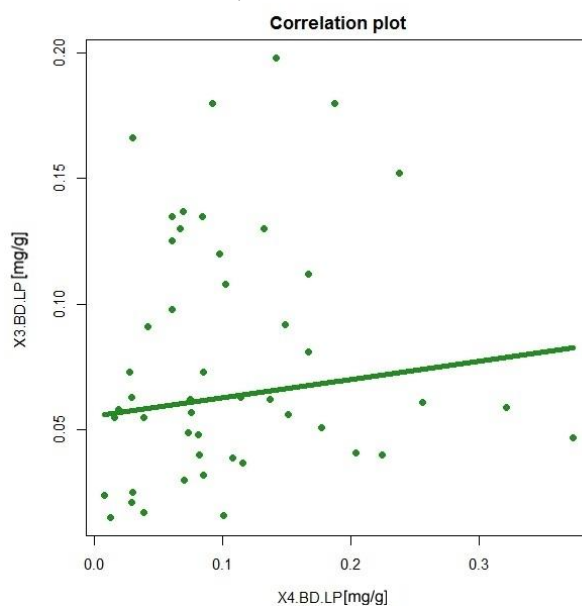
Závislost koncentrace labilního fosforu stanovené metodou 2. EDTA, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 3. BD



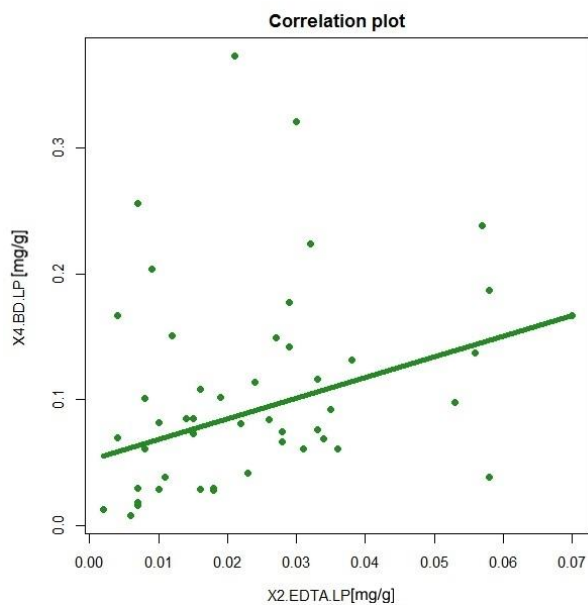
Závislost koncentrace labilního fosforu stanovené metodou 2. EDTA, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 4. BD



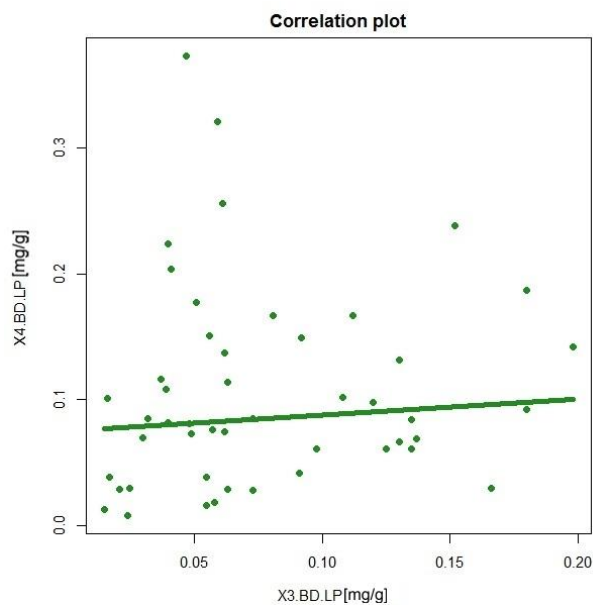
Závislost koncentrace labilního fosforu, stanovené metodou 3. BD, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 2. EDTA



Závislost koncentrace labilního fosforu stanovené metodou 3. BD, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 4. BD



Závislost koncentrace labilního fosforu, stanovené metodou 4. BD, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 2. EDTA

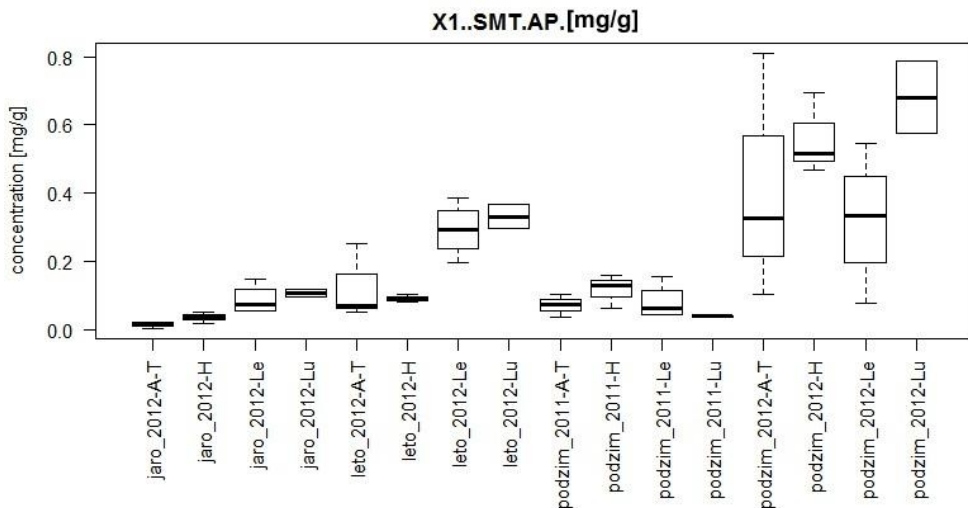


Závislost koncentrace labilního fosforu, stanovené metodou 4. BD, na koncentraci labilního fosforu, stanovené metodou 3. BD

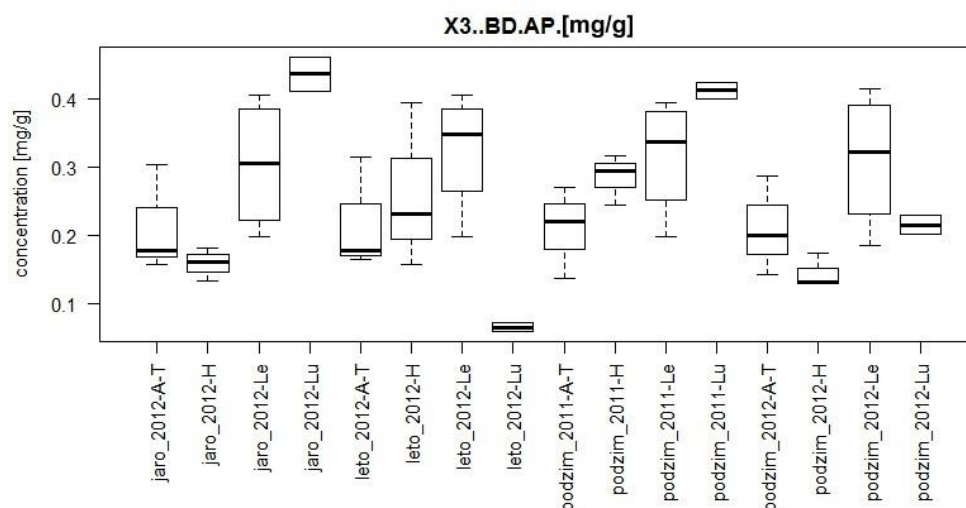
5.2.4 Apatitový fosfor

Náhled datového souboru pro koncentrace apatitového fosforu zjištěné metodami 1. SMT, 3. BD, 4. BD zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazují následující krabicové grafy 21, 22 a 23.

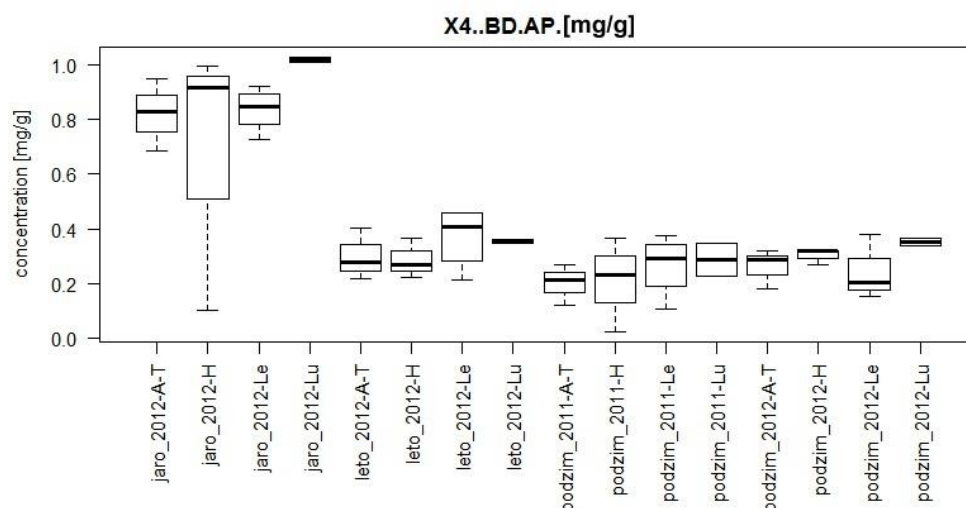
Graf 21 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 1. SMT



Graf 22 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 3. BD



Graf 23 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 4. BD



Z grafů 21–23 je patrné, že lze očekávat rozdíly jak v různých obdobích, tak v různých lokalitách. Podzimní koncentrace apatitového fosforu ve vzorcích z r. 2012 jsou oproti dalším obdobím zřetelně vyšší u metody 1. SMT, dále se zdají být vyšší koncentrace z léta 2012. U metody 3. BD lze také očekávat rozdíly, u metody 4. BD jsou oproti dalším porovnávaným obdobím na první pohled patrné vyšší koncentrace u vzorků z jara 2012.

Kruskal-Wallisův test – apatitový fosfor

K-W testem dosažené p-hodnoty 0,0009 pro metodu 1. SMT, 0,0110 pro metodu 3. BD a 0,0356 pro metodu 4. BD jsou menší než 0,05. Tyto hodnoty tedy znázorňují výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období pro jednotlivé testované metody se statisticky významně liší od jiné.

Tukeyův test – apatitový fosfor

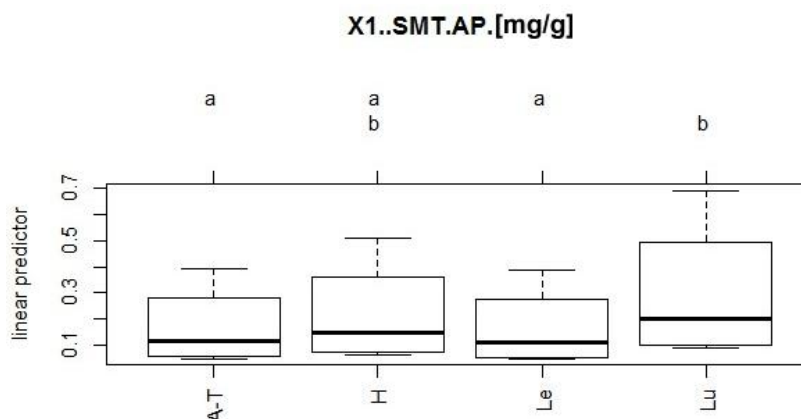
U jednotlivých kombinací lokalit ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 22, na existující rozdílnost hodnot koncentrací apatitového fosforu, stanoveného metodami 1. SMT, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 22 Apatitový fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita

Lokalita	Metody vs. lokalita		
	1. SMT vs. lokalita p-hodnota	3. BD vs. lokalita p-hodnota	4. BD vs. lokalita p-hodnota
H - A-T	0,618	1,000	0,730
Le - A-T	1,000	0,052	0,974
Lu - A-T	0,031	0,230	0,254
Le - H	0,508	0,060	0,434
Lu - H	0,305	0,254	0,030
Lu - Le	0,012	0,976	0,392

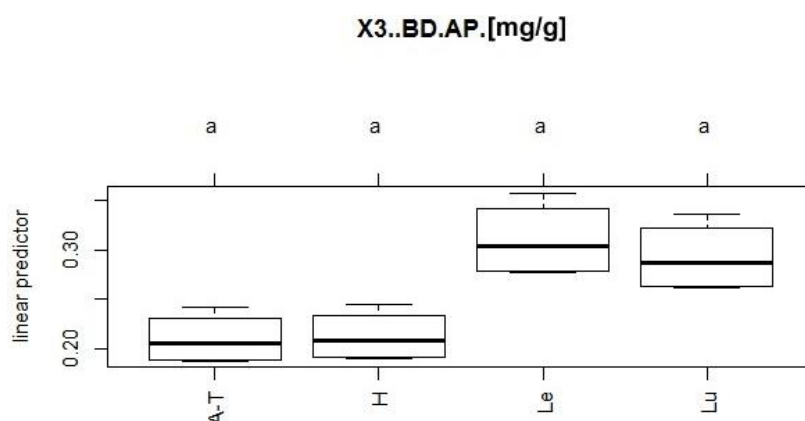
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu se metody stanovení koncentrace apatitového fosforu ve výsledku shodují kromě porovnání lokality Ludvíkov s ostatními lokalitami. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 24, 25 a 26.

Graf 24 Znáznornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 1. SMT - lokalita



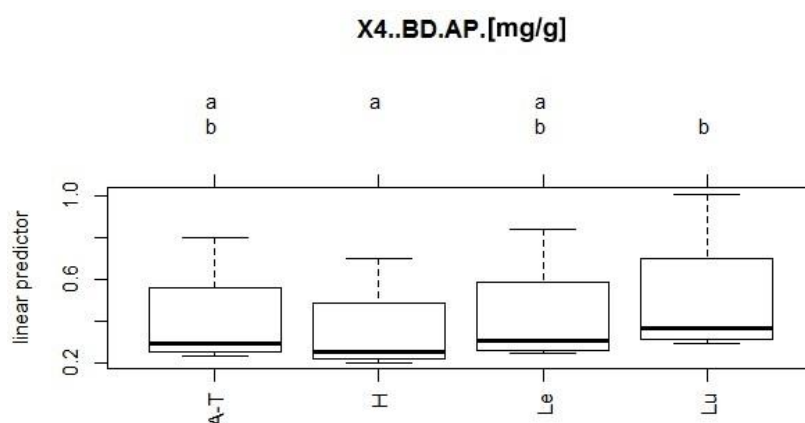
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 1. SMT se prokázal rozdíl lokality Ludvíkov od lokalit Aušperský-Troubský a Leskava.

Graf 25 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 3. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 3. BD se neprokázal mezi jednotlivými lokalitami rozdíl.

Graf 26 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 4. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 4. BD se prokázal rozdíl lokality Ludvíkov od lokality Hartmanice.

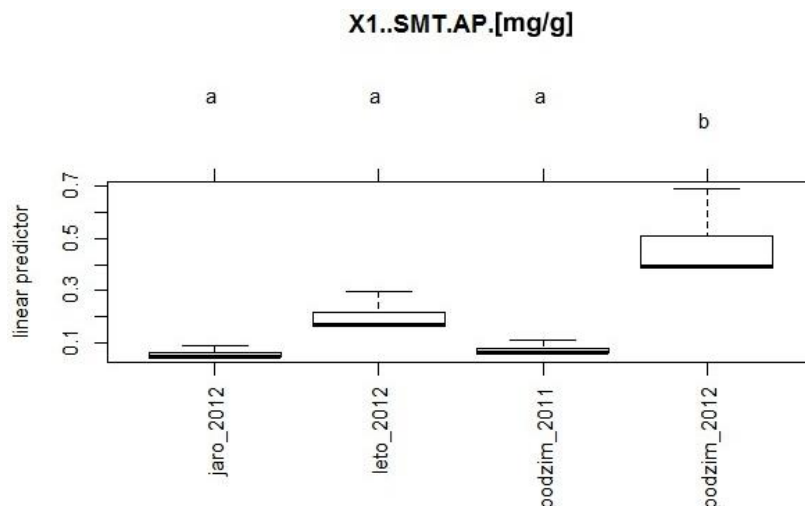
U jednotlivých kombinací období odběrů vzorků ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 23, na existující rozdílnost hodnot koncentrací apatitového fosforu, stanoveného metodami 1. SMT, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 23 Apatitový fosfor - Tukeyův test – metody vs. období

Období	Metody vs. období		
	1. SMT vs. období p-hodnota	3. BD vs. období p-hodnota	4. BD vs. období p-hodnota
leto_2012 - jaro_2012	0,179	0,759	0,000
podzim_2011 - jaro_2012	0,991	0,915	0,000
podzim_2012 - jaro_2012	0,003	0,720	0,000
podzim_2011 - leto_2012	0,182	0,371	0,416
podzim_2012 - leto_2012	0,000	1,000	0,796
podzim_2012 - podzim_2011	0,001	0,335	0,912

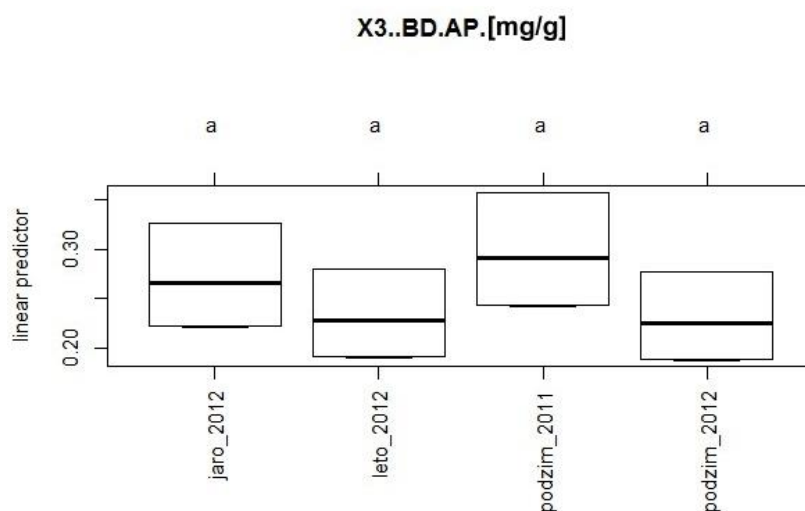
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu se výsledky koncentrací apatitového fosforu, stanovených jednotlivými metodami, shodují v případě období podzim 2011 s létem 2012. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 27, 28 a 29.

Graf 27 Znáznornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 1. SMT - období



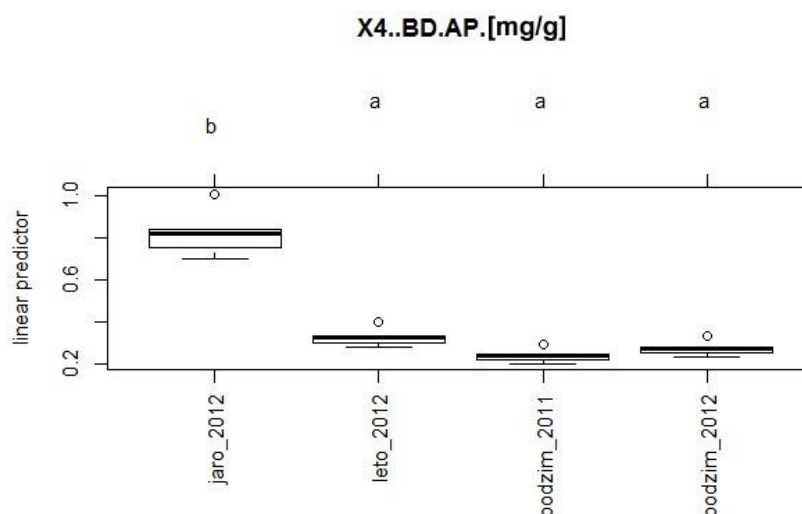
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 1. SMT se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2012 s ostatními obdobími.

Graf 28 Znáznornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 3. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 3. BD se neprokázal mezi jednotlivými obdobími rozdíl.

Graf 29 Znáznornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 4. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací apatitového fosforu metodou 4. BD se prokázal rozdíl při porovnání období jaro 2012 s dalšími obdobími.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 24) prokázal závislost koncentrací apatitového fosforu, stanovených metodami 1. SMT a 4. BD, na koncentraci železa a dále metodou 3. BD na koncentraci vápníku. Z korelačního grafu (příloha č. 6) v kapitole 11 jsou tyto lineární závislosti patrné.

Tabulka 24 Apatitový fosfor – závislost metody vs. kov

Analytické metody vs. kov			Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	1. SMT	ρ	0,049	0,327
		p-hodnota	0,754	0,023
	3. BD	ρ	0,419	-0,211
		p-hodnota	0,005	0,149
	4. BD	ρ	0,136	-0,321
		p-hodnota	0,378	0,026

Vysoké koncentrace vápníku v matrici mohou znamenat, že velká část fosforu se může vázat na vápník a tvořit CaPO_4 a/nebo apatit $[\text{Ca}(\text{OH})(\text{PO}_4)_3]$ (Mhamdi et al., 1994).

Že bývá fosfor spojen s částicemi vápníku a železa potvrdil také Evans et al. (2004) nebo Gonsiorczyk et al. (1998). Ve vzorcích sedimentů však byly stanoveny relativně nízké hodnoty vápníku (maximální hodnota 41,7 mg/g), proto není závislost apatitového fosforu na vápníku zjištěna pouze u metody 3. BD překvapivá. Metoda 3. BD potvrzující tuto závislost se proto pro stanovení apatitového fosforu jeví jako vhodná už v případě nižšího obsahu vápníku v matrici. Pozitivní korelaci fosforu vázaného k vápníku ($r = 0,667$) potvrdil také Liu et al. (2015). Rozložení fosforu na vazebná místa železa a vápníku závisí

nejen na pH, ale i na množství Fe(OOH) v sedimentech (Ashraf a Pillai, 2003). Maximální hodnota železa ve sledovaných sedimentech byla vysoká (33,2 mg/g), proto je možné, že byla forma apatitového fosforu soustředěna na tato vazebná místa a byla zjištěna závislost této formy na železe jak u metody 1. SMT, tak u metody 4. BD, kde však byla korelace negativní.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ neprokázal závislost stanovených koncentrací labilního fosforu mezi jednotlivými analytickými metodami viz tabulka 25 a korelační graf 30.

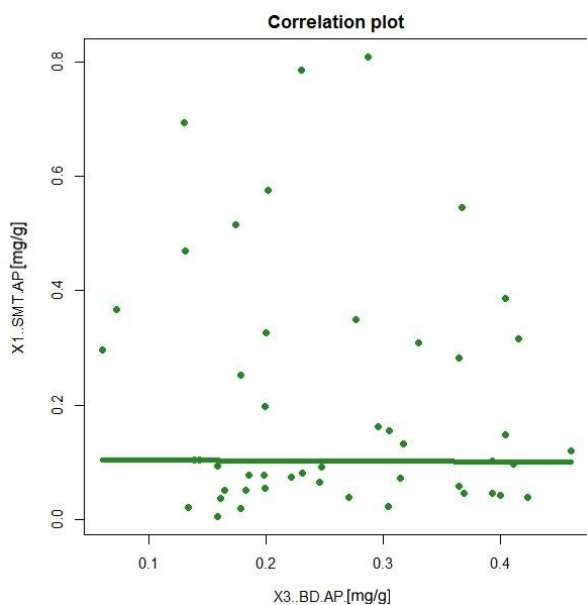
Tabulka 25 Apatitový fosfor – srovnání analytických metod

Srovnání analytických metod			1. SMT	3. BD	4. BD
Spearman	1. SMT	ρ	1	-0,024	-0,162
		p-hodnota	0	0,87	0,271
	3. BD	ρ	-0,024	1	0,186
		p-hodnota	0,87	0	0,205
	4. BD	ρ	-0,162	0,186	1
		p-hodnota	0,271	0,205	0

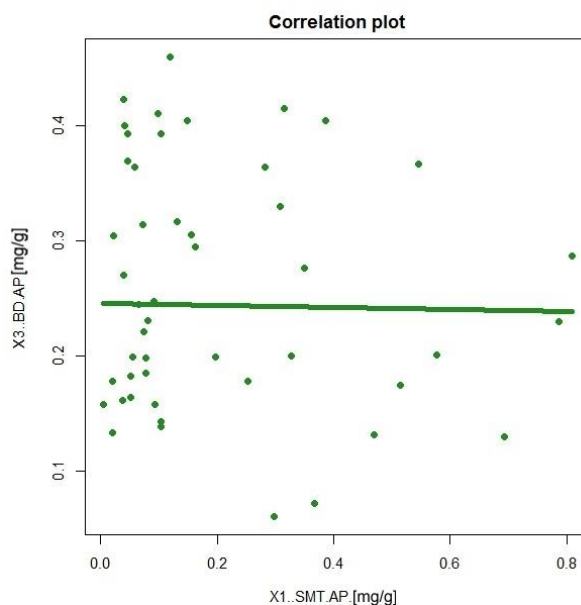
Theil-Senův odhad trendu

Následující korelační graf 30 neprokázal závislost mezi jednotlivými analytickými metodami 1. SMT, 3. BD a 4. BD.

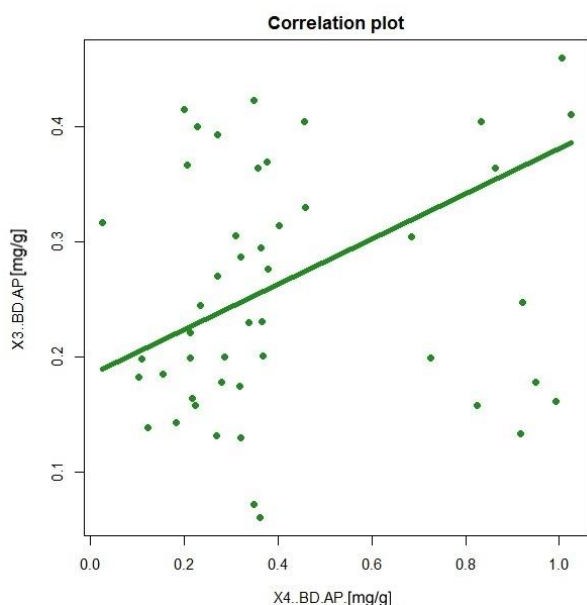
Graf 30 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace apatitového fosforu



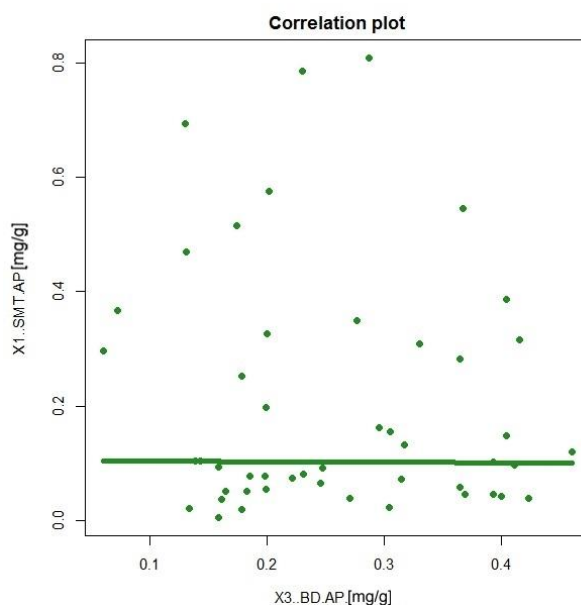
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD



Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD na koncentraci apatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT



Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD na koncentraci apatitového fosforu stanovené metodou 4. BD



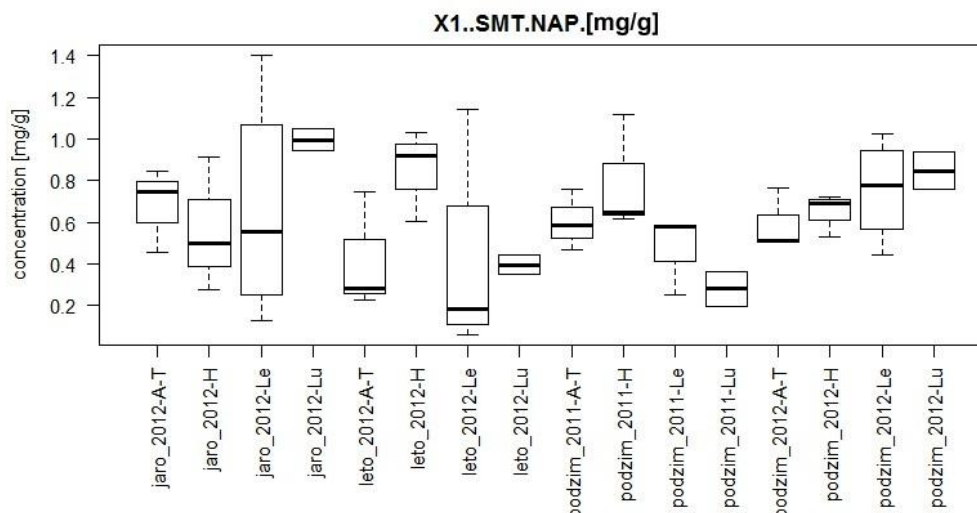
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD

5.2.5 Neapatitový fosfor

Koncentrace neapatitového fosforu byla hodnocena jen metodou 1. SMT, z tohoto důvodu zde není uplatněno porovnání více metod stanovení.

Náhled datového souboru pro koncentraci anorganického fosforu zjištěnou metodou 1. SMT, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazuje následující krabicový graf 31.

Graf 31 Náhled datového souboru – neapatitový fosfor – 1. SMT



Z grafu 31 není jednoznačně zřejmé, že by se daly u neapatitového fosforu očekávat rozdíly období, nebo v lokalitách.

Kruskal-Wallisův test – neapatitový fosfor

K-W testem dosažená p-hodnota 0,2379 pro metodu 1. SMT je větší než 0,05. Tato hodnota tedy znázorňuje výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období se statisticky významně neliší od jiné.

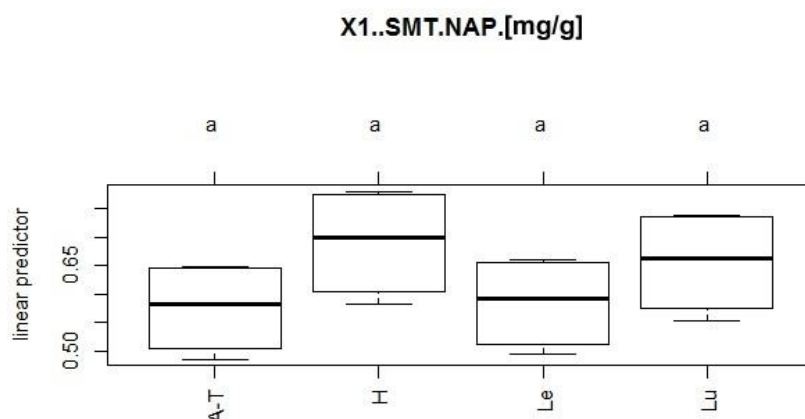
Tukeyův test – neapatitový fosfor

Hodnoty koeficientu p větší než 0,05 v levé části tabulky 26 neprokazují rozdílnost hodnot koncentrací neapatitového fosforu jednotlivých kombinací lokalit. Hodnoty koeficientu p v pravé části tabulky jsou větší než 0,05 a neprokazují rozdílnost hodnot koncentrací neapatitového fosforu jednotlivých kombinací období odběrů vzorků. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 32 a 33.

Tabulka 26 Neapatitový fosfor - Tukeyův test – lokalita a období

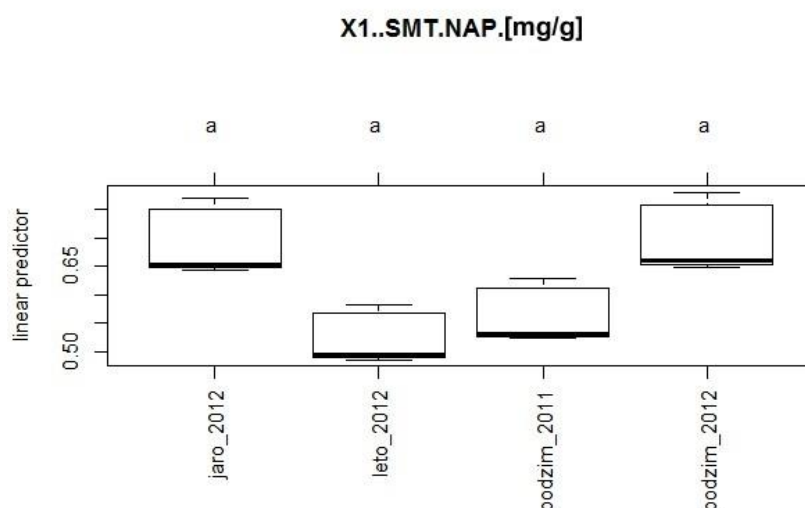
1. SMT vs. lokalita a období			
Lokalita	p-hodnota	Období	p-hodnota
H - A-T	0,791	leto_2012 - jaro_2012	0,540
Le - A-T	1,000	podzim_2011 - jaro_2012	0,732
Lu - A-T	0,937	podzim_2012 - jaro_2012	1,000
Le - H	0,794	podzim_2011 - leto_2012	0,988
Lu - H	0,994	podzim_2012 - leto_2012	0,507
Lu - Le	0,948	podzim_2012 - podzim_2011	0,699

Graf 32 Znáznornění Tukeyova testu - neapatitový fosfor – 1. SMT - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací neapatitového fosforu metodou 1. SMT se neprokázal mezi jednotlivými lokalitami rozdíl (tabulka 26, graf 32).

Graf 33 Znáznornění Tukeyova testu - neapatitový fosfor – 1. SMT - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací neapatitového fosforu metodou 1. SMT (tabulka 26, graf 33) se neprokázal mezi jednotlivými obdobími rozdíl.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 27) neprokázal závislost koncentrací neapatitového fosforu, stanovených metodou 1. SMT, na žádném z kovů. Z korelačního grafu (příloha č. 7) v kapitole 11 také není patrná žádná závislost.

Tabulka 27 Neapatitový fosfor – závislost metody vs. kov

1. SMT vs. kov		Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	ρ	-0,139	0,098
	p-hodnota	0,367	0,508

Neapatitový anorganický fosfor je uváděn jako biodostupný fosfor, jedná se však o sumu frakcí labilního fosforu ($\text{NH}_4\text{Cl-P}$), fosforu vázaného na železo (BD-P) a fosforu vázaného na oxidy kovů (NaOH-P). Biodostupná frakce fosforu se tedy obvykle skládá z frakce adsorbovaného fosforu a fosforu spojeného s kovy, ale může být přítomna i část organického fosforu nebo fosforu spojeného s vápníkem (Wang, 2012). Reddy et al. (1999) uvádí podobnou sumu frakcí fosforu (labilní fosfor, anorganický a organický fosfor spojený s kovy, anorganický a organický fosfor spojený s hliníkem) jako okamžitě řasám dostupnou a potenciálně řasám dostupnou komponentu sedimentu, zatímco fosfor spojený s vápníkem i apatity a reziduální fosfor jsou řasám méně dostupné. Korelaci neapatitového fosforu se železem potvrdil i Amiard et al. (2012). Z uvedeného vyplývá, že lze očekávat závislost koncentrace neapatitového fosforu na vápníku i na železe, což se v této práci nepotvrdilo.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Koncentrace neapatitového fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze mezi sebou porovnávat různé metody stanovení koncentrace neapatitového fosforu.

Theil-Senův odhad trendu

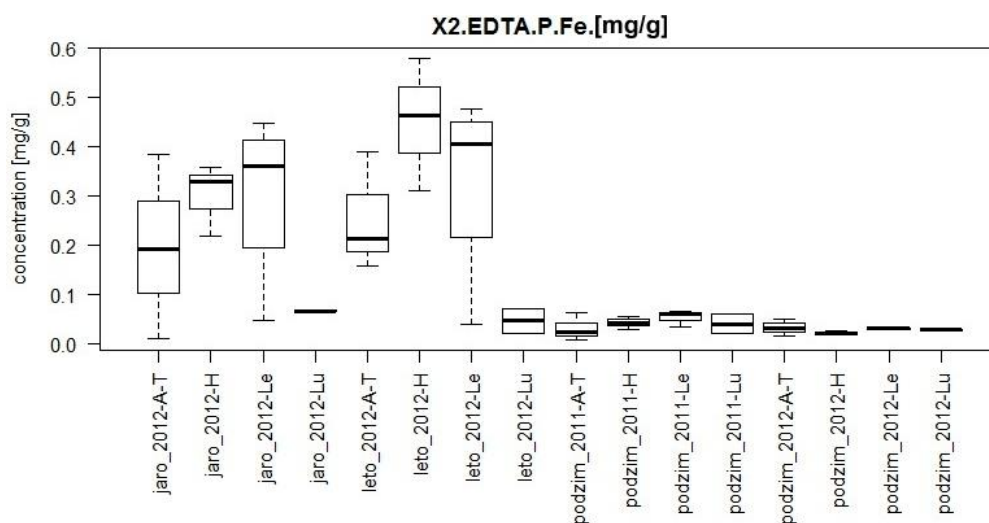
Koncentrace neapatitového fosforu byla stanovena pouze analytickou metodou 1. SMT, proto zde nelze znázornit relace mezi dvojicí analytických metod.

5.2.6 Fosfor vázaný na železo (na oxidy kovů)

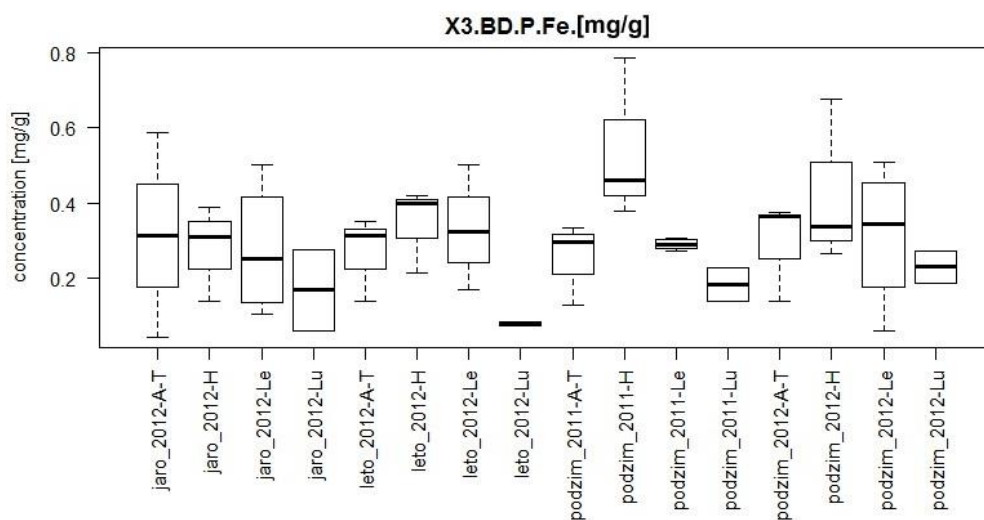
5.2.6.1 Fosfor vázaný na železo

Náhled datového souboru pro koncentrace fosforu vázaného na železo, zjištěné metodou 2. EDTA, 3. BD a 4. BD, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazují následující krabicové grafy 34–36.

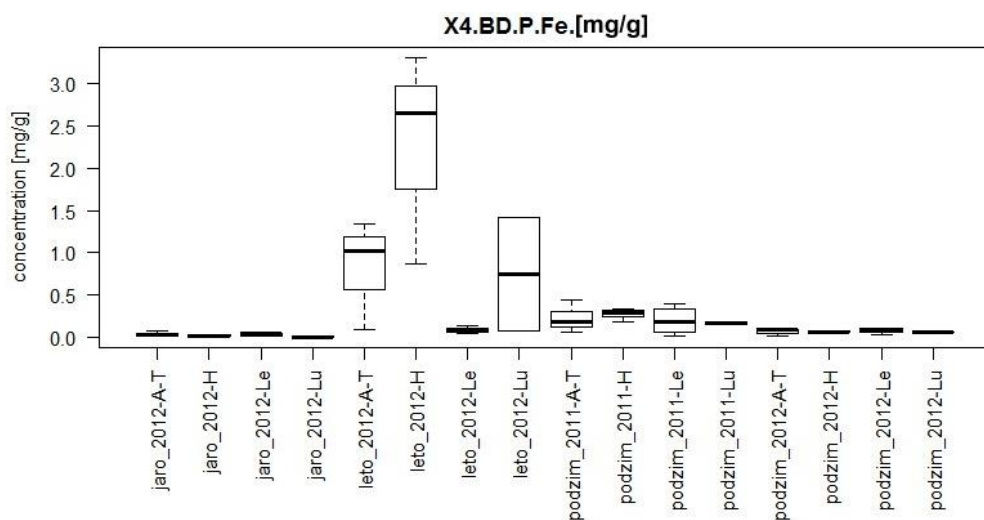
Graf 34 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA



Graf 35 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 3. BD



Graf 36 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 4. BD



Z grafů 34, 35 a 36 je patrné, že lze očekávat rozdíly jak v různých obdobích, tak v různých lokalitách. Rozdíly koncentrací fosforu vázaného na železo v podzimních vzorcích oproti dalším obdobím lze očekávat u metody 2. EDTA. Rozdíly koncentrací fosforu vázaného na železo u metody 3. BD lze očekávat spíše mezi některými odběrnými místy. Rozdíly koncentrací fosforu vázaného na železo v letních vzorcích 2012 oproti dalším obdobím lze očekávat u metody 4. BD.

Kruskal-Wallisův test – fosfor vázaný na železo

K-W testem dosažené p-hodnoty 0,0077 pro metodu 2. EDTA a 0,0041 pro metodu 4. BD jsou menší než 0,05. Tyto hodnoty tedy znázorňují výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období pro jednotlivé testované metody se statisticky významně liší od jiné. Dosažená p-hodnota 0,3932 pro metodu 3. BD je větší než 0,05. Tato hodnota tedy znázorňuje výsledek, že alespoň jedna z 16 možných kombinací lokality a období se statisticky významně neliší od jiné.

Tukeyův test – fosfor vázaný na železo

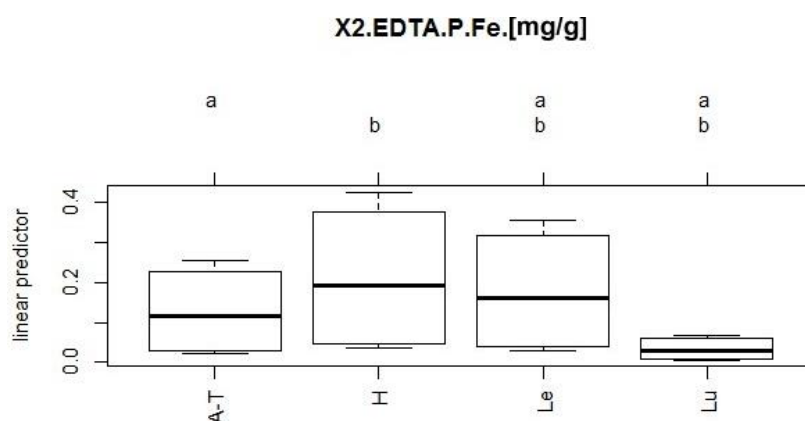
U jednotlivých kombinací lokalit ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 28, na existující rozdílnost hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo, stanoveného metodami 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 28 Fosfor vázaný na železo - Tukeyův test – metody vs. lokalita

Lokalita	Metody vs. lokalita		
	2. EDTA vs. lokalita p-hodnota	3. BD vs. lokalita p-hodnota	4. BD vs. lokalita p-hodnota
H - A-T	0,039	0,167	0,001
Le - A-T	0,303	0,977	0,557
Lu - A-T	0,322	0,435	0,993
Le - H	0,586	0,240	0,205
Lu - H	0,084	0,032	0,006
Lu - Le	0,139	0,276	0,607

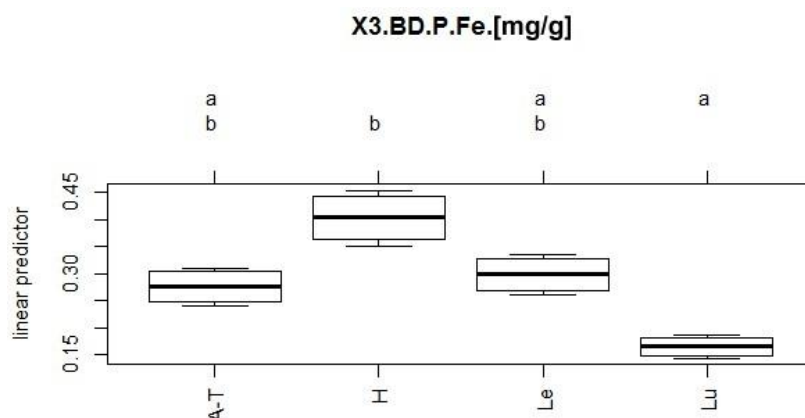
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo se metody stanovení koncentrace fosforu vázaného na železo ve výsledku shodují kromě porovnání lokality Hartmanice s Aušperským-Troubským potokem a lokality Ludvíkov s Hartmanicemi. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 37, 38 a 39.

Graf 37 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA - lokalita



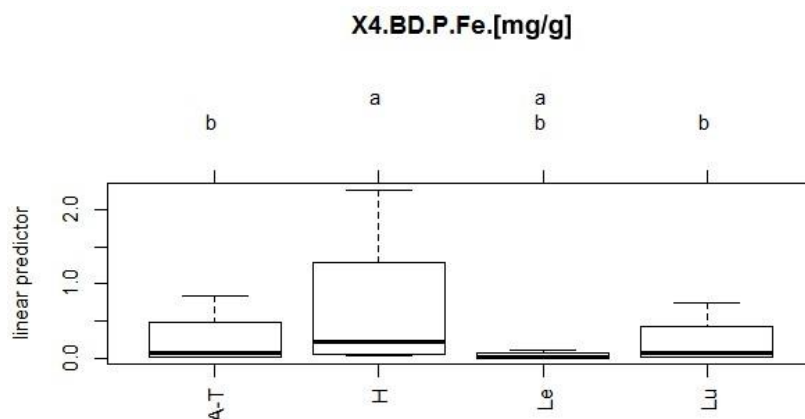
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 2. EDTA se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokality Aušperský-Troubský potok.

Graf 38 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 3. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 3. BD se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokality Ludvíkov.

Graf 39 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 4. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 4. BD se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokality Aušperský-Troubský a Ludvíkov.

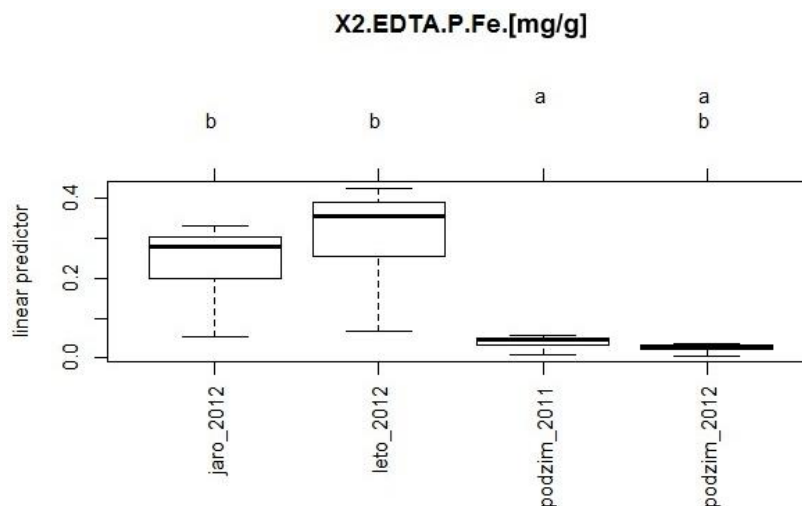
U jednotlivých kombinací období odběrů vzorků ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 29, na existující rozdílnost hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo, stanoveného metodami 2. EDTA, 3. BD a 4. BD.

Tabulka 29 Fosfor vázaný na železo - Tukeyův test – metody vs. období

Období	Metody vs. období		
	2. EDTA vs. období p-hodnota	3. BD vs. období p-hodnota	4. BD vs. období p-hodnota
leto_2012 - jaro_2012	0,248	0,988	0,876
podzim_2011 - jaro_2012	0,028	0,579	0,976
podzim_2012 - jaro_2012	0,115	0,740	0,998
podzim_2011 - leto_2012	0,009	0,771	0,003
podzim_2012 - leto_2012	0,065	0,898	0,353
podzim_2012 - podzim_2011	0,978	0,993	0,916

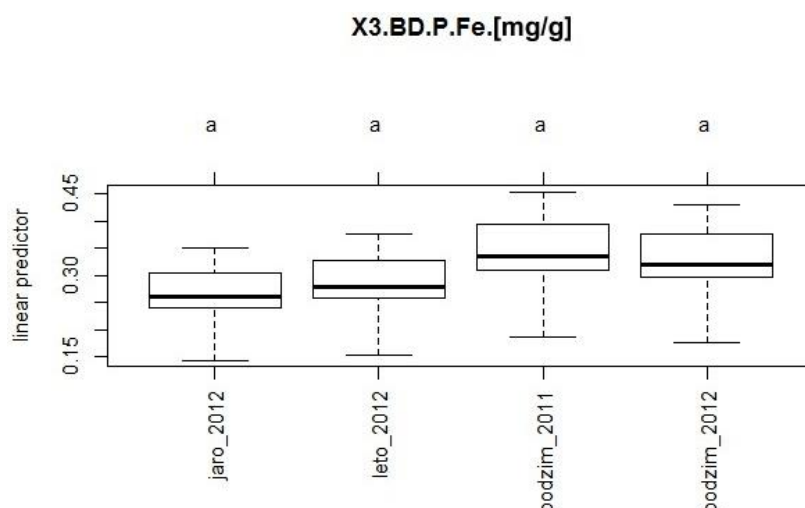
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo, se výsledky koncentrací fosforu vázaného na železo, stanovených jednotlivými metodami shodují kromě porovnání období podzim 2011 s jarem 2012 a podzim 2011 s létem 2012. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 40, 41 a 42.

Graf 40 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA - období



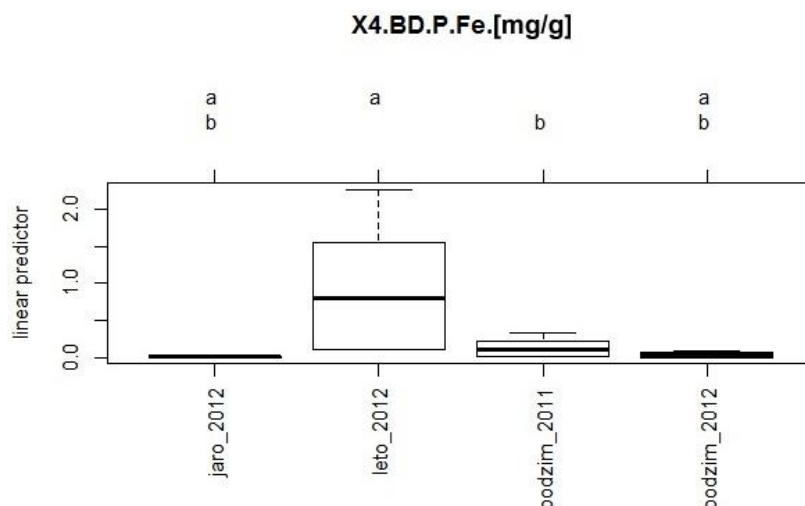
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 2. EDTA se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2011 s obdobími jaro 2012 a léto 2012.

Graf 41 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 3. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 3. BD se neprokázal při porovnání jednotlivých období rozdíl.

Graf 42 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 4. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na železo metodou 4. BD se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2011 s obdobím léto 2012.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 30) prokázal závislost koncentrací fosforu vázaného na železo, stanovených metodou 2. EDTA, na koncentracích železa i vápníku. Z korelačního grafu (příloha č. 8) v kapitole 11 jsou tyto lineární závislosti patrné.

Tabulka 30 Fosfor vázaný na železo – závislost metody vs. kov

Analytické metody vs. kov			Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	2. EDTA	ρ	0,306	-0,370
		p-hodnota	0,043	0,010
	3. BD	ρ	0,129	0,077
		p-hodnota	0,404	0,605
	4. BD	ρ	-0,123	0,216
		p-hodnota	0,427	0,140

Mhamdi et al. (1994) zaznamenal, že v hypertrofni nádrži Villerest byl fosfor v sedimentech vázaný na železo majoritní frakcí. Také fosfor uvolněný se sedimentů jezera odpovídal poklesu koncentrace fosforu vázaného k železu za aerobních i anaerobních podmínek v příspěvku Hosomi et al. (1982). Předpokládá se proto závislost této formy fosforu se železem. Očekávaná pozitivní závislost koncentrací fosforu vázaného na železo na koncentraci železa se v hodnocených datech neprojevila.

Metoda 2. EDTA prokázala pro koncentraci fosforu negativní korelaci u železa a pozitivní u vápníku. Z korelačního grafu závislosti koncentrace fosforu na železe (kapitola 11, příloha č. 8) pro metodu 4. BD jsou patrné odlehle hodnoty vysokých koncentrací fosforu (nad 0,8 mg/g), které patrně ovlivňují lineární závislost sledované formy fosforu na železe.

Společným parametrem odlehklých hodnot je období odběrů vzorků. Tyto vyšší hodnoty, negativně ovlivňující očekávanou závislost, se týkají vzorků sedimentů z odběrů v létě 2012 u tří (Aušperský-Troubský, Hartmanice a Ludvíkov) ze čtyř lokalit. Vzhledem k tomu, že odběry byly v létě 2012 prováděny postupně, se neočekává chyba vzniklá při odběrech. Vysvětlením se zdá být fakt, že dle informací Českého hydrometeorologického ústavu bylo období od srpna 2011 do května 2012 charakteristické meteorologickým suchem, což mělo za následek pokles hladin jak povrchových, tak podzemních vod. Podíl srážkového úhrnu za srpen 2011 až květen 2012 byl na jižní Moravě kolem 50 % vzhledem k dlouhodobému průměru 1961–2000 (Soukalová a Bortlová, 2013). Vzorky sedimentů tak mohly být suchem ovlivněny.

Sucho má dle Panta a Reddyho (2001) vliv na několik faktorů:

- pokles hladin vodních toků,
- kyslíkový režim v drobných vodních tocích,
- zakoncentrování živin v sedimentech, které mají k dispozici volná vazebná místa.

Søndergaard et al. (2003) uvádí, že v letním období vzrůstá zatížení sedimentů fosforem a značné množství fosforu v sedimentech nádrží je tvořeno formou citlivou na oxidačně-redukční podmínky, tedy fosforem vázaným na sloučeniny železa. V sedimentech eutrofních jezer může fotosyntetické zvýšení pH prokázat více fosforu, který je volně vázán se železem. Pravděpodobně i proto jsou hodnoty fosforu vázaného na železo z léta 2012 mnohem vyšší, než u vzorků ze stejných lokalit, odebíraných v předchozích a následujících obdobích a odpovídají běžným hodnotám koncentrací celkového železa.

U dalších forem fosforu v práci sledovaných, se vliv suchého letního období 2012 neprojevuje tak silně jako u fosforu vázaného na železo. Tato forma fosforu je citlivá na oxidačně-redukční podmínky a výsledky tak mohly vzhledem k suchému období ovlivnit i očekávanou závislost. Vyloučením odlehlých hodnot z léta 2012 by se jako nejvhodnější metoda stanovení fosforu vázaného na železo v souvislosti s obsahem železa jevila metoda 4. BD, která by projevila pozitivní korelaci se železem (p-hodnota 0,0263) a negativní s vápníkem (p-hodnota 0,0116). Metody 2. EDTA a 3. BD by i po vyloučení letních hodnot závislost sledované formy fosforu na železe neprojevily.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 31) prokázal závislost stanovených koncentrací fosforu vázaného na železo mezi dvojicemi analytických metod 2. EDTA a 3. BD a mezi dvojicí metod 3. BD a 4. BD. Z uvedeného lze konstatovat, že stanovení koncentrace fosforu vázaného na železo analytickou metodou 3. BD je zaměnitelné se stanovením koncentrace fosforu vázaného na železo analytickými metodami 2. EDTA nebo 4. BD. Z korelačního grafu 43 je patrná lineární závislost.

Tabulka 31 Fosfor vázaný na železo – srovnání analytických metod

Srovnání analytických metod			2. EDTA	3. BD	4. BD
Spearman	2. EDTA	ρ	1	0,330	0,142
		p-hodnota	0	0,022	0,337
	3. BD	ρ	0,330	1	0,354
		p-hodnota	0,022	0	0,014
	4. BD	ρ	0,142	0,354	1
		p-hodnota	0,337	0,014	0

Korelace mezi metodami 3. BD a 2. EDTA, a mezi 3. BD a 4. BD je velmi podobná. Vztah metod 3. BD a 2. EDTA určuje korelační koeficient 0,330 s p-hodnotou 0,022. Korelační koeficient pro vztah metod 3. BD a 4. BD je 0,354 s p-hodnotou 0,014.

Rozdíl mezi metodou 2. EDTA a 3. BD je zejména v používaných extrakčních činidlech a také v čase potřebném k extrakci. Metoda 2. EDTA používá k extrakci fosforu vázaného na železo roztok Ca-EDTA v dithioničitanu sodném, metoda 3. BD směs NaHCO_3 s $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. Časová náročnost je také rozdílná, u metody 2. EDTA probíhá extrakce 120 minut + 10 minut centrifugace, u metody 3. BD probíhá opakovaná extrakce celkem 33 minut + 40 minut centrifugace. Pro obě metody je potřebné přístrojové vybavení shodné, využívá se laboratorní homogenizátor a centrifuga pro odstředění kapalné a tuhé fáze. Finanční náročnost chemikálií je vyšší u metody 2. EDTA (100 g Ca-EDTA/ 890 Kč, 100 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ / 22 Kč), než u metody 3. BD (100 g NaHCO_3 / 15 Kč, 100 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ / 22 Kč). Technická náročnost obou metod je podobná. Co se týče bezpečnosti, je potřeba dbát na správné skladování dithioničitanu (je samovznětlivý), který se však používá u obou metod. Ca-EDTA a NaHCO_3 jsou zcela bezpečné.

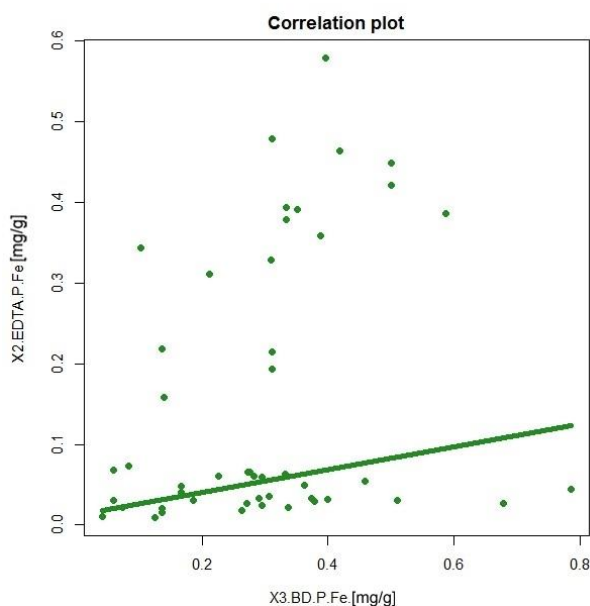
Extrakční činidla používaná v metodách 3. BD a 4. BD jsou stejná, používají se jen rozdílné koncentrace. V metodě 3. BD se používá 0,22 M NaHCO_3 s 0,22 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$

a v metodě 4. BD se používá 0,1 M NaHCO_3 s 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$. V čase potřebném k extrakci velký rozdíl není, extrakce fosforu vázaného na železo u metody 3. BD trvá 33 minut + 40 minut centrifugace, u metody 4. BD zabírá extrakce 30 minut + např. 10 minut centrifugace, takže je rozdíl jen v čase potřebném k centrifugaci, který u metody 3. BD navyšuje opakované promývání vzorku. Pro obě metody je potřebné přístrojové vybavení shodné, využívá se laboratorní homogenizátor a centrifuga pro odstředění kapalně a tuhé fáze. Rozdíl ve finanční náročnosti spotřebě použitých chemikálií je zanedbatelný. Technická náročnost obou metod je stejná. Co se týče bezpečnosti, je opět potřeba dbát na správné skladování dithioničitanu (samovznětlivý), který se však používá u obou metod.

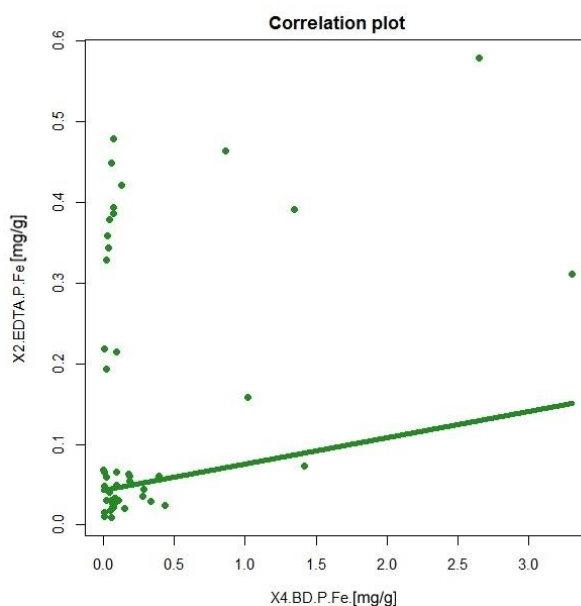
Theil-Senův odhad trendu

Následující korelační graf 43 také prokázal lineární závislost mezi analytickými metodami 3. BD a 2. EDTA a mezi 3. BD a 4. BD.

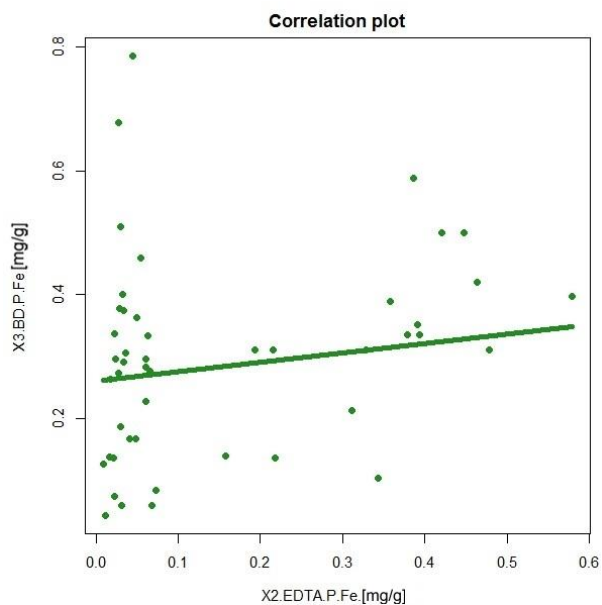
Graf 43 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace fosforu vázaného na železo



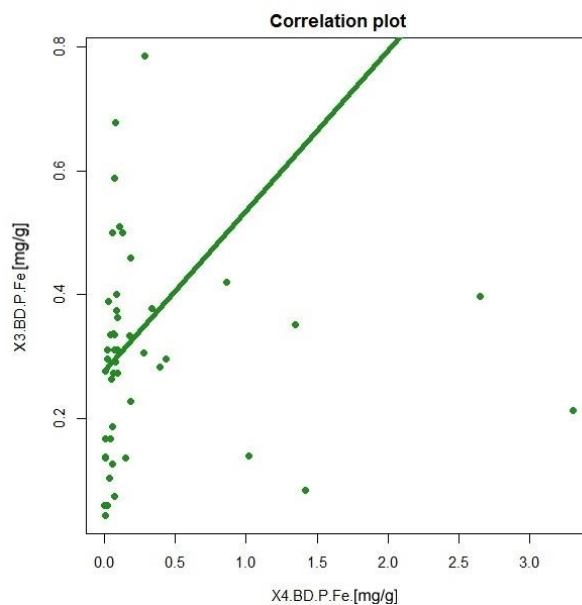
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD



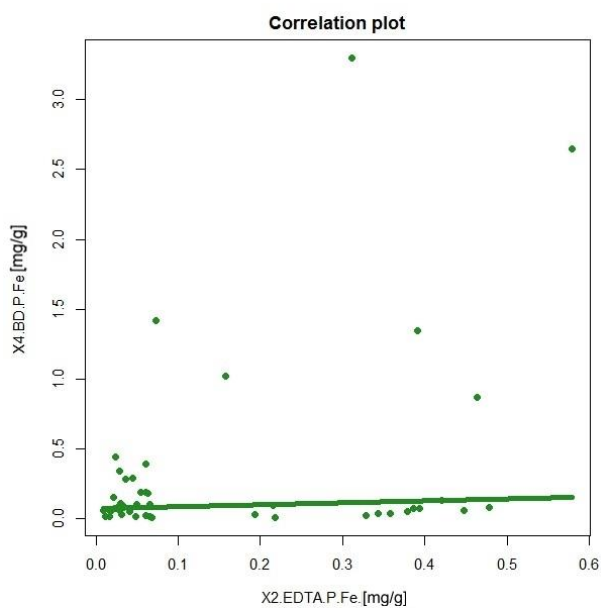
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 4. BD



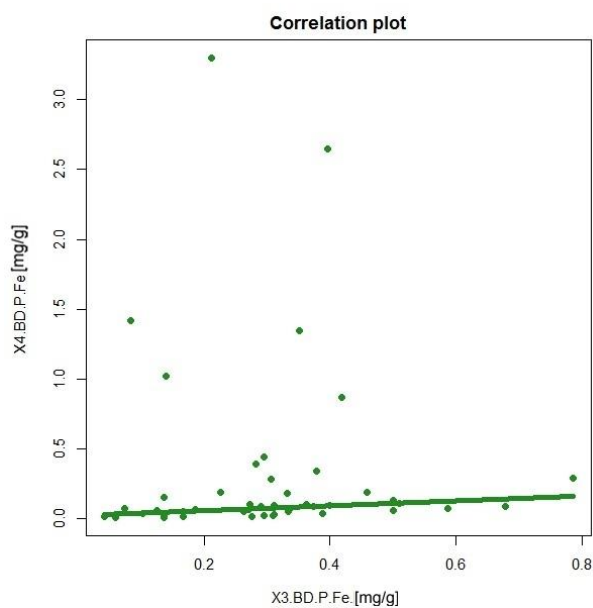
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA



Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 4. BD



Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 4. BD na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA

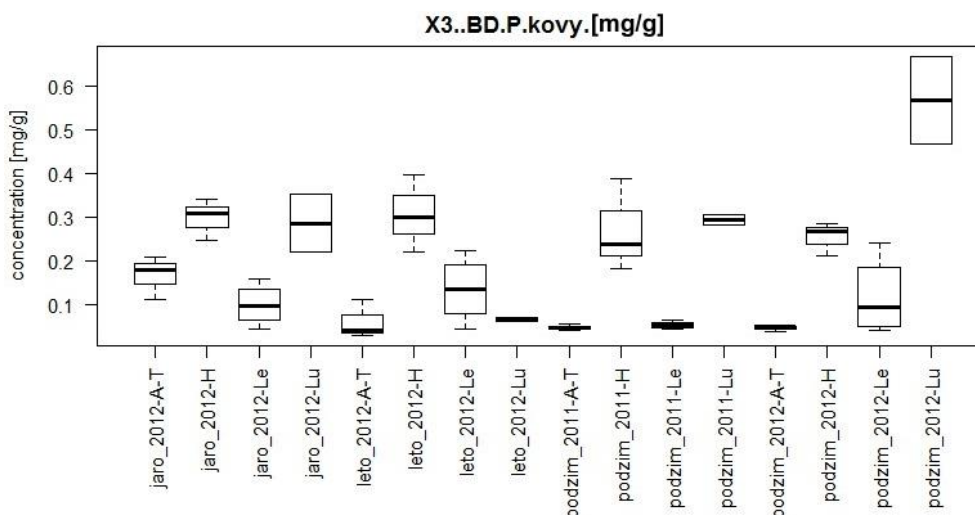


Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 4. BD na koncentraci fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD

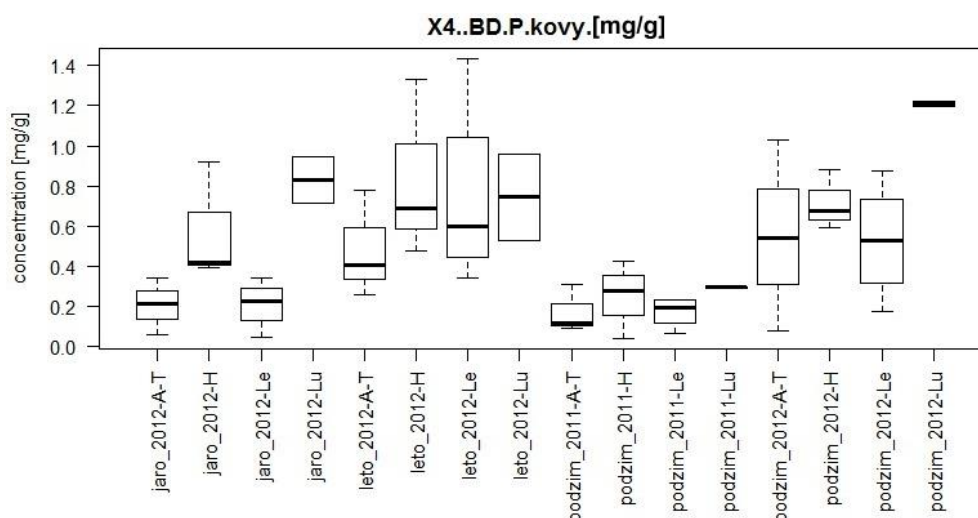
5.2.6.2 Fosfor vázaný na oxidy kovů

Náhled datového souboru pro koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, zjištěné metodami 3. BD a 4. BD, zahrnující členění dle období i lokalit, zobrazují následující krabicové grafy 44 a 45.

Graf 44 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD



Graf 45 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD



Z grafů 44 a 45 je patrné, že lze očekávat rozdíly v různých obdobích i v různých lokalitách. Rozdíly koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů lze očekávat u metody 3. BD zejména mezi různými lokalitami. Rozdíly koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů u metody 4. BD lze očekávat mezi některými odběrnými místy, ale i obdobími.

Kruskal-Wallisův test – fosfor vázaný na oxidy kovů

K-W testem dosažené p-hodnoty 0,0011 pro metodu 3. BD a 0,0117 pro metodu 4. BD jsou menší než 0,05. Tyto hodnoty tedy znázorňují výsledek, že alespoň jedna z 16

možných kombinací lokality a období pro jednotlivé testované metody se statisticky významně liší od jiné.

Tukeyův test – fosfor vázaný na oxidy kovů

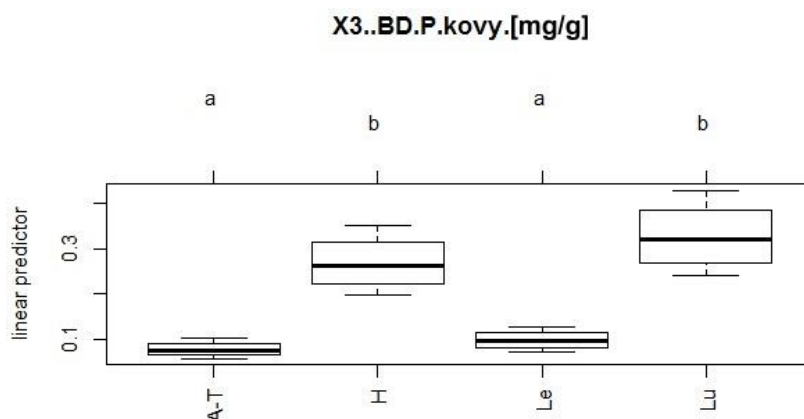
U jednotlivých kombinací lokalit ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 32, na existující rozdílnost hodnot koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů, stanoveného metodami 3. BD a 4. BD.

Tabulka 32 Fosfor vázaný na oxidy kovů - Tukeyův test – metody vs. lokalita

Lokalita	Metody vs. lokalita	
	3. BD vs. lokalita p-hodnota	4. BD vs. lokalita p-hodnota
H - A-T	0,003	0,168
Le - A-T	0,944	0,898
Lu - A-T	0,000	0,007
Le - H	0,000	0,360
Lu - H	0,474	0,424
Lu - Le	0,000	0,013

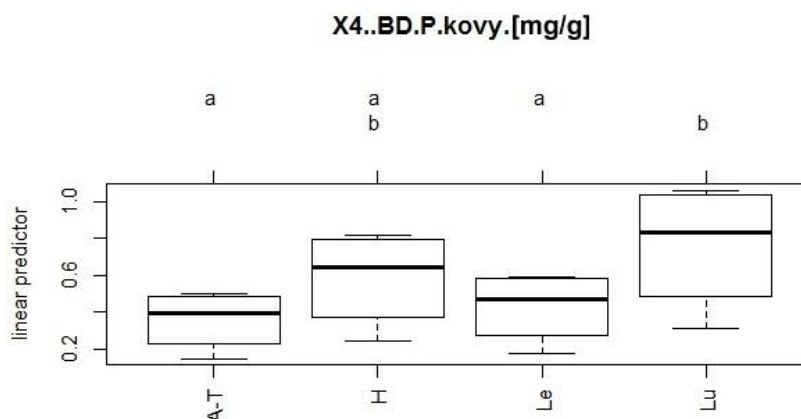
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů se metody stanovení koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů ve výsledku shodují kromě porovnání lokality Hartmanice s Aušperským-Troubským potokem a lokality Leskava s Hartmanicemi. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 46 a 47.

Graf 46 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na kovy metodou 3. BD, se prokázal rozdíl lokality Hartmanice od lokalit Aušperský-Troubský a Leskava. Dále se prokázal rozdíl lokality Ludvíkov od lokalit Aušperský-Troubský a Leskava.

Graf 47 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD - lokalita



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na kovy metodou 4. BD se prokázal rozdíl lokality Ludvíkov od lokalit Aušperský-Troubský a Leskava.

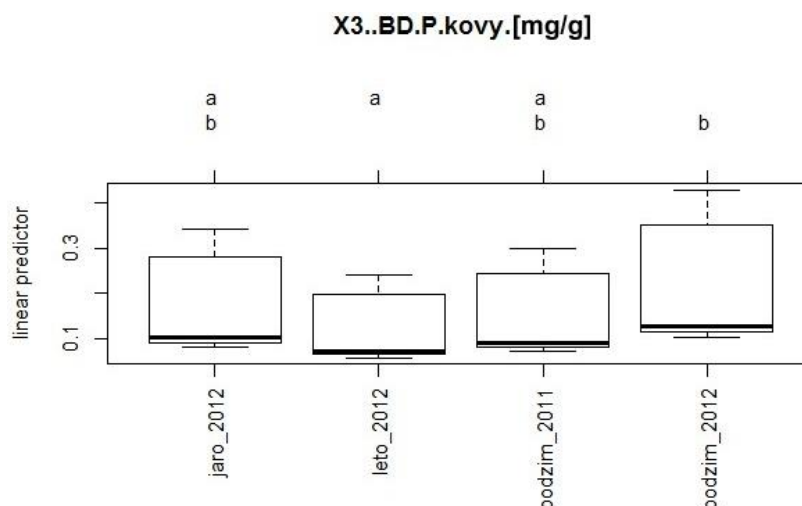
U jednotlivých kombinací období odběrů vzorků ukazují hodnoty koeficientu p menší než 0,05 v tabulce 33, na existující rozdílnost hodnot koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů, stanoveného metodami 3. BD a 4. BD.

Tabulka 33 Fosfor vázaný na oxidy kovů - Tukeyův test – metody vs. období

Období	Metody vs. období	
	3. BD vs. období p-hodnota	4. BD vs. období p-hodnota
leto_2012 - jaro_2012	0,402	0,151
podzim_2011 - jaro_2012	0,900	0,242
podzim_2012 - jaro_2012	0,514	0,087
podzim_2011 - leto_2012	0,800	0,010
podzim_2012 - leto_2012	0,031	0,991
podzim_2012 - podzim_2011	0,183	0,007

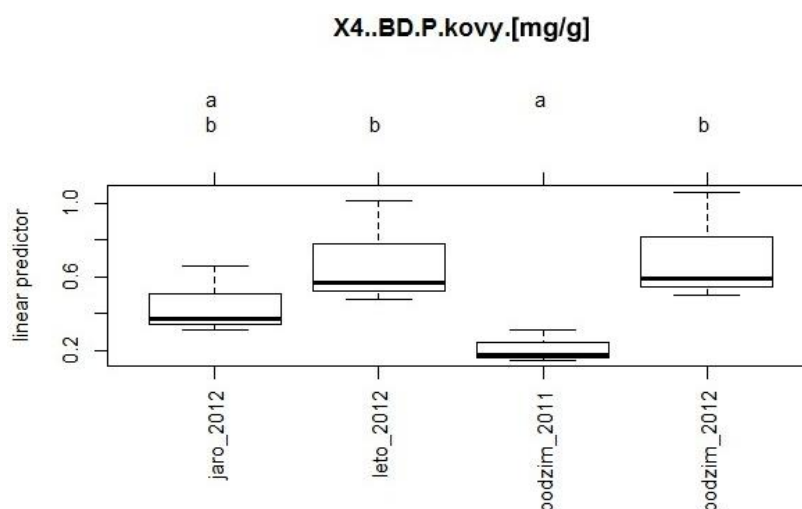
Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů, se výsledky koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovených jednotlivými metodami shodují kromě porovnání období podzim 2011 s létem 2012, podzim 2012 s létem 2012 a podzim 2012 s podzimem 2011. Výsledky Tukeyova HSD testu jsou zobrazeny také v následujících grafech 48 a 49.

Graf 48 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na kovy metodou 3. BD se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2012 s obdobím léto 2012 a podzim 2011.

Graf 49 Znáznornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD - období



Při hodnocení existence rozdílu naměřených hodnot koncentrací fosforu vázaného na kovy metodou 4. BD se prokázal rozdíl při porovnání období podzim 2011 s obdobím léto 2012 a podzim 2012.

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na koncentracích kovů

Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 34) prokázal závislost koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovených metodami 3. BD a 4. BD, na koncentraci železa a dále metodou 3. BD na koncentraci vápníku. Z korelačního grafu (příloha č. 9) v kapitole 11 jsou tyto lineární závislosti patrné.

Tabulka 34 Fosfor vázaný na oxidy kovů – závislost metody vs. kov

Analytické metody vs. kov			Ca [mg/g]	Fe [mg/g]
Spearman	3. BD	ρ	-0,424	0,472
		p-hodnota	0,004	0,001
	4. BD	ρ	-0,249	0,304
		p-hodnota	0,104	0,036

Maximální hodnota železa ve sledovaných sedimentech byla vysoká - 33,2 mg/g, proto bylo možné očekávat existující závislost stanovených koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů na koncentracích obou kovů. Pozitivní korelace fosforu vázaného na oxidy kovů byla shledána s koncentrací železa a negativní s koncentrací vápníku, což je v souladu s výsledky práce Liu et al. (2015).

Spearmanova korelace - závislost stanovených koncentrací fosforu na použité metodě
Stanovený Spearmanův korelační koeficient ρ (tabulka 35) prokázal závislost stanovených koncentrací fosforu vázaného na oxidy kovů mezi dvojicí analytických metod 3. BD a 4. BD. Z uvedeného lze konstatovat, že stanovení koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů analytickou metodou 3. BD je zaměnitelné s metodou 4. BD. Z korelačního grafu 50 je patrná lineární závislost.

Tabulka 35 Fosfor vázaný na oxidy kovů – srovnání analytických metod

Srovnání analytických metod			3. BD	4. BD
Spearman	3. BD	ρ	1	0,343
		p-hodnota	0	0,017
	4. BD	ρ	0,343	1
		p-hodnota	0,017	0

Rozdíl mezi metodou 3. BD a 4. BD, použitých pro stanovení fosforu vázaného na oxidy kovů, je zejména ve sloučeninách, na které byl fosfor navázán a z nichž se extrahuje. Metoda 3. BD uvádí oxidy hliníku a křemičitany, metoda 4. BD uvádí hydratované oxidy železa a hliníku, vázané v komplexech huminových látek s kovy, fosfor v organismech, včetně polyfosfátů a detritu. Používané extrakční činidlo je stejné, hydroxid sodný, který se pro metodu 3. BD používá v koncentraci 0,1 M NaOH, v metodě 4. BD se používá 1 M NaOH. Časová náročnost je 18 hodin + 30 minut na centrifugaci u metody 3. BD a 16 hodin + cca 10 minut na centrifugaci u metody 4. BD. Pro obě metody je potřebné shodné přístrojové vybavení, využívá se laboratorní homogenizátor a centrifuga pro odstředění kapalně a tuhé fáze. Rozdíly ve finanční náročnosti pro potřebné chemikálie jednotlivých metod jsou zanedbatelné. Technická náročnost obou metod je velmi podobná.

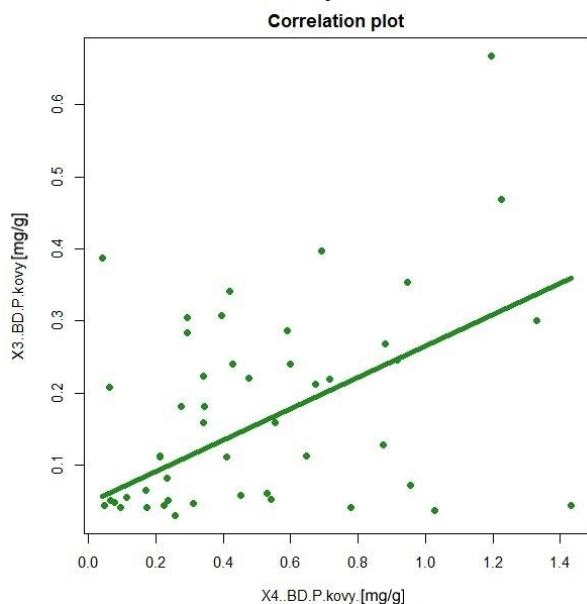
Hodnoty základní popisné statistiky metody 3. BD pro koncentraci fosforu vázaného na oxidy kovů (tabulka 12) jsou minimálně 2x nižší než hodnoty základní popisné statistiky pro koncentraci labilního fosforu metody 4. BD. Příčinu rozdílu těchto hodnot je možno vidět v rozdílném počtu promývání vzorku extraktantem, kdy se u metody 3. BD po

extrakci promývá vzorek jednou stejným extrakčním činidlem, následně ještě 2x destilovanou vodou, oproti metodě 3. BD se v metodě 4. BD vzorek jedenkrát extrahuje extrakčním činidlem. Rozdí mezi metodami 3. BD a 4. BD je také ve sloučeninách, z nichž se extrakce fosforu uvádí, jak je uvedeno výše.

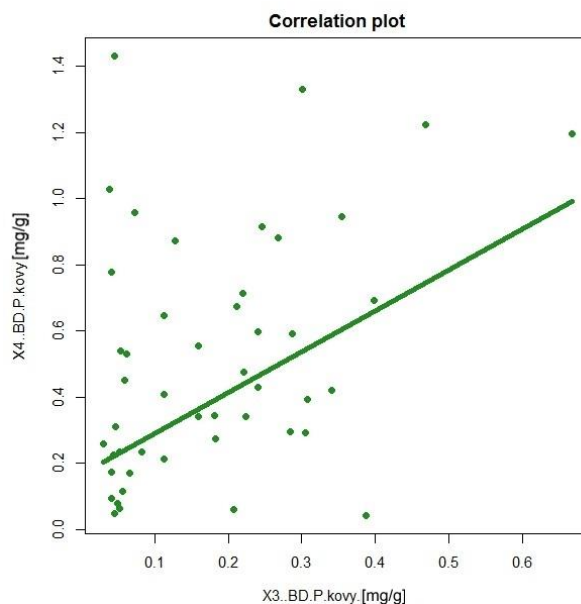
Theil-Senův odhad trendu

Následující korelační graf 50 také prokázal lineární závislost mezi analytickými metodami 3. BD a 4. BD.

Graf 50 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů



Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 3. BD na koncentraci fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 4. BD



Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 4. BD na koncentraci fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 3. BD

5.2.7 Jednotlivé formy fosforu v referenčním vzorku BCR-684

Znamé koncentrace jednotlivých forem fosforu referenčního vzorku, stanovené metodou SMT byly porovnávány se stanovenými koncentracemi jednotlivých forem fosforu téhož referenčního vzorku metodou 1. SMT.

Tabulka 36 Porovnání koncentrací forem fosforu v referenčním materiálu deklarovaných (SMT protokol) a změřených (1. SMT)

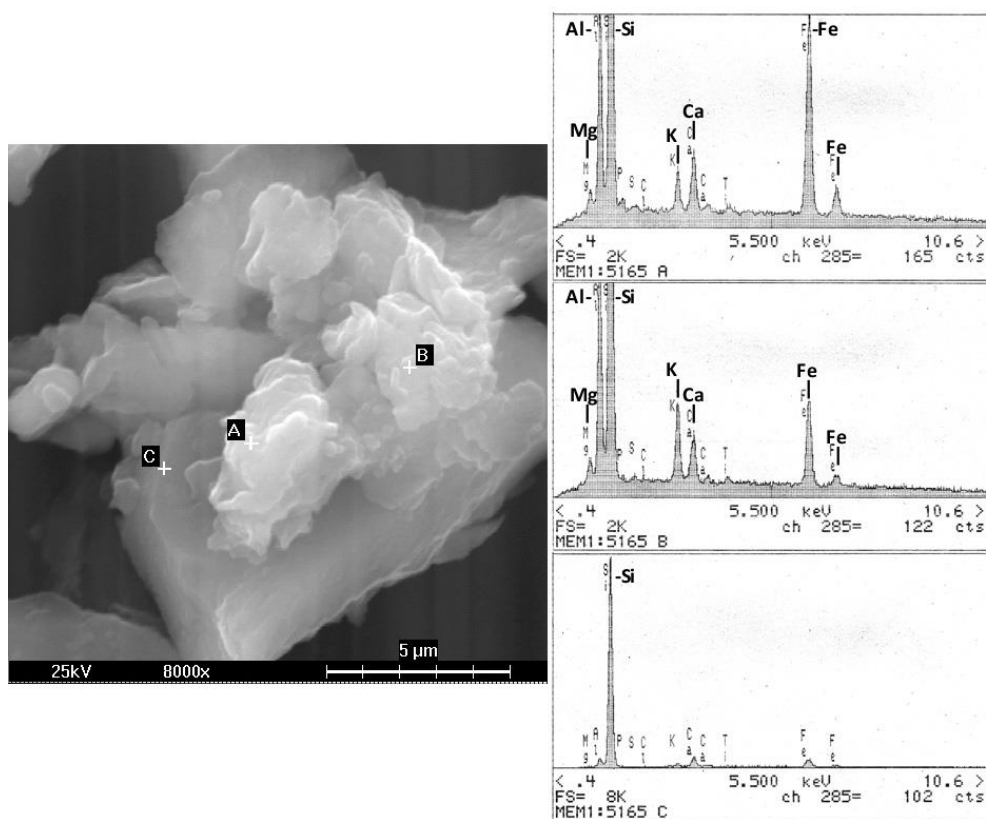
Forma fosforu v referenčním vzorku	1. SMT protokol [mg/g]	1. SMT [mg/g]	Rozdíl [%]
IP	1,113	1,017	8,531
OP	0,209	0,174	16,913
NAP	0,550	0,021	96,259
AP	0,536	0,463	13,698

Extrakce anorganického, organického, neapatitového i apatitového fosforu byla provedena analytickou metodou 1. SMT, která je doporučovaná Evropskou komisí. Touto metodou jsou stejné formy fosforu stanoveny i v certifikovaném referenčním sedimentu. Z porovnání procentuálního rozdílu mezi hodnotami stanovených koncentrací jednotlivých forem fosforu s referenční hodnotou koncentrace těchto forem fosforu je zřejmé, že nejmenší procentuální rozdíl ve výsledcích byl prokázán u formy anorganického fosforu, následovala koncentrace apatitového fosforu a koncentrace organického fosforu viz tabulka 36. Největší rozdíl byl prokázán mezi referenční hodnotou koncentrace neapatitového fosforu a stanovenou koncentrací neapatitového fosforu.

5.3 Analýzy složení vzorků sedimentů elektronovým mikroskopem

Stanovení obsahu vápníku a železa ve vzorku bylo provedeno ICP–OES. Jako doplňková analýza pro posouzení chemického složení sedimentů (prvkové složení jednotlivých částic) byla použita elektronová mikroskopie. Vzorek byl analyzován na elektronovém mikroskopu JEOL JSM 840 vybaveném EDS sondou (energie dispersní sonda) Link, umožňující identifikovat prvkové složení sledovaného místa. Obsah prvků v jednotlivých částicích analyzovaného vzorku umožnil identifikovat písčité a jílovité částice. Písčité částice se skládají především z SiO_2 , zatímco jílovité částice z prvků jako Mg, Al, Si, K, Ca, Fe. Ze součtu písčitých a jílovitých částic bylo vypočteno jejich procentuální zastoupení. Výsledkem analýzy je stanovení obsahu tzv. chemického jílu a chemického písku ve vzorku.

Ze snímků mikrostruktury jemných částic sedimentu (obr. 16 vlevo) je patrné, že písčité částice mají hladší strukturu než částice jílovité. Podle identifikovaných prvků (obr. 16 vpravo) bylo potvrzeno, zda se jedná o částici jílovitou či písčitou. Takto se postupovalo u každé analyzované částice všech sledovaných vzorků.

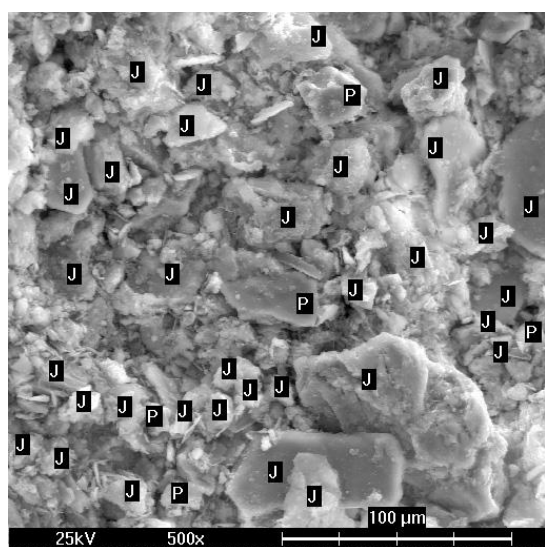


Obr. 16 – Analýza částic vzorku sedimentu z lokality Ludvíkov, zvětšení 8000 x

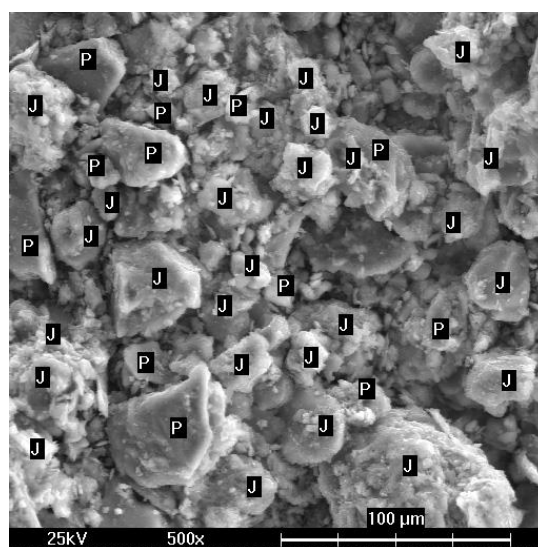
Z fotografie pořízené elektronovým mikroskopem (obr. 16) lze zjistit, že částice vzorku sedimentu z lokality Ludvíkov, označená písmenem A, je stejného typu jako částice B. Prvková analýza (grafy vpravo: částice A – horní graf, částice B – prostřední graf) ukazuje

velmi podobné složení jen s malými rozdíly v obsahu draslíku, vápníku a železa v různých oxidačních stupních. U částice C je možno již podle fotografie očekávat jiné složení, které je potvrzeno spodním grafem v obr. 16. Tato částice obsahuje především velké množství křemíku. Jedná se o částici písčitou, jak napovídá její hladká struktura, kterou se liší od jílovitých částic A a B.

Výše popsany způsob hodnocení byl použit pro každou částici označenou písmeny „J“ a „P“ uvedenou na obrázcích 17 a 18. Písmenem „J“ jsou označeny částice jílu, částice písku jsou označeny písmenem „P“. Je zřejmé, že podle velikosti částic nelze jednoznačně určit, zda jsou jílovité, či písčité. Na obr. 17 jsou větší částice jílovité. V levém dolním rohu obr. 18 se naproti tomu nachází větší částice, která je písčitá. Z vyhodnocení vzorků z lokality Hartmanice a Aušperský-Troubský p. vyplývá, že vzorek H1 (obr. 17) obsahuje značné množství jílu, zatímco vzorek T na obr. 18 má obsah jílu nižší.



Obr. 17 – Elektronový mikroskop - vzorek z lokality Hartmanice (H1)



Obr. 18 – Elektronový mikroskop - vzorek z lokality Aušperský-Troubský potok (T)

Stanovení koncentrace celkového fosforu ve vztahu k procentuálnímu zastoupení tzv. chemického jílu ve vzorku uvádí tabulka 37, kde jsou vzorky a lokality seřazeny sestupně dle obsahu chemického jílu.

Tabulka 37 Porovnání obsahu fosforu s chemickým jílem a pískem

Lokalita	Označení vzorku	Chem. jíl [%]	Chem. písek [%]	TP [mg/g]	Fe [mg/g]
Hartmanice	H1	87	13	2,41	31,1
Ludvíkov	Lu	84	16	1,74	32,8
Hartmanice	H2	78	22	1,55	30,4
Aušperský-Troubský p.	T	72	28	1,29	24,4
Leskava	Le1	69	31	2,02	10,4
Aušperský-Troubský p.	A	64	36	0,68	24,4
Leskava	Le2	61	39	1,23	10,1

Z tabulky č. 37 je patrné, že vzorky s největším obsahem chemického jílu obsahují také nejvyšší množství celkového fosforu. Obsah fosforu je nejvyšší ve vzorku H1, který zároveň obsahuje největší množství chemického jílu. Vzorky s menším obsahem chemického jílu obsahují menší množství celkového fosforu.

Stanovení koncentrace celkového fosforu ve vztahu k procentuálnímu zastoupení tzv. chemického písku ve vzorku uvádí také tabulka 37. Vzorek H1 s nejmenším obsahem chemického písku obsahuje největší množství celkového fosforu. Tato závislost je ve shodě s prací Choudhury F. A. (1988), podle níž koncentrace fosforu klesá s nárůstem hrubozrnnějších částic. Avšak při zohlednění obsahu dalších zrnitostních frakcí vzorku H1, bylo zjištěno, že mezi analyzovanými vzorky je jedním z nejhrubozrnnějších, u kterého by se tedy běžně předpokládala nízká koncentrace fosforu. To opět nasvědčuje tomu, že závislost mezi velikostí frakce a koncentrací fosforu není rozhodující.

Závislost koncentrace fosforu na obsahu chemického i fyzikálního jílu, a také chemického i fyzikálního písku, včetně zrnitostní křivky vzorků je dále uvedena v (Lagová et al., 2013). Ze stanovení složení sedimentů plyne, že pro obsah celkového fosforu v částicích sedimentů není rozhodující zrnitostní (fyzikální) složení vzorků, které se běžně stanovuje zrnitostními rozbory, ale zejména identifikace zastoupení prvků v částicích zkoumaných vzorků.

Wang et al. (2008b) zjistil, že obsah celkového fosforu, železa i hliníku vzrůstal se vzrůstajícím podílem jílu. Z výsledků uvedených v tabulce 37 se zdá, že toto tvrzení platí většinou i pro sedimenty sledovaných drobných vodních toků.

6 ZÁVĚR A PŘÍNOS DISERTAČNÍ PRÁCE PRO ROZVOJ VĚDNÍ DISCIPLÍNY

Disertační práce hodnotí analytické metody stanovení fosforu v sedimentech drobných vodních toků. Práce se zabývá modifikací metody mineralizace vzorku kyselinou sírovou a peroxidem vodíku ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$) za účelem stanovení koncentrace celkového fosforu. Spolu s touto modifikovanou metodou byly hodnoceny další tři metody stanovení koncentrace celkového fosforu. Jedná se o metodu SMTP, která je doporučena Evropskou komisí, metodu tavení s uhlíčitánem sodným a metodu mineralizace vzorku kyselinou sírovou. Na základě provedených statistických analýz koncentrací celkového fosforu, které byly stanoveny výše uvedenými metodami na 144 analyzovaných vzorcích reálných sedimentů, bylo zjištěno, že hodnocené mineralizační metody nejsou univerzální a při výběru metod pro stanovení celkového fosforu je vhodné brát v úvahu také složení sedimentů. Statistickým porovnáním koncentrace celkového fosforu, stanovené v referenčním vzorku sledovanými metodami s referenční hodnotou koncentrace celkového fosforu, se jeví jako efektivní pro analýzu celkového fosforu u většiny sedimentů metoda mineralizace vzorku pomocí $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$, která poskytla výsledky nejbližší referenční hodnotě.

Na základě provedeného srovnání testovaných metod za účelem stanovení celkového fosforu v sedimentech drobných vodních toků lze doporučit k využívání metodu $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$. Tato metoda je na základě předloženého modifikovaného experimentálního designu (koncentrovaná kyselina sírová, vysoká teplota digesce) snadná, bezpečná a oproti dalším metodám i časově nenáročná (rozklad vzorku trvá cca 15 minut).

Dále byly v práci stanoveny koncentrace labilního, apatitového, neapatitového, organického a anorganického fosforu a fosforu vázaného na kovy, celkově na 1008 analyzovaných vzorcích reálných sedimentů. Následně byly dosažené výsledky koncentrací vybraných forem fosforu, získaných s využitím různých frakcionačních metod, statisticky hodnoceny, za účelem ověření vhodnosti použití jednotlivých metod.

Labilní fosfor, apatitový fosfor a fosfor vázaný na železo byly extrahovány třemi metodami, fosfor vázaný na oxidy kovů dvěma metodami. Z výsledků provedené Spearmanovy korelační analýzy tedy vyplývá, že běžně používané metody nejsou univerzální a pro stanovení koncentrace těchto forem fosforu je vhodné volit různé analytické metody.

Pro extrakci labilního fosforu lze doporučit především metodu 2. EDTA (5-minutová extrakce deionizovanou vodou). Z výsledků extrakce apatitového fosforu vyplývá, že nelze jednoznačně doporučit jednu z ověřovaných metod 1. SMT (16-hodinová extrakce HCl 1 mol/l), 3. BD (1-hodinová extrakce HCl 0,5 mol/l), 4. BD (24-hodinová extrakce HCl 0,5 mol/l), protože mezi sebou nejsou zaměnitelné. Pro extrakci fosforu vázaného na železo lze doporučit především metodu 3. BD. Metody extrakce fosforu vázaného na oxidy kovů 3. BD a 4. BD jsou zaměnitelné, proto nelze na základě provedené statistické analýzy jednu z nich jednoznačně upřednostnit.

V práci byly dále za účelem rozšíření současných znalostí problematiky fosforu v říčních sedimentech sledovány také závislosti stanovené koncentrace fosforu na kovech (vápník, železo) jak pro jednotlivé formy fosforu, tak pro celkový fosfor. Dle předpokladů nebyla potvrzena lineární závislost stanovených koncentrací labilního fosforu i organického fosforu na koncentraci vápníku. Očekávaná lineární závislost stanovených koncentrací celkového fosforu na koncentraci vápníku se neprokázala pravděpodobně vzhledem k nízkému obsahu vápníku v sedimentech. Potvrzena byla lineární závislost koncentrace organické formy fosforu na koncentraci železa, což naznačuje, že by se tato forma mohla ze sedimentů např. v průběhu diagenese sedimentu za příznivých podmínek, jako jsou optimální hodnota pH, nebo množství $\text{Fe}(\text{OOH})$ v sedimentech, uvolňovat a snižovat tak kvalitu vody.

Dále byl také pomocí Tukeyova testu a Kruskal-Wallisova testu hodnocen vliv lokalit a vliv ročního období na koncentrace fosforu v sedimentech. Předpoklad, že ve vyšších nadmořských výškách budou nižší koncentrace fosforu, se potvrdil v polovině jednotlivých forem fosforu. Předpokládaná rozdílnost vzorků, odebraných v pramenné oblasti toku oproti vzorkům z částí toků níže po proudu, byla potvrzena u dvou statisticky testovaných dvojic lokalit, třetí dvojice lokalit nebyla potvrzena pravděpodobně z důvodu podobného charakteru sedimentů. Vliv období odběru vzorků na koncentrace fosforu byl pozorován zejména mezi statisticky testovanými dvojicemi období podzimu 2011 a léta 2012, a dále podzimu 2011 a podzimu 2012. Příčina pozorovaného vlivu byla shledána v zaznamenaném výskytu období meteorologického sucha (srpen 2011–květen 2012), které pravděpodobně bylo příčinou vyšších koncentrací fosforu v odebraných vzorcích.

Ve vzorcích sedimentů byly stanoveny a pozorovány vyšší koncentrace fosforu nejen v částech toku níže po proudu, ale i v pramenné oblasti toku, či lokalitě s vyšší nadmořskou výškou, kde se očekává nižší zatížení toku fosforem. Sedimenty trofizovaných toků jsou za zvýšených průtoků, jako je intenzivní srážková činnost, či vypouštění rybníků, vymývány a odnášeny do nižších částí povodí, kde jsou deponovány. Za příznivých podmínek tak mohou být zdrojem živin nejen ve vodních tocích, ale i ve vodních nádržích. Bylo by proto vhodné rozšířit normu environmentální kvality koncentrace celkového fosforu v povrchových vodách, danou stávajícím Nařízením vlády, také o doposud legislativně nestanovenou limitní koncentraci celkového fosforu v sedimentech.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

ADÁMEK, Zdeněk, Jan HELEŠIC, Blahoslav MARŠÁLEK a Martin RULÍK, 2008. *Aplikovaná hydrobiologie* [online]. B.m.: VÚRH JU Vodňany [vid. 17. říjen 2014]. ISBN 978-80-85887-79-2. Dostupné z: <https://is.muni.cz/publication/840495>

AHLGREN, I., 1976. Role of sediments in the process of recovery of a eutrophicated lake. In: *Interaction between Sediment and Freshwater. Proceedings of an International Symposium Held at Amsterdam, The Netherland*. The Hague.: Dr. W. Junk B. V. Publishers.

AMIARD, J.-C., B. Le ROUZIC, B. BERTHET a G. BERTRU, 2012. *Oceans, Rivers and Lakes: Energy and Substance Transfers at Interfaces: Proceedings of the Third International Joint Conference on Limnology and Oceanography held in Nantes, France, October 1996*. B.m.: Springer Science & Business Media. ISBN 9789401152662.

ANDERSEN, J. M., 1976. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *Water Research* [online]. roč. 10, č. 4, s. 329–331. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(76)90175-5

ASHRAF, M. P. a A. G. G. PILLAI, 2003. Changes in Phosphate fractions in prawn aquaculture systems at different stages of cropping [online]. [vid. 4. září 2014]. Dostupné z: <http://192.168.3.5/xmlui/handle/123456789/476>

BAKER, David B., 2011. *Trends in Bioavailable Phosphorus Loading at River Monitoring Stations: The Sources and Transport of Bioavailable Phosphorus to Lake Erie* [online]. Final report. Dostupné z: <http://www.heidelberg.edu/sites/default/files/jfuller/images/12%20Part%201%20Final%20Report%20text1.pdf>

BARKER, Kenneth W., Darwin L. SORENSEN, Jay C. ANDERSEN a Jean M. IHNAT, 1989. *Bear River Water Quality: Bioavailable Phosphorus Measurement, Sources, and Control* [online]. B.m.: Utah State University. Dostupné z: http://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1608&context=water_rep

BÍLIKOVÁ, A., 1992. Analýza sedimentov I. Metodika odberu a zistenie anorganických zložiek. In: *XXIX. seminár „Nové analytické metódy v chémii vody“: Hydrochémia 92* [online]. Bratislava: Výskumný ústav vodného hospodárstva v Bratislave. Dostupné z: http://www.vuvh.sk/download/kniznica/zborniky/zb_hydrochemia10/OBSAH_Hydrochemia_2010_web.pdf

BONIN, M.-C., 1990. *Fluxes between Trophic Levels and through the Water-Sediment Interface*. B.m.: Springer Science & Business Media. ISBN 9780792309611.

BOROVEC, J, 2000. *Chemical composition and phosphorus fractionation of sediments in the Bohemian Forest lakes*.

BOROVEC, Jakub, 2003. Uvolňování fosforu ze sedimentů - srovnání metod. In: Pavel HUCKO, ed. *Sedimenty vodných tokov a nádrží zborník prednášok z konferencie so zahraničnou účasťou: Bratislava, 15.-16. apríla 2003*. Bratislava: Slovenská vodohospodárska spoločnosť ZSVTS pri Výskumnom ústave vodného hospodárstva. ISBN 80-89062-20-2.

BOROVEC, Jakub a Josef HEJZLAR, 2010. Balance fosforu v povodí. In: *Cyanobakterie 2010: Cyanobakterie 2010 příčiny, důsledky a řešení rozvoje vodních květů sinic*. s. 41–42. ISBN 978-80-86188-33-1.

BOROVEC, J a J. HEJZLAR, 2003. Fosfor v sedimentech - frakcionace a sorpce, a jejich vztah ke složení sedimentů. In: *Sedimenty vodných toků a nádrží: Zborník přednášek z konferencie so zahraničnou účasťou Sedimenty vodných toků a nádrží* [online]. [vid. 9. duben 2015]. ISBN 80-89062-20-2. Dostupné z: http://www.library.sk/ar/cav/cs/detail-cav_un_epca-0150521-Fosfor-v-sedimentech-frakcionace-a-sorpce-a-jejich-vztah-ke-slozeni-sedimentu/

BOROVEC, J., J. JAN, J. HEJZLAR, J. KRÁSA a P. ROSENDORF, 2012. Eutrofizační potenciál erozních částic v nádržích. In: *Vodní nádrže 2012: Vodní nádrže 2012*. Brno: Povodí Moravy, s.p., Dřevařská 11, 601 75 Brno.

BUDÍKOVÁ, Marie, Maria KRÁLOVÁ a Bohumil MAROŠ, 2010. *Průvodce základními statistickými metodami* [online]. B.m.: Grada Publishing a.s. ISBN 9788024732435. Dostupné z: https://books.google.cz/books/about/Pr%C5%AFvodce_z%C3%A1kladn%C3%ADmi_statistick%C3%BDmi_me.html?hl=cs&id=PpDW3H96nJkC&redir_esc=y

CABRERA, F., E. DIAZ, C. G. TOCA a P. DE ARAMBARRI, 1982. A modification of the hydrogen peroxide method of determination of total phosphorus in natural waters. *Water Research* [online]. roč. 16, č. 6, s. 1061–1064 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(82)90042-2

CARTER, M. R. a E. G. GREGORICH, 2007. *Soil Sampling and Methods of Analysis, Second Edition*. B.m.: CRC Press. ISBN 9781420005271.

COELHO, J. P., M. R. FLINDT, H. S. JENSEN, A. I. LILLEBØ a M. A. PARDAL, 2004. Phosphorus speciation and availability in intertidal sediments of a temperate estuary: relation to eutrophication and annual P-fluxes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* [online]. 12., roč. 61, č. 4, s. 583–590 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0272-7714. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecss.2004.07.001

COLINA, M., H. LEDO, E. GUTIÉRREZ, E. VILLALOBOS a J. MARÍN, 1996. Determination of total phosphorus in sediments by means of high-pressure bombs and ion chromatography. *Journal of Chromatography A* [online]. 19.7., roč. 739, č. 1–2, International Ion Chromatography Symposium 1995, s. 223–227 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0021-9673. Dostupné z: doi:10.1016/0021-9673(96)00335-4

CRANWELL, P. A., C. S. REYNOLDS, A. J. LAWLOR a J. P. LISHMAN, 1995. *Sediment Analyses of Sensitive Cumbrian Lakes*. Institute of Freshwater Ecology Report T04050z1. Warrington: Institute of Freshwater Ecology Report - National Rivers Authority.

CYMBOLA, Jennifer, Mary OGDahl a Alan D. STEINMAN, 2008. Phytoplankton response to light and internal phosphorus loading from sediment release. *Freshwater Biology* [online]. 1.12., roč. 53, č. 12, s. 2530–2542 [vid. 3. říjen 2015]. ISSN 1365-2427. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2427.2008.02079.x

ČSN ISO 5667-12. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 12: Pokyny pro odběr vzorků dnových sedimentů*. Praha: Český normalizační institut, 1998. Třídící znak 75 7051.

ČSN ISO 5667-14. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 14: Pokyny k zabezpečování jakosti odběru vzorků vod a manipulace s nimi*. Praha: Český normalizační institut, 2001. Třídící znak 75 7051.

ČSN EN ISO 6878. *Jakost vod - Stanovení fosforu - Spektrofotometrická metoda s molybdenanem amonným* [online]. Praha: Český normalizační institut, 2005. Třídící znak 75 7465.

ČSN EN ISO 15681-1. *Jakost vod - Stanovení orthofosforečnanů a celkového fosforu průtokovou analýzou (FIA a CFA) - Část 1: Metoda průtokové injekční analýzy (FIA)*. Praha: Český normalizační institut, 2005. Třídící znak 75 7464.

ČSN EN ISO 15681-2. *Jakost vod - Stanovení orthofosforečnanů a celkového fosforu průtokovou analýzou (FIA a CFA). Část 2, Metoda kontinuální průtokové analýzy*. Praha: Český normalizační institut, 2005. Třídící znak 75 7051.

ČSN ISO 5667-1. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 1: Návod pro návrh programu odběru vzorků a pro způsoby odběru vzorků*. Praha: Český normalizační institut, 2007. Třídící znak 75 7051.

ČSN ISO 5667-6. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 6: Návod pro odběr vzorků z řek a potoků*. Praha: Český normalizační institut, 2008. Třídící znak 75 7051.

ČSN ISO 5667-15. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 15: Pokyny ke konzervaci a manipulaci se vzorky kalu a sedimentu*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2010. Třídící znak 75 7051.

ČSN ISO 5667-3. *Jakost vod - Odběr vzorků - Část 3: Konzervace vzorků vod a manipulace s nimi*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2013. Třídící znak 75 7051.

DAVIES, P. S., 1997. *Fluxes of phosphorus relevant to phytoplankton ecology*. 1997. B.m.: University of Leeds.

DICK, W. A. a M. A. TABATABAI, 1977. An Alkaline Oxidation Method for Determination of Total Phosphorus in Soils. *Soil Science Society of America Journal* [online]. roč. 41, č. 3, s. 511 [vid. 10. duben 2015]. ISSN 0361-5995. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj1977.03615995004100030015x

DITTRICH, Maria a Rainer KOSCHEL, 2002. Interactions between calcite precipitation (natural and artificial) and phosphorus cycle in the hardwater lake. *Hydrobiologia* [online]. 1.2., roč. 469, č. 1-3, s. 49–57 [vid. 27. květen 2015]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1023/A:1015571410442

DOSTÁL, Tomáš a Josef KRÁSA, 2010. Metody pro odhad transportu sedimentu ze zemědělských povodí do vodních toků a nádrží. In: *Cyanobakterie 2010: Cyanobakterie 2010 příčiny, důsledky a řešení rozvoje vodních květů sinic*. s. 43–52. ISBN 978-80-86188-33-1.

DRAKE, John C. a S. Ivan HEANEY, 1987. Occurrence of phosphorus and its potential remobilization in the littoral sediments of a productive English lake. *Freshwater Biology* [online]. roč. 17, č. 3, s. 513–523 [vid. 15. prosinec 2014]. ISSN 1365-2427. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2427.1987.tb01072.x

DURAS, Jindřich, 2007. Chování sedimentu mělké nádrže po aplikaci síranu hlinitého. In: Pavel HUCKO, ed. *Sedimenty vodních toků a nádrží zborník prednášok z [4.] konferencie so zahraničnou účasťou: Bratislava, 16.-17. mája 2007*. Bratislava: Slovenská vodohospodárska spoločnosť ZSVTS pri Výskumnom ústave vodného hospodárstva. ISBN 9788089062515.

ECK, G. T. M. van, 1982. Forms of phosphorus in particulate matter from the Hollands Diep/Haringvliet, The Netherlands. In: Peter G. SLY, ed. *Sediment/Freshwater Interaction* [online]. B.m.: Springer Netherlands, Developments in Hydrobiology, 9, s. 665–681 [vid. 20. květen 2015]. ISBN 978-94-009-8011-2, 978-94-009-8009-9. Dostupné z: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-8009-9_66

EUROPEAN COMMISSION, JOINT RESEARCH CENTRE, INSTITUTE FOR REFERENCE MATERIALS AND MEASUREMENTS, 2012. *Certified Reference Material BCR - 684* [online]. 3. červenec 2012. B.m.: EC-JRC-IRMM. Dostupné z: https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/rm/BCR-684_cert.pdf

EVANS, D. J., P. J. JOHNES a D. S. LAWRENCE, 2004. Physico-chemical controls on phosphorus cycling in two lowland streams. Part 2–The sediment phase. *Science of The Total Environment* [online]. 15.8., roč. 329, č. 1–3, s. 165–182 [vid. 1. září 2014]. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2004.02.023

FEDOTOV, Petr S., Nataliya G. VANIFATOVA, Valery M. SHKINEV a Boris Ya SPIVAKOV, 2011. Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 12.2., roč. 400, č. 6, s. 1787–1804 [vid. 9. duben 2015]. ISSN 1618-2642, 1618-2650. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-011-4704-1

FU, Yong-qing, Yi-yong ZHOU a Jian-qiu LI, 2000. Sequential fractionation of reactive phosphorus in the sediment of a shallow eutrophic lake - Donghu Lake, China. *Journal of Environmental Sciences* [online]. roč. 12, č. 1, s. 57–62 [vid. 20. květen 2015]. Dostupné z: http://d.wanfangdata.com.cn/NSTLQK_NSTL_QKJJ0214861738.aspx

FYTIANOS, K. a A. KOTZAKIOTI, 2005. Sequential fractionation of phosphorus in lake sediments of Northern Greece. *Environmental Monitoring and Assessment* [online]. 1., roč. 100, č. 1-3, s. 191–200 [vid. 4. srpen 2015]. ISSN 0167-6369, 1573-2959. Dostupné z: doi:10.1007/s10661-005-4770-y

GOLTERMAN, Han L., 2004. *The Chemistry of Phosphate and Nitrogen Compounds in Sediments* [online]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers [vid. 1. duben 2015]. ISBN 1-4020-1951-3. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/1-4020-2516-5>

GOLTERMAN, H. L., 1996. Fractionation of sediment phosphate with chelating compounds: a simplification, and comparison with other methods. *Hydrobiologia* [online]. 1.10., roč. 335, č. 1, s. 87–95 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1007/BF00013687

GONSIORCZYK, T., P. CASPER a R. KOSCHEL, 1998. *Phosphorus-binding forms in the sediment of an oligotrophic and an eutrophic hardwater lake of the Baltic Lake District (Germany)* [online] [vid. 4. srpen 2015]. Dostupné z: <http://www.iwaponline.com/wst/03703/wst037030051.htm>

GROOT, Cornelis-Jan De, 1990. Some remarks on the presence of organic phosphates in sediments. *Hydrobiologia* [online]. 1.11., roč. 207, č. 1, s. 303–309 [vid. 24. květen 2015]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1007/BF00041469

GROOT, Cornelis-Jan De a Carla Van WIJCK, 1993. The impact of desiccation of a freshwater marsh (Garcines Nord, Camargue, France) on sediment-water-vegetation interactions. *Hydrobiologia* [online]. 1.2., roč. 252, č. 1, s. 83–94 [vid. 22. duben 2015]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1007/BF00000130

HACH, C., 1989. *HACH Digesdahl Digestion Apparatus Instrument Manual*. 91, 1995-97, 1999 1989. B.m.: Hach U.S.A.

HARWOOD, J. E., R. A. VAN STEENDEREN a A. L. KÜHN, 1969. A comparison of some methods for total phosphate analyses. *Water Research* [online]. 6., roč. 3, č. 6, s. 425–432 [vid. 23. duben 2015]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(69)90004-9

HAVEL, Zdeněk, David CIHLÁŘ a Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem Katedra tělesné VÝCHOVY, 2011. *Vybrané neparametrické statistické postupy v antropomotorice*. B.m.: Univerzita J.E. Purkyně. ISBN 9788074144028.

HAYGARTH, P. M. a S. C. JARVIS, 1997. Soil derived phosphorus in surface runoff from grazed grassland lysimeters. *Water Research* [online]. 1., roč. 31, č. 1, s. 140–148 [vid. 1. září 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/S0043-1354(99)80002-5

HEATHWAITE, Louise, Phil HAYGARTH, Rachel MATTHEWS, Neil PREEDY a Patricia BUTLER, 2005. Evaluating colloidal phosphorus delivery to surface waters from diffuse agricultural sources. *Journal of Environmental Quality*. 2., roč. 34, č. 1, s. 287–298. ISSN 0047-2425.

HEJZLAR, Josef a Jakub BOROVEC, 2004. Fosfor ve vodních ekosystémech - formy, stanovení, koloběhy. In: *Cyanobakterie: biologie, toxikologie a možnosti nápravných opatření. Cyanobakterie: biologie, toxikologie a možnosti nápravných opatření*. Chrudim: Vodní zdroje EKOMONITOR, s. 85–95. ISBN 80-903203-8-4.

HIELTJES, Arnold H. M. a Lambertus LIJLEMA, 1980. Fractionation of Inorganic Phosphates in Calcareous Sediments. *Journal of Environment Quality* [online]. roč. 9, č. 3, s. 405 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 0047-2425. Dostupné z: doi:10.2134/jeq1980.00472425000900030015x

HLAVÍNEK, Petr, J. MIČÍN a Petr PRAX, 2003. *Stokování a čištění odpadních vod*. B.m.: CERM. ISBN 80-214-2535-0.

HOLUBEC, Miroslav, 2005. Vplyv sedimentov na kvalitu vody. In: Pavel HUCKO, ed. *Sedimenty vodných tokov a nádrží zborník prednášok z konferencie so zahraničnou účasťou: Bratislava, 11.-12. mája 2005*. Bratislava: Slovenská vodohospodárska spoločnosť ZSVTS pri Výskumnom ústave vodného hospodárstva. ISBN 80-89062-41-5.

HORÁKOVÁ, Marta, 1986. *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. B.m.: SNTL.

HORÁKOVÁ, Marta, 2007. *Analytika vody* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT [vid. 17. prosinec 2014]. ISBN 9788070805206. Dostupné z: <http://www.martinus.sk/?uitem=94187>

HOSOMI, Masaaki, Mitsumasa OKADA a Ryuichi SUDO, 1982. Release of phosphorus from lake sediments. *Environment International* [online]. roč. 7, č. 2, Management of Bottom Sediments Containing Toxic Substances, s. 93–98 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0160-4120. Dostupné z: doi:10.1016/0160-4120(82)90078-2

HOUSE, William A., 2003. Geochemical cycling of phosphorus in rivers. *Applied Geochemistry* [online]. 5., roč. 18, č. 5, s. 739–748 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 0883-2927. Dostupné z: doi:10.1016/S0883-2927(02)00158-0

HOUSE, William A a Frank H DENISON, 2002. Total phosphorus content of river sediments in relationship to calcium, iron and organic matter concentrations. *Science of The Total Environment* [online]. 23.1., roč. 282–283, Water quality functioning of lowland permeable catchments: inferences from an intensive study of the River Kennet and upper River Thames, s. 341–351 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/S0048-9697(01)00923-8

HUPFER, M., R. GÄCHTER a R. GIOVANOLI, 1995. Transformation of phosphorus species in settling seston and during early sediment diagenesis. *Aquatic Sciences* [online]. 1.12., roč. 57, č. 4, s. 305–324 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 1015-1621, 1420-9055. Dostupné z: doi:10.1007/BF00878395

HUPFER, Michael a Jörg LEWANDOWSKI, 2008. Oxygen Controls the Phosphorus Release from Lake Sediments – a Long-Lasting Paradigm in Limnology. *International Review of Hydrobiology* [online]. 1.10., roč. 93, č. 4-5, s. 415–432 [vid. 21. duben 2015]. ISSN 1522-2632. Dostupné z: doi:10.1002/iroh.200711054

HUPFER, Michael, Bernhard RUÜBE a Peter SCHMIEDER, 2004. Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: A ^{31}P -NMR study. *Limnology and Oceanography* [online]. 1.1., roč. 49, č. 1, s. 1–10 [vid. 10. srpen 2015]. ISSN 1939-5590. Dostupné z: doi:10.4319/lo.2004.49.1.0001

HUPFER, Michael, Dominik ZAK, Reingard ROBBBERG, Christiane HERZOG a Rosemarie PÖTHIG, 2009. Evaluation of a well-established sequential phosphorus fractionation technique for use in calcite-rich lake sediments: identification and prevention of artifacts due to apatite formation. *Limnology and Oceanography: Methods* [online]. 1.6., roč. 7, č. 6, s. 399–410 [vid. 10. srpen 2015]. ISSN 1541-5856. Dostupné z: doi:10.4319/lom.2009.7.399

HWANG, C. P., 1977. Inorganic phosphorus fractionations in blackstrap lake sediments. *Water Research* [online]. roč. 11, č. 10, s. 945–946 [vid. 31. říjen 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(77)90081-1

HYDROPROJEKT, 2007. *Celkový fosfor - stanovení celkového fosforu* [online]. 2007. B.m.: CENIA a Ministerstvo životního prostředí (2007). Dostupné z: http://www.irz.cz/dokumenty/irz/metody_mereni/voda/celkovy_fosfor.pdf

CHANG, S. C. a M. L. JACKSON, 1957. Fractionation of soil phosphorus. *Soil Science* [online]. 8., roč. 84, č. 2, s. 133–144 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 0038-075X. Dostupné z: doi:10.1097/00010694-195708000-00005

CHEN, Ming, Samira H. DAROUB a Viviana NADAL, 2006. Comparison of Two Digestion Methods for Determining Total Phosphorus in Farm Canal Water. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* [online]. 1.6., roč. 37, č. 15-20, s. 2351–2363 [vid. 13. srpen 2015]. ISSN 0010-3624. Dostupné z: doi:10.1080/00103620600819842

CHOUDHURY F. A., 1988. Distribution of total, inorganic and organic phosphate with respect to soil particle size. *Thai J. Agric. Sci.* 4., č. 21, s. 149–155.

JACKSON, M. L., 1959. Soil chemical analysis. *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde* [online]. roč. 85, č. 3, s. 251–252 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 1522-2624. Dostupné z: doi:10.1002/jpln.19590850311

JAN, Jiří, Jakub BOROVEC, Jiří KOPÁČEK a Josef HEJZLAR, 2013. What do results of common sequential fractionation and single-step extractions tell us about P binding with Fe and Al compounds in non-calcareous sediments? *Water Research* [online]. 1.2., roč. 47, č. 2, s. 547–557 [vid. 14. říjen 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2012.10.053

JARVIE, Helen P, Colin NEAL, Richard J WILLIAMS, Margaret NEAL, Heather D WICKHAM, Linda K HILL, Andrew J WADE, Alan WARWICK a John WHITE, 2002. Phosphorus sources, speciation and dynamics in the lowland eutrophic River Kennet, UK. *Science of The Total Environment* [online]. 23.1., roč. 282–283, Water quality functioning of lowland permeable catchments: inferences from an intensive study of the River Kennet and upper River Thames, s. 175–203 [vid. 5. listopad 2014]. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/S0048-9697(01)00951-2

JENNINGS, D. H., 1964. Changes in the Size of Orthophosphate Pools in Mycorrhizal Roots of Beech with Reference to Absorption of the Ion from the External Medium. *New Phytologist* [online]. roč. 63, č. 2, s. 181–193 [vid. 18. prosinec 2014]. ISSN 1469-8137. Dostupné z: doi:10.1111/j.1469-8137.1964.tb07370.x

JENSEN, Henning Skovgaard a Bo THAMDRUP, 1993. Iron-bound phosphorus in marine sediments as measured by bicarbonate-dithionite extraction. *Hydrobiologia* [online]. 1.3., roč. 253, č. 1-3, s. 47–59 [vid. 24. květen 2015]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1007/BF00050721

JENSEN, Henning S., K. J. MCGLATHERY, R. MARINO a R. W. HOWARTH, 1998. Forms and availability of sediment phosphorus in carbonate sand of Bermuda seagrass beds. *Limnology and Oceanography* [online]. roč. 43, č. 5 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 0024-3590. Dostupné z: <http://findresearcher.sdu.dk:8080/portal/en/publications/forms-and-availability-of-sediment-phosphorus-in-carbonate-sand-of-bermuda-seagrass-beds%284e5a4570-1e1c-11de-ae62-000ea68e967b%29/export.html>

JOHNSON, Gregory C. a M. W. TREECE, 1998. *Phosphorus in streams of the upper Tennessee River basin, 1970-93* [online]. Nashville, Tenn.: U.S. Dept. of the Interior, U.S. Geological Survey ; Dostupné z: <http://pubs.usgs.gov/of/1998/ofr98-532/>

KAISERLI, A, D VOUTSA a C SAMARA, 2002. Phosphorus fractionation in lake sediments – Lakes Volvi and Koronia, N. Greece. *Chemosphere* [online]. 3., roč. 46, č. 8, s. 1147–1155 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/S0045-6535(01)00242-9

KALINA, J., K. SLOUPOVÁ a M. VERTÉŠI, 2014. Theil-Senova regrese. *Správným směrem* [online]. Dostupné z: <http://spravnym.smerem.cz/tema/Theil-Senova%20regrese>

KARA, D., C. OZSAVAŞCI a M. ALKAN, 1997. Investigation of suitable digestion methods for the determination of total phosphorus in soils. *Talanta*. 11., roč. 44, č. 11, s. 2027–2032. ISSN 0039-9140.

KATSAOUNOS, Christos Z., Dimosthenis L. GIOKAS, Ioannis D. LEONARDOS a Miltiades I. KARAYANNIS, 2007a. Speciation of phosphorus fractionation in river sediments by explanatory data analysis. *Water Research* [online]. 1., roč. 41, č. 2, s. 406–418 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2006.10.028

KATSAOUNOS, Christos Z., Dimosthenis L. GIOKAS, Athanasios G. VLESSIDIS a Miltiades I. KARAYANNIS, 2007b. Identification of longitudinal and temporal patterns of phosphorus fractionation in river sediments by non-parametric statistics and pattern recognition techniques. *Desalination* [online]. 15.7., roč. 213, č. 1–3, New Water Culture of South East European Countries-AQUA 200521–23 October 2005, Athens, Greece, s. 311–333 [vid. 12. srpen 2015]. ISSN 0011-9164. Dostupné z: doi:10.1016/j.desal.2006.04.090

KERR, J. G., M. BURFORD, J. OLLEY a J. UDY, 2010. The effects of drying on phosphorus sorption and speciation in subtropical river sediments. *Marine and Freshwater Research* [online]. roč. 61, č. 8, s. 928–935 [vid. 2. říjen 2014]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1071/MF09124>

KLEEBERG, Andreas, Christiane HERZOG, Sylvia JORDAN a Michael HUPFER, 2010. What drives the evolution of the sedimentary phosphorus cycle? *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* [online]. 5., roč. 40, č. 2, From Daphnia to Very Acidic Lakes - Ecological and Abiotic Processes. Dedicated to Prof. Dr. Walter Geller on the occasion of his 65th birthday anniversary., s. 102–113 [vid. 10. srpen 2015]. ISSN 0075-9511. Dostupné z: doi:10.1016/j.limno.2009.11.001

KOPÁČEK, J. a J. HEJZLAR, 1991. Semimikrostanovení rozpuštěného reaktivního a veškerého fosforu ve vodách. In: *Sborník konference Hydrochémiá '91* [online]. Bratislava: CSVTS VÚVH Bratislava, s. 72–98. Dostupné z: http://www.vuvh.sk/download/kniznica/zborniky/zb_hydrochemia10/OBSAH_Hydrochemia_2010_web.pdf

KOPÁČEK, J. a J. HEJZLAR, 1992. Semimikrostanovení veškerého nerozpuštěného fosforu ve vodě. In: *XXIX. seminár „Nové analytické metódy v chémii vody“: Hydrochémia 92* [online]. Bratislava: Výskumný ústav vodného hospodárstva v Bratislave. Dostupné z: http://www.vuvh.sk/download/kniznica/zborniky/zb_hydrochemia10/OBSAH_Hydrochemia_2010_web.pdf

KOPÁČEK, J. a J. HEJZLAR, 1993. Semi-Micro Determination of Total Phosphorus in Fresh Waters with Perchloric Acid Digestion. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* [online]. 1.10., roč. 53, č. 3, s. 173–183 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0306-7319. Dostupné z: doi:10.1080/03067319308045987

KOVAR, John L. a G. M. PIERZYNSKI, ed., 2009. *Methods of Phosphorus Analysis for Soils, Sediments, Residuals, and Waters* [online]. červen 2009. Dostupné z: http://www.sera17.ext.vt.edu/Documents/P_Methods2ndEdition2009.pdf

KUO, S., 1996. Phosphorus. *Methods of soil analysis. Part 3 - chemical methods*. s. 869–920.

LAGOVÁ, Marcela a Jitka MALÁ, 2011. Modified digestion method of total phosphorus determination in river sediments. *Chem. Listy* [online]. roč. 105, s. s871 – s1072. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_18_s871-s1072.pdf

LAGOVÁ, Marcela, Jitka MALÁ, František PAVLÍK a Patrik BAYER, 2013. Fosfor v sedimentech drobných vodních toků ve vztahu k jejich zrnitostnímu složení. *Vodní hospodářství*. roč. 63 (6/2013), č. 6-2013, s. 182–186. ISSN 1211-0760.

LAI, Derrick Yuk Fo a Kin Che LAM, 2008. Phosphorus retention and release by sediments in the eutrophic Mai Po Marshes, Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin* [online]. roč. 57, č. 6–12, 5th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology, s. 349–356 [vid. 21. říjen 2014]. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2008.01.038

LAMARRA, V. A. Jr, 1975. Digestive activities of carp as a major contributor to the nutrient loading of lakes [online]. [vid. 16. prosinec 2014]. Dostupné z: <http://repositories.tdl.org/tamug-ir/handle/1969.3/26224>

LIJKLEMA, Lambertus., 1980. Interaction of orthophosphate with iron(III) and aluminum hydroxides. *Environmental Science & Technology* [online]. 5., roč. 14, č. 5, s. 537–541 [vid. 27. květen 2015]. ISSN 0013-936X, 1520-5851. Dostupné z: doi:10.1021/es60165a013

LIN, Chunye, Zhigang WANG, Mengchang HE, Yanxia LI, Ruimin LIU a Zhifeng YANG, 2009. Phosphorus sorption and fraction characteristics in the upper, middle and low reach sediments of the Daliao river systems, China. *Journal of Hazardous Materials* [online]. 15.10., roč. 170, č. 1, s. 278–285. ISSN 1873-3336. Dostupné z: doi:10.1016/j.jhazmat.2009.04.102

LIU, Jinyong, Hui WANG, Haijun YANG, Yanjun MA a Ouchen CAI, 2009. Detection of phosphorus species in sediments of artificial landscape lakes in China by fractionation and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Environmental Pollution* [online]. 1., roč. 157, č. 1, s. 49–56 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2008.07.031

LIU, Qi, Shiliang LIU, Haidi ZHAO, Li DENG, Cong WANG, Qinghe ZHAO a Shikui DONG, 2015. The phosphorus speciations in the sediments up- and down-stream of cascade dams along the middle Lancang River. *Chemosphere* [online]. 2., roč. 120, s. 653–659 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2014.10.012

MACK, Alex R. a Stanley A. BARBER, 1960. Influence of Temperature and Moisture on Soil Phosphorus I. Effect on Soil Phosphorus Fractions1. *Soil Science Society of America Journal* [online]. roč. 24, č. 5, s. 381 [vid. 9. duben 2015]. ISSN 0361-5995. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj1960.03615995002400050022x

MAKAROV, M. I., L. HAUMAIER, W. ZECH a T. I. MALYSHEVA, 2004. Organic phosphorus compounds in particle-size fractions of mountain soils in the northwestern Caucasus. *Geoderma* [online]. s. 101–114. ISSN 0016-7061. Dostupné z: doi:10.1016/S0016-7061(03)00187-3

MALÁ, Jitka a Marcela LAGOVÁ, 2014. Comparison of digestion methods for determination of total phosphorus in river sediments. *Chemical Papers* [online]. 1.8., roč. 68, č. 8, s. 1015–1021 [vid. 1. září 2014]. ISSN 0366-6352, 1336-9075. Dostupné z: doi:10.2478/s11696-014-0555-5

MALÝ, Josef, 1985. Beitrag zur Phosphorbestimmung im Klärschlamm. *Acta hydrochimica et hydrobiologica* [online]. roč. 13, č. 2, s. 137–147. Dostupné z: doi:10.1002/aheh.19850130202

MANAHAN, Stanley E., 2010. *Environmental Chemistry, Ninth Edition* [online]. 9th ed. B.m.: CRC Press [vid. 17. říjen 2014]. ISBN 978-1-4200-5920-5. Dostupné z: <http://www.crcpress.com/product/isbn/9781420059205>

MANNING, Philip G., Thomas BIRCHALL a William JONES, 1984. The partitioning of non-apatite inorganic phosphorus in sediments from lakes Erie and Ontario. *The Canadian Mineralogist* [online]. 1.5., roč. 22, č. 2, s. 357–365 [vid. 22. září 2015]. ISSN 0008-4476, 1499-1276. Dostupné z: <http://www.canmin.org/content/22/2/357>

MARŠÁLEK, Blahoslav, 2010. Náhled nad opatřeními v povodí: prevence vnosu a recyklace fosforu, defragmentace zájmu a široká spolupráce. In: *Cyanobakterie 2010: Cyanobakterie 2010 příčiny, důsledky a řešení rozvoje vodních květů sinic*. s. 11–13. ISBN 978-80-86188-33-1.

MARŠÁLEK, Blahoslav, Vladimír KERŠNER a Petr MARVAN, 1996. *Vodní květy sinic*. Maršálek, Keršner, Marvan. Brno: Nadatio flos-aquae, 1996. účelová neperiodická publikace.

MARŠÁLKOVÁ, Eliška a Blahoslav MARŠÁLEK, 2010. Myčky na nádobí jako důležitý zdroj fosforu v komunálních vodách. In: *Cyanobakterie 2010: Cyanobakterie 2010 příčiny, důsledky a řešení rozvoje vodních květů sinic*. s. 30–32. ISBN 978-80-86188-33-1.

MCDANIEL, Marshall D., Mark B. DAVID a Todd V. ROYER, 2009. Relationships between benthic sediments and water column phosphorus in Illinois streams. *Journal of Environmental Quality* [online]. 4., roč. 38, č. 2, s. 607–617. ISSN 0047-2425. Dostupné z: doi:10.2134/jeq2008.0094

MCDOWELL, R. W. a A. N. SHARPLEY, 2001. A Comparison of Fluvial Sediment Phosphorus (P) Chemistry in Relation to Location and Potential to Influence Stream P Concentrations. *Aquatic Geochemistry* [online]. 1.12., roč. 7, č. 4, s. 255–265 [vid. 5. listopad 2014]. ISSN 1380-6165, 1573-1421. Dostupné z: doi:10.1023/A:1015274426411

MEIS, Sebastian, Bryan M. SPEARS, Stephen C. MABERLY, Michael B. O'MALLEY a Rupert G. PERKINS, 2012. Sediment amendment with Phoslock® in Clatto Reservoir (Dundee, UK): Investigating changes in sediment elemental composition and phosphorus fractionation. *Journal of Environmental Management* [online]. 1., roč. 93, č. 1, s. 185–193 [vid. 1. září 2014]. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2011.09.015

MHAMDI, Mohamed Alaoui, Lotfi ALEYA a Jean DEVAUX, 1994. Phosphorus exchanges between sediment and water in trophically different reservoirs. *Water Research* [online]. 9., roč. 28, č. 9, s. 1971–1980. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(94)90172-4

MOORE, A. a K. R. REDDY, 1994. Role of Eh and pH on Phosphorus Geochemistry in Sediments of Lake Okeechobee, Florida. *Journal of Environment Quality* [online]. roč. 23, č. 5, s. 955 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 0047-2425. Dostupné z: doi:10.2134/jeq1994.00472425002300050016x

MURPHY, J. a J. P. RILEY, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* [online]. roč. 27, s. 31–36 [vid. 25. listopad 2014]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(00)88444-5

Nařízení vlády č. 61/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů O ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod. In *Sbírka zákonů České republiky*. Dostupné z: http://www.mzp.cz/cz/pripustne_znecistení_vod_narizení. 2003, částka 24, s. 898.

NICHOLLS, Kenneth H., 1975. A single digestion procedure for rapid manual determinations of Kjeldahl nitrogen and total phosphorus in natural waters. *Analytica Chimica Acta* [online]. 5., roč. 76, č. 1, s. 208–212 [vid. 23. duben 2015]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(01)82004-3

NOLLET, Leo M. L. a Leen S. P. De GELDER, 2000. *Handbook of Water Analysis*. B.m.: CRC Press. ISBN 9780849384868.

OLSEN, S. R., 1954. *Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate* [online] [vid. 24. květen 2015]. Dostupné z: <https://archive.org/details/estimationofavai939olse>

OLUYEDUN, O. A., S. O. AJAYI, G. W. VANLOON a P. SLY, 1993. Sedimentary Phosphorus in the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* [online]. 1.1., roč. 50, č. 1, s. 190–197 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0706-652X. Dostupné z: doi:10.1139/f93-021

OSTROFSKY, M. L., 2012. Determination of total phosphorus in lake sediments. *Hydrobiologia* [online]. roč. 696, s. 199–203. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1007/s10750-012-1208-8

PAGLIOSA, Paulo Roberto, Alessandra FONSECA, Gláucia E. BOSQUILHA, Elisabete S. BRAGA a Francisco Antonio Rodrigues BARBOSA, 2005. Phosphorus dynamics in water and sediments in urbanized and non-urbanized rivers in Southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin* [online]. 9., roč. 50, č. 9, s. 965–974 [vid. 12. srpen 2015]. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:10.1016/j.marpolbul.2005.04.005

PANT, H. K. a K. R. REDDY, 2001. Phosphorus sorption characteristics of estuarine sediments under different redox conditions. *Journal of Environmental Quality*. 8., roč. 30, č. 4, s. 1474–1480. ISSN 0047-2425.

PARDO, Patricia, Gemma RAURET a José Fermín LÓPEZ-SÁNCHEZ, 2004. Shortened screening method for phosphorus fractionation in sediments: A complementary approach to the standards, measurements and testing harmonised protocol. *Analytica Chimica Acta* [online]. 22.4., roč. 508, č. 2, s. 201–206 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2003.11.005

PARDO, P, J. F LÓPEZ-SÁNCHEZ a G RAURET, 1998. Characterisation, validation and comparison of three methods for the extraction of phosphate from sediments. *Analytica Chimica Acta* [online]. 11.12., roč. 376, č. 2, s. 183–195 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(98)00532-7

PARDO, P., J. F. LÓPEZ-SÁNCHEZ a G. RAURET, 2003a. Relationships between phosphorus fractionation and major components in sediments using the SMT harmonised extraction procedure. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 1.5., roč. 376, č. 2, s. 248–254 [vid. 4. září 2014]. ISSN 1618-2642, 1618-2650. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-003-1897-y

PARDO, P., G. RAURET a J. F. LÓPEZ-SÁNCHEZ, 2003b. Analytical approaches to the determination of phosphorus partitioning patterns in sediments. *Journal of environmental monitoring: JEM*. 4., roč. 5, č. 2, s. 312–318. ISSN 1464-0325.

PARDO, P., J. F. LÓPEZ SÁNCHEZ, G. RAURET, V. RUBAN, H. MUNTAU a Ph QUEVAUVILLER, 1999. Study of the stability of extractable phosphate content in a candidate reference material using a modified Williams extraction procedure. *Analyst* [online]. 1.1., roč. 124, č. 3, s. 407–411 [vid. 24. květen 2015]. ISSN 1364-5528. Dostupné z: doi:10.1039/A808693A

PEDERSEN, Rikard, 2008. *Fosforfraksjoner i jord og sedimenter*. B.m. Masteroppgave. Universitetet for miljø- og biovitenskap, institutt for plante- og miljøvitenskap.

PITTER, Pavel, 1999. *Hydrochemie*. B.m.: Vydavatelství VŠCHT. ISBN 9788070803400.

PIVNIČKA, Karel a Martin BRANIŠ, 1995. *Úvod do studia životního prostředí*. Praha: Univerzita Karlova, vydavatelství Karolinum. ISBN 80-7066-945-4.

POLÁKOVÁ, Š., L. KUBÍK, K. HUTAŘOVÁ, J. HOUČEK, S. MALÝ, J. FIALA a D. REININGER, 2012. *Kontrola a monitoring cizorodých látek v potravních řetězcích - zpráva ÚKZÚZ za rok 2010* [online]. [vid. 31. březen 2015]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/236519/KMCL2011_text.pdf

PSENNER, R. a R. PUCSKO, 1988. Phosphorus fractionation: advantages and limits of the method for the study of sediment P origins and interactions. *Ergebnisse der Limnologie*. 2., roč. 1988, č. 30, s. 43–59.

QIU, Song a Arthur MCCOMB, 2000. Properties of sediment phosphorus in seven wetlands of the Swan Coastal Plain, South-Western Australia. *Wetlands* [online]. 1.6., roč. 20, č. 2, s. 267–279 [vid. 24. květen 2015]. ISSN 0277-5212, 1943-6246. Dostupné z: doi:10.1672/0277-5212(2000)020[0267:POSPIS]2.0.CO;2

RACEK, Jaroslav, 2006. *Klinická biochemie* [online]. B.m.: Galén [vid. 15. červenec 2015]. ISBN 8072623249. Dostupné z: <http://www.galen.cz/idistik/vydav/?module=katalog&page%5Bbook%5D=2166>

REDDY, K. R., R. H. KADLEC, E. FLAIG a P. M. GALE, 1999. Phosphorus Retention in Streams and Wetlands: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* [online]. 1.1., roč. 29, č. 1, s. 83–146 [vid. 2. říjen 2014]. ISSN 1064-3389. Dostupné z: doi:10.1080/10643389991259182

REYNOLDS, C. S. a P. S. DAVIES, 2001. Sources and bioavailability of phosphorus fractions in freshwaters: a British perspective. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*. 2., roč. 76, č. 1, s. 27–64. ISSN 1464-7931.

RIBEIRO, D. C., G. MARTINS, R. NOGUEIRA, J. V. CRUZ a A. G. BRITO, 2008. Phosphorus fractionation in volcanic lake sediments (Azores – Portugal). *Chemosphere* [online]. 1., roč. 70, č. 7, s. 1256–1263 [vid. 21. říjen 2014]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2007.07.064

RIGLER, F. H., 1968. Further observations inconsistent with the hypothesis that the molybdenum blue method measures orthophosphate in lake water. *Limnology and Oceanography* [online]. roč. 13, č. 1, s. 7–13 [vid. 25. listopad 2014]. ISSN 00243590. Dostupné z: doi:10.4319/lo.1968.13.1.0007

RILEY, E. T. a E. E. PREPAS, 1984. Role of Internal Phosphorus Loading in Two Shallow, Productive Lakes in Alberta, Canada. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* [online]. 1.6., roč. 41, č. 6, s. 845–855 [vid. 3. prosinec 2014]. ISSN 0706-652X. Dostupné z: doi:10.1139/f84-101

ROS, Joandomènec a Narcis Prat i FORNELLS, 1992. *Homage to Ramon Margalef, Or, Why There is Such Pleasure in Studying Nature*. B.m.: Edicions Universitat Barcelona. ISBN 9788447500192.

ROZKOŠNÝ, Miloš, 2006. *Hodnocení výsledků projektu „Stop Fosfátům“* [online]. 2006. B.m.: Centrum Veronica hostětín. Dostupné z: http://www.veronica.cz/?id=578&f=studie_VUV.pdf

RUBAN, V., J. F. LÓPEZ-SÁNCHEZ, Patricia PARDO, Gemma RAURET, H. MUNTAU a Ph QUEVAUVILLER, 1999. Selection and evaluation of sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in lake sediment. *J. Environ. Monit.* [online]. č. 1, s. 51–56. Dostupné z: doi:10.1039/A807778I

RUBAN, V., J. F. LÓPEZ-SÁNCHEZ, P. PARDO, G. RAURET, H. MUNTAU a Ph QUEVAUVILLER, 2001a. Development of a harmonised phosphorus extraction procedure and certification of a sediment reference material. *Journal of Environmental Monitoring* [online]. 1.1., roč. 3, č. 1, s. 121–125 [vid. 31. říjen 2014]. ISSN 1464-0333. Dostupné z: doi:10.1039/B005672N

RUBAN, V., J. F. LÓPEZ-SÁNCHEZ, P. PARDO, G. RAURET, H. MUNTAU a Ph QUEVAUVILLER, 2001b. Harmonized protocol and certified reference material for the determination of extractable contents of phosphorus in freshwater sediments – A synthesis of recent works. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* [online]. 1.6., roč. 370, č. 2-3, s. 224–228 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0937-0633, 1432-1130. Dostupné z: doi:10.1007/s002160100753

RUTTENBERG, Kathleen C., 1992. Development of a sequential extraction method for different forms of phosphorus in marine sediments. *Limnology and Oceanography - LIMNOL OCEANOGR* [online]. roč. 37, č. 7, s. 1460–1482. ISSN 0024-3590. Dostupné z: doi:10.4319/lo.1992.37.7.1460

SANCLEMENTS, Michael D., Ivan J. FERNANDEZ a Stephen A. NORTON, 2009. Soil and sediment phosphorus fractions in a forested watershed at Acadia National Park, ME, USA. *Forest Ecology and Management* [online]. 30.10., roč. 258, č. 10, Forest Soil Science: Celebrating 50 Years of Research on Properties, Processes and Management of Forest Soils Forest Soil Science: Celebrating 50 Years of Research on Properties, Processes and Management of Forest Soils Forest Soil Science: Celebrating 50 Years of Research on Properties, Processes and Management of Forest Soils Forest Soil Science: Celebrating 50 Years of Research on Properties, Processes and Management of Forest Soils Selected and Edited Papers from the Eleventh North American Forest Soils Conference held June 22-26, 2008 in Blacksburg, Virginia, USA, s. 2318–2325 [vid. 21. říjen 2014]. ISSN 0378-1127. Dostupné z: doi:10.1016/j.foreco.2009.03.016

SELIG, Uwe a Günter SCHLUNGBAUM, 2003. Characterisation and quantification of phosphorus release from profundal bottom sediments in two dimictic lakes during summer stratification. *Journal of Limnology* [online]. 1.8., roč. 62, č. 2, s. 151 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 1723-8633, 1129-5767. Dostupné z: doi:10.4081/jlimnol.2003.151

SHARPLEY, Andrew N., 1995. Dependence of Runoff Phosphorus on Extractable Soil Phosphorus. *Journal of Environment Quality* [online]. roč. 24, č. 5, s. 920 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0047-2425. Dostupné z: doi:10.2134/jeq1995.00472425002400050020x

SØNDERGAARD, Martin, Jens Peder JENSEN a Erik JEPPESEN, 2003. Role of sediment and internal loading of phosphorus in shallow lakes. *Hydrobiologia* [online]. 1.11., roč. 506-509, č. 1-3, s. 135–145 [vid. 31. říjen 2014]. ISSN 0018-8158, 1573-5117. Dostupné z: doi:10.1023/B:HYDR.0000008611.12704.dd

SØNDERGAARD, Martin, Jørgen WINDOLF a Erik JEPPESEN, 1996. Phosphorus fractions and profiles in the sediment of shallow Danish lakes as related to phosphorus load, sediment composition and lake chemistry. *Water Research* [online]. 4., roč. 30, č. 4, s. 992–1002 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/0043-1354(95)00251-0

SOUKALOVÁ, Eva a Hana BORTLOVÁ, 2013. Sucho v podzemních vodách na jižní Moravě v roce 2012. In: *Voda, půda a rostliny: Voda, půda a rostliny* [online]. ISBN 978-80-87577-17-2. Dostupné z: http://www.cbks.cz/sbornikKrtiny13/Soukalova_Bortlov%C3%A1%20K%C5%99tiny.pdf

SPIVAKOV, B. Ya., T. A. MARYUTINA a H. MUNTAU, 2009. Phosphorus Speciation in Water and Sediments. *Pure and Applied Chemistry* [online]. roč. 71, č. 11, s. 2161–2176 [vid. 18. prosinec 2014]. ISSN 1365-3075. Dostupné z: doi:10.1351/pac199971112161

SUN, Shujuan, Suiliang HUANG, Xueming SUN a Wei WEN, 2009. Phosphorus fractions and its release in the sediments of Haihe River, China. *Journal of Environmental Sciences* [online]. roč. 21, č. 3, s. 291–295 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 1001-0742. Dostupné z: doi:10.1016/S1001-0742(08)62266-4

SYERS, J. K., J. D. H. WILLIAMS, A. S. CAMPBELL a T. W. WALKER, 1967. The Significance of Apatite Inclusions in Soil Phosphorus Studies. *Soil Science Society of America Journal* [online]. roč. 31, č. 6, s. 752–756 [vid. 10. duben 2015]. ISSN 0361-5995. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj1967.03615995003100060016x

TALLBERG, Petra, Paul TRÉGUER, Charlotte BEUCHER a Rudolph CORVAISIER, 2008. Potentially mobile pools of phosphorus and silicon in sediment from the Bay of Brest: Interactions and implications for phosphorus dynamics. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* [online]. 1.1., roč. 76, č. 1, s. 85–94 [vid. 21. říjen 2014]. ISSN 0272-7714. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecss.2007.06.003

TURNER, Benjamin L. a Philip M. HAYGARTH, 2001. Biogeochemistry: Phosphorus solubilization in rewetted soils. *Nature* [online]. 17.5., roč. 411, č. 6835, s. 258–258 [vid. 16. prosinec 2014]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35077146

TWINCH, A. J. a R. H. PETERS, 1984. Phosphate Exchange Between Littoral Sediments and Overlying Water in an Oligotrophy North-Temperate Lake. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* [online]. 1.11., roč. 41, č. 11, s. 1609–1617 [vid. 3. prosinec 2014]. ISSN 0706-652X. Dostupné z: doi:10.1139/f84-199

WALINGA, I., J. J. Van Der LEE, V. J. G. HOUBA, W. Van VARK a I. NOVOZAMSKY, 1995. Digestion in tubes with H₂SO₄-salicylic acid- H₂O₂ and selenium and determination of Ca, K, Mg, N, Na, P, Zn. In: I. WALINGA, J. J. Van Der LEE, V. J. G. HOUBA, W. Van VARK a I. NOVOZAMSKY, ed. *Plant Analysis Manual* [online]. B.m.: Springer Netherlands, s. 7–45 [vid. 29. prosinec 2014]. ISBN 978-94-011-7651-4, 978-94-011-0203-2. Dostupné z: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-0203-2_2

WANG, Changyou, Yong ZHANG, Hongli LI a R. John MORRISON, 2013. Sequential extraction procedures for the determination of phosphorus forms in sediment. *Limnology* [online]. 30.1., roč. 14, č. 2, s. 147–157 [vid. 20. květen 2015]. ISSN 1439-8621, 1439-863X. Dostupné z: doi:10.1007/s10201-012-0397-1

WANG, Chao, Jin QIAN, Zhi-yong GUO, Li ZHAO a Xiao-chen LI, 2008a. Vertical Distributions of Phosphorus Fractions in Sediments of Three Typical Shallow Urban Lakes in P.R. China. *Pol. J. Environ. Stud.* [online]. roč. 17, č. 1, s. 155–162 [vid. 9. duben 2015]. Dostupné z: <https://www.yumpu.com/en/document/view/25368258/vertical-distributions-of-phosphorus-fractions-in-sediments-of-three-5>

WANG, Shengrui, Xiangcan JIN, Haichao ZHAO, Xiaoning ZHOU a Fengchang WU, 2008b. Effects of organic matter on phosphorus release kinetics in different trophic lake sediments and application of transition state theory. *Journal of Environmental Management* [online]. 9., roč. 88, č. 4, s. 845–852 [vid. 3. srpen 2015]. ISSN 0301-4797. Dostupné z: doi:10.1016/j.jenvman.2007.04.006

WANG, Xiaoli, 2012. Phosphorus Fractionation and Bio-availability in Surface Sediments from the Middle and Lower Reaches of the Yellow River. *Procedia Environmental Sciences* [online]. roč. 12, Part A, 2011 International Conference of Environmental Science and Engineering, s. 379–386 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 1878-0296. Dostupné z: doi:10.1016/j.proenv.2012.01.293

WATTS, C. J., 2000. Seasonal phosphorus release from exposed, re-inundated littoral sediments of two Australian reservoirs. *Hydrobiologia* [online]. roč. 431, č. 1, s. 27–39. ISSN 0018-8158. Dostupné z: doi:10.1023/A:1004098120517

WEBER, J. H., 1988. Binding and transport of metals by humic materials. In: *Humic Substances and Their Role in the Environment*. Chichester: John Wiley and Sons, s. 165–178.

WILLIAMS, J. D. H., J-M. JAQUET a R. L. THOMAS, 1976. Forms of Phosphorus in the Surficial Sediments of Lake Erie. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* [online]. 1.3., roč. 33, č. 3, s. 413–429 [vid. 25. květen 2015]. ISSN 0015-296X. Dostupné z: doi:10.1139/f76-063

WILLIAMS, J. D. H., T. MAYER a J. O. NRIAGU, 1980. Extractability of Phosphorus from Phosphate Minerals Common in Soils and Sediments. *Soil Science Society of America Journal* [online]. 5., roč. 44, č. 3, s. 462–465. Dostupné z: doi:10.2136/sssaj1980.03615995004400030004x

WITHERS, P. J. A. a H. P. JARVIE, 2008. Delivery and cycling of phosphorus in rivers: A review. *Science of The Total Environment* [online]. 1.8., roč. 400, č. 1–3, s. 379–395 [vid. 5. listopad 2014]. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2008.08.002

XU, De-lan, Ze-xiang LEI, Hong-jun WANG, Bao-ping HAN a Zheng-wen LIU, 2007. Distribution of Phosphorus in Sediments of Onshore Reed Areas of Lake Taihu. *Journal of China University of Mining and Technology* [online]. 12., roč. 17, č. 4, s. 557–561 [vid. 29. prosinec 2014]. ISSN 1006-1266. Dostupné z: doi:10.1016/S1006-1266(07)60145-X

YU, I. Fan a Sheng-Bin HO, 2009. Comparison of the Ignition Method and the Perchloric Acid Digestion Method for the Determination of Total Phosphorus in Agricultural Soils of Taiwan. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* [online]. 1.6., roč. 40, č. 11-12, s. 1953–1963 [vid. 13. srpen 2015]. ISSN 0010-3624. Dostupné z: doi:10.1080/00103620902896712

ZAABOUB, Nouredine, Anouar OUNIS, Mohamed Amine HELALI, Bchir BJAOUI, Ana Isabel LILIEB, Eduardo Ferreira da SILVA a Lotfi ALEYA, 2014. Phosphorus speciation in sediments and assessment of nutrient exchange at the water-sediment interface in a Mediterranean lagoon: Implications for management and restoration. *Ecological Engineering* [online]. 12., roč. 73, s. 115–125 [vid. 17. prosinec 2014]. ISSN 0925-8574. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.017

ZHOU, Meifang a David M. STRUVE, 2004. The effects of post-persulfate-digestion procedures on total phosphorus analysis in water. *Water Research* [online]. 11., roč. 38, č. 18, s. 3893–3898. ISSN 0043-1354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2004.06.031

ZHOU, Qixing, Christopher E GIBSON a Yinmei ZHU, 2001. Evaluation of phosphorus bioavailability in sediments of three contrasting lakes in China and the UK. *Chemosphere* [online]. 15.1., roč. 42, č. 2, Chemistry of protection of the Environment, s. 221–225 [vid. 4. září 2014]. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/S0045-6535(00)00129-6

ZVÁRA, Karel, 2013. *Biomedicínská statistika IV: Základy statistiky v prostředí R*. B.m.: Karolinum Press. ISBN 9788024622453.

ZWIRNMANN, E., A. KRÜGER a J. GELBRECHT, 1999. Analytik im Zentralen Chemielabor des IGB. *Jahresbericht des IGB (Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei)*. č. 9, s. 3–24.

ŽVÁČEK, Jiří, 2013. Eistat. *Shapiro-Wilkův test normality* [online]. Dostupné z: <http://www.eistat.cz/usuzovani/hypotezy/testy/test/shapwilk/index.htm>

8 SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

Články v impaktovaných časopisech:

MALÁ, J.; LAGOVÁ, M. Comparison of digestion methods for total phosphorus determination in river sediments. *Chemical Papers*, 2014, roč. 68, č. 8, s. 1015-1021. ISSN: 0366- 6352.

Kapitoly v knihách:

PAVLÍK, F.; SOBOTKOVÁ, V.; UHROVÁ, J.; LAGOVÁ, M. Degradace půdy vlivem eroze v České republice a v Norsku. In *REGENERACE - REKULTIVACE - REVITALIZACE KRAJINY*. 1. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2012. s. 60-67. ISBN: 978-80-7375-683- 3.

Abstrakty v impaktovaných časopisech:

LAGOVÁ, M.; MALÁ, J. *Modified digestion method of total phosphorus determination in river sediments*. Chemické listy. Praha: Česká společnost chemická, 2011. s. 966-966. ISSN: 0009- 2770.

Články v recenzovaných časopisech:

LAGOVÁ, M.; PAVLÍK, F.; MALÁ, J.; BAYER, P. Fosfor v sedimentech drobných vodních toků ve vztahu k jejich zrnitostnímu složení. *Vodní hospodářství*, 2013, roč. 2013, č. 6, s. 182-186. ISSN: 1211- 0760.

Příspěvky na konferencích, související s tematikou práce:

2013

LAGOVÁ, M.; MALÁ, J.; ZBOROVSKÁ, J., Organický a anorganický fosfor v sedimentech drobných vodních toků, příspěvek na konferenci *Sborník anotací konference Juniorstav 2013*, ISBN 978-80-214-4670-0, Vysoké učení technické v Brně, Brno, 2013

MALÁ, J.; LAGOVÁ, M., Vzájemná souvislost labilního a celkového fosforu v sedimentech vybraných toků, příspěvek na konferenci *10. bienální konference Voda 2013, sborník přednášek a posterových sdělení.*, ISBN 978-80-263-0506-4, 2013

2012

LAGOVÁ, M.; MALÁ, J., Celkový fosfor ve vodě a sedimentech drobných vodních toků, příspěvek na konferenci *Juniorstav 2012 14. odborná konference doktorského studia s mezinárodní účastí - sborník anotací*, ISBN 978-80-214-4393-8, Brno, 2012

2011

LAGOVÁ, M. Stanovení celkového fosforu v sedimentech malých toků. In *Juniorstav 2011, 13. odborná konference doktorského studia, sborník anotací konference Juniorstav 2011*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Veveří 331/95, 60200 Brno, 2011. p. 259. ISBN 978-80-214-4232-0.

MALÁ, J.; LAGOVÁ, M.; ZBOROVSKÁ, J.; KRÁLOVÁ, H., Fosfor v sedimentech drobných vodních toků, příspěvek na konferenci *VODA 2011 Sborník přednášek a posterových sdělení*, ISBN 978-80-263-0045-8, Tribun EU s.r.o., Brno, 2011

2010

LAGOVÁ, M.; HRICH, K. Vybrané jakostní ukazatele příměstského toku. In *Sborník anotací konference Juniorstav 2010. 12. odborná konference doktorského studia*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Veveří 331/95, 60200 Brno, 2010. p. 258. ISBN 978-80-214-4042-5.

2009

LAGOVÁ, M.; KLUČÁKOVÁ, M. Studium adsorpce kovových iontů na huminové kyseliny. In *Sborník anotací konference Juniorstav 2009. 11. odborná konference doktorského studia*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta stavební, Veveří 331/95, 60200 Brno, 2009, p. 244. ISBN 978-80-214-3810-1.

LAGOVÁ, M.; MALÁ, J.; HRICH, K. Studie vybraných indikátorů v malých vodních tocích. In *Sborník příspěvků XII. mezinárodní vědecká konference u příležitosti 110. výročí založení FAST VUT v Brně a XIV. výročí založení Stavebních veletrhů Brno 20-22/04/2009, Vodní stavby, vodní hospodářství a ekologické inženýrství*. Brno: Akademické nakladatelství Cerm, s.r.o., 2009, p. 109-112. ISBN 978-80-7204-629-4

HRICH, K.; MALÁ, J.; LAGOVÁ, M. Sledování a porovnání kvality sedimentů v malých příměstských tocích. In *Sborník příspěvků XII. mezinárodní vědecká konference u příležitosti 110. výročí založení FAST VUT v Brně a XIV. výročí založení Stavebních veletrhů Brno 20-22/04/2009, Vodní stavby, vodní hospodářství a ekologické inženýrství*. Brno: Akademické nakladatelství Cerm, s.r.o., 2009, p. 65-68. ISBN 978-80-7204-629-4

Abstrakt:

LAGOVÁ, M., Ovlivnění sedimentů drobných vodních toků živinami a metody hodnotící obsah celkového fosforu, ISBN 978-80-7375-522-5, MENDELU, Brno, 2011

Další výsledky

- Spoluautorka 1 užitého vzoru
- Spoluautorka 2 monografií
- Spoluautorka 1 metodiky

9 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

A1	Aušperský potok (značení odběrných míst)
aj.	a jiný
AP	apatite phosphorus, apatitový fosfor
apod.	a podobně
atd.	a tak dále
ATP	adenosintrifosfát
B (1, 2)	Ludvíkov (značení odběrných míst)
BAP	bioavailable phosphorus (biodostupný fosfor)
BD	bicarbonate-dithionite (extraktant dithioničitan-hydrogenuhlíčitan sodný použitý v analytické metodě)
BSK ₅	Pětidenní biochemická spotřeba kyslíku
CFA	Continuous Flow Analysis
č.	číslo
ČOV	čistírna odpadních vod
ČSN	česká technická norma
DNF	dinitrofenol (indikátor)
DV	destilovaná voda
EDS	energio dispersní sonda
EDTA	ethyldiamineteatraacetic acid (kyselina etyldiamimtetraoctová použitá v analytické metodě)
EN	Evropská norma
FIA	flow injection analysis (průtoková injekční analýza fosforu)
hm.	hmotnostní
HPLC	high pressure/performance liquid chromatography

HSD	honest significant difference	
Ch	chladná	
ChSK	chemická spotřeba kyslíku	
ChSK _{Cr}	chemická spotřeba kyslíku (dichromanová metoda)	
ICP	indukčně vázaná plazma	
ICP – AES	inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (atomová emisní spektroskopie s buzením v indukčně vázané plazmě)	
ICP – MS	inductively coupled plasma mass spectrometry	
ICP-OES	inductively coupled plasma optical emission spectrometry (optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem)	
IP	inorganic phosphorus (anorganický fosfor)	
ISO	International Organization for Standardization	
kap.	kapitola	
Kč	měnová jednotka pro ČR	
koef.	koeficient	
kol.	kolektiv	
konc.	koncentrovaný/á	
K-W test	Kruskal-Wallisův test	
L (1,2)	Leskava (značení odběrných míst)	
Le (1,2)	Leskava (značení odběrných míst)	
LP	labile phosphorus (labilní fosfor)	
Lu	Ludvíkov (značení odběrných míst)	
M	molární hmotnost	[mol/l]
mg/g	jednotka obsahu složky v sedimentu (v matrici)	

mil.	milionů	
MRP	molybdate reactive phosphorus (molybdáto-reaktivní fosfor)	
MT	mírně teplá	
N	normální koncentrace	[val/l]
NAP	non-apatite phosphorus (neapatitový fosfor)	
NAPat	nonapatite phosphorus (neapatitový fosfor)	
např.	například	
NMR	nuclear magnetic resonance (nukleární magnetická rezonance)	
NTA	nitriлотriaceticacid (kyselina nitrilotrioctová; chelaton I)	
NV	nařízení vlády	
Obr.	obrázek	
OP	organic phosphorus (organický fosfor)	
ot.	otáčky	
ot./min	otáčky za minutu	
p.	potok	
p.a.	pro analysi (pro analýzu)	
PP	polypropylen	
resp.	respektive	
RRP, SRP	soluble reactive phosphorus (rozpuštěný reaktivní fosfor)	
sb.	sbírka	
SMT	Standarts, Measurements and Testing Programme (značení analytické metody stanovení vybraných forem fosforu)	
SMTP	Standarts, Measurements and Testing Programme (značení analytické metody stanovení celkového fosforu)	
SNRP	soluble non – reactive phosphorus (rozpuštěný nereaktivní fosfor)	

T1	Troubský potok (značení odběrných míst)
T	teplá
tj.	to je
TP	total phosphorus (celkový fosfor)
tzv.	tak zvaně
UV	UV záření
v.v.i.	veřejná výzkumná instituce
vs.	versus

10 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A PŘÍLOH

Obr. 1 – Projevy trofizace vodního toku (z Kraje Vysočina).....	8
Obr. 2 – Projevy trofizace vodního toku (Leskava, Kraj Jihomoravský).....	8
Obr. 3 – Projevy trofizace vodního toku (Hartmanice, Kraj Vysočina).....	8
Obr. 4 – Projevy trofizace vodního toku (Hartmanice, Kraj Vysočina).....	8
Obr. 5 – Projevy trofizace nádrže (Slavkov, Jihomoravský Kraj).....	9
Obr. 6 – Projevy trofizace nádrže (z Kraje Vysočina)	9
Obr. 7 – Vliv změn pH na přeměny v zásobách různě vázaného fosforu. Pro obrázek využito znázornění uvedené v Golterman (2004).....	20
Obr. 8 – Mapa a zakreslení odběrných míst Ludvíkov, Aušperský-Troubský potok, Leskava a Hartmanice	43
Obr. 9 – Odběrné místo na Aušperském potoce.....	45
Obr. 10 – Jedno z odběrných míst na Troubském potoce	45
Obr. 11 – Jedno z odběrných míst na toku Leskava.....	46
Obr. 12 – Jedno z odběrných míst na Bílé Opavě	47
Obr. 13 – Jedno z odběrných míst v Hartmanicích	48
Obr. 14 – Odběr vzorků vody.....	49
Obr. 15 – Zpracování vzorků sedimentů	49
Obr. 16 – Analýza částic vzorku sedimentu z lokality Ludvíkov, zvětšení 8000 x	120
Obr. 17 – Elektronový mikroskop - vzorek z lokality Hartmanice (H1).....	121
Obr. 18 – Elektronový mikroskop - vzorek z lokality Aušperský-Troubský potok (T).....	121
Tabulka 1 Terminologie běžných forem fosforu v sedimentech (Kovar a Pierzynski, 2009)	27
Tabulka 2 Přehled některých forem fosforu v sedimentech běžného environmentálního zájmu a jejich význam (Spivakov et al., 2009).....	28
Tabulka 3 Charakteristiky sledovaných lokalit	44
Tabulka 4 Certifikát analýzy referenčního materiálu BCR-684 (European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements 2012).....	50
Tabulka 5 Koncentrace vybraných sloučenin, použitých v různých testovaných metodách stanovení koncentrace celkového fosforu, které ještě neinterferují při fotometrickém stanovení fosforečnanů (Malá a Lagová, 2014)	53
Tabulka 6 Popisná statistika – celkový fosfor	64

Tabulka 7 Celkový fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita	65
Tabulka 8 Obsah železa a vápníku v testovaných sedimentech	66
Tabulka 9 Celkový fosfor - Tukeyův test – metody stanovení koncentrace celkového fosforu.....	66
Tabulka 10 Celkový fosfor – vzájemná závislost metod a závislost metod na kovech.....	68
Tabulka 11 Porovnání koncentrací celkového fosforu v referenčním materiálu stanovených vybranými metodami s referenční hodnotou	73
Tabulka 12 Základní popisné statistiky koncentrací jednotlivých forem fosforu stanovených různými analytickými metodami a koncentrací kovů.....	75
Tabulka 13 Výsledky Shapiro-Wilkova testu (p-hodnoty) pro koncentrace jednotlivých forem fosforu a použité analytické metody	77
Tabulka 14 Anorganický fosfor - Tukeyův test – lokalita a období.....	79
Tabulka 15 Anorganický fosfor – závislost metoda vs. kov	80
Tabulka 16 Organický fosfor - Tukeyův test – lokalita a období.....	82
Tabulka 17 Organický fosfor – závislost metoda vs. kov	84
Tabulka 18 Labilní fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita	86
Tabulka 19 Labilní fosfor - Tukeyův test – metody vs. období	88
Tabulka 20 Labilní fosfor – závislost metody vs. kov	90
Tabulka 21 Labilní fosfor – srovnání analytických metod.....	90
Tabulka 22 Apatitový fosfor - Tukeyův test – metody vs. lokalita.....	95
Tabulka 23 Apatitový fosfor - Tukeyův test – metody vs. období.....	96
Tabulka 24 Apatitový fosfor – závislost metody vs. kov	98
Tabulka 25 Apatitový fosfor – srovnání analytických metod	99
Tabulka 26 Neapatitový fosfor - Tukeyův test – lokalita a období.....	101
Tabulka 27 Neapatitový fosfor – závislost metody vs. kov	103
Tabulka 28 Fosfor vázaný na železo - Tukeyův test – metody vs. lokalita.....	105
Tabulka 29 Fosfor vázaný na železo - Tukeyův test – metody vs. období.....	107
Tabulka 30 Fosfor vázaný na železo – závislost metody vs. kov.....	109
Tabulka 31 Fosfor vázaný na železo – srovnání analytických metod	110
Tabulka 32 Fosfor vázaný na oxidy kovů - Tukeyův test – metody vs. lokalita.....	114
Tabulka 33 Fosfor vázaný na oxidy kovů - Tukeyův test – metody vs. období.....	115
Tabulka 34 Fosfor vázaný na oxidy kovů – závislost metody vs. kov	117
Tabulka 35 Fosfor vázaný na oxidy kovů – srovnání analytických metod	117

Tabulka 36 Porovnání koncentrací forem fosforu v referenčním materiálu deklarovaných (SMT protokol) a změřených (1. SMT)	119
Tabulka 37 Porovnání obsahu fosforu s chemickým jílem a pískem	122
Graf 1 Náhled datového souboru – celkový fosfor	65
Graf 2 Znázornění Tukeyova testu - celkový fosfor – metody vs. lokalita	67
Graf 3 Znázornění Tukeyova testu – celkový fosfor – metody mezi sebou.....	68
Graf 4 Korelační grafy, srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace celkového fosforu	70
Graf 5 Náhled datového souboru – anorganický fosfor - 1. SMT.....	78
Graf 6 Znázornění Tukeyova testu - anorganický fosfor - 1. SMT - lokalita.....	79
Graf 7 Znázornění Tukeyova testu - anorganický fosfor - metoda 1. SMT - období.....	80
Graf 8 Náhled datového souboru – organický fosfor - 1. SMT.....	82
Graf 9 Znázornění Tukeyova testu - organický fosfor - 1. SMT - lokalita	83
Graf 10 Znázornění Tukeyova testu - organický fosfor - 1. SMT - období	83
Graf 11 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 2. EDTA	85
Graf 12 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 3. BD	85
Graf 13 Náhled datového souboru – labilní fosfor – 4. BD	85
Graf 14 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 2. EDTA - lokalita	86
Graf 15 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 3. BD - lokalita	87
Graf 16 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 4. BD - lokalita	87
Graf 17 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 2. EDTA - období.....	88
Graf 18 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 3. BD - období.....	89
Graf 19 Znázornění Tukeyova testu - labilní fosfor – 4. BD - období.....	89
Graf 20 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace labilního fosforu	92
Graf 21 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 1. SMT	93
Graf 22 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 3. BD.....	94
Graf 23 Náhled datového souboru – apatitový fosfor – 4. BD.....	94
Graf 24 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 1. SMT - lokalita.....	95
Graf 25 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 3. BD - lokalita	96
Graf 26 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 4. BD - lokalita	96

Graf 27 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 1. SMT - období.....	97
Graf 28 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 3. BD - období	97
Graf 29 Znázornění Tukeyova testu - apatitový fosfor – 4. BD - období	98
Graf 30 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace apatitového fosforu.....	100
Graf 31 Náhled datového souboru – neapatitový fosfor – 1. SMT	101
Graf 32 Znázornění Tukeyova testu - neapatitový fosfor – 1. SMT - lokalita	102
Graf 33 Znázornění Tukeyova testu - neapatitový fosfor – 1. SMT - období.....	102
Graf 34 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA	104
Graf 35 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 3. BD	104
Graf 36 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na železo – 4. BD	104
Graf 37 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA - lokalita	106
Graf 38 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 3. BD - lokalita	106
Graf 39 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 4. BD - lokalita	106
Graf 40 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 2. EDTA - období	107
Graf 41 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 3. BD - období	108
Graf 42 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na železo – 4. BD - období	108
Graf 43 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace fosforu vázaného na železo	111
Graf 44 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD	113
Graf 45 Náhled datového souboru – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD	113
Graf 46 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD - lokalita ...	114
Graf 47 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD - lokalita ...	115
Graf 48 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 3. BD - období	116
Graf 49 Znázornění Tukeyova testu – fosfor vázaný na oxidy kovů – 4. BD - období	116
Graf 50 Korelační grafy - Srovnání analytických metod použitých pro stanovení koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů	118
Příloha č. 1 Laboratorní postup užívaný pro mytí laboratorního skla za účelem stanovení fosforu ve vzorcích sedimentů a vod.....	151
Příloha č. 2 Celkový fosfor - korelační grafy	152
Příloha č. 3 Anorganický fosfor - korelační grafy.....	154
Příloha č. 4 Organický fosfor – korelační grafy	155

Příloha č. 5 Labilní fosfor – korelační grafy	156
Příloha č. 6 Apatitový fosfor – korelační grafy	158
Příloha č. 7 Neapatitový fosfor – korelační grafy	160
Příloha č. 8 Fosfor vázaný na železo - korelační grafy	161
Příloha č. 9 Fosfor vázaný na oxidy kovů - korelační grafy	163

11 PŘÍLOHY

Příloha č. 1 Laboratorní postup užívaný pro mytí laboratorního skla za účelem stanovení fosforu ve vzorcích sedimentů a vod

SKLO, PLAST

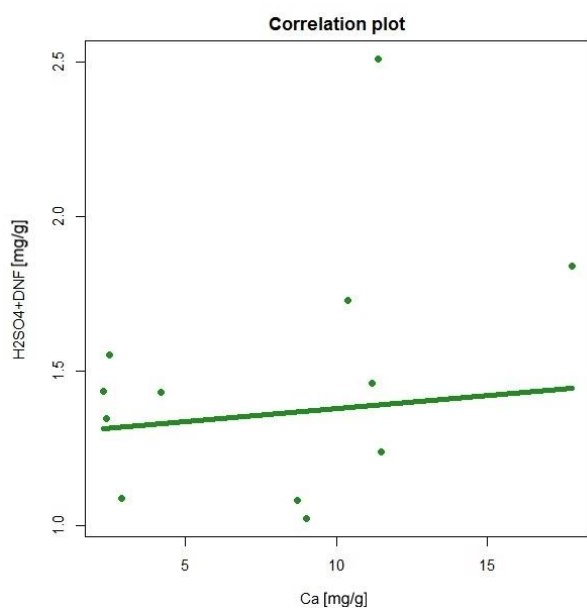
Vzorky se vylíjí. Vše se umyje 5-10 x vodou z kohoutku bez jaru, pokaždé se baňka před vylitím 2-3 x promíchá. Na závěr se vloží do ultrazvukové lázně, spustí se časovač na 15 minut. Víčka v ultrazvuku musí být zatížena sklíčkem, nebo vloženy do příslušné baňky zcela naplněné destilovanou vodou (dále DV) z ultrazvukové lázně. Baňky nesmí na lázni plavat, je potřeba je zcela naplnit DV z lázně. Destilovanou vodu v ultrazvukové lázni je potřeba po použití vyměnit po 5 použitích. Nechá se sušit dnem vzhůru na filtračním papíru.

PORCELÁN

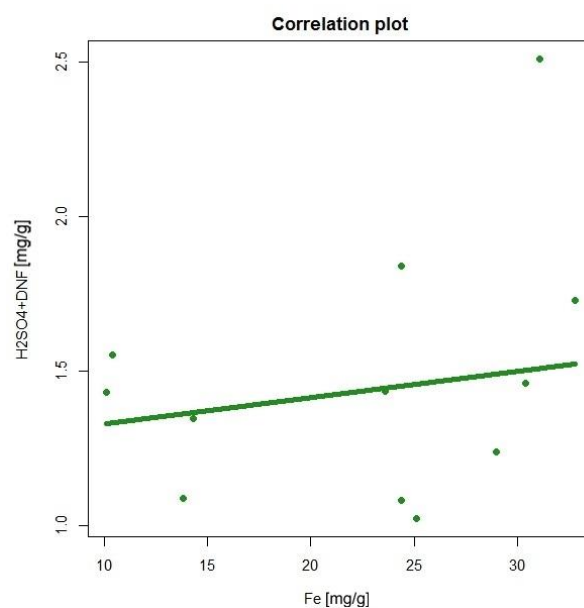
Za použití čisté vody se vyčistí porcelán houbou, pro tyto účely určenou, porcelánové nádoby se vloží do ultrazvukové lázně, spustí se časovač na 15 minut. Předměty nesmí na lázni plavat, je potřeba je zcela naplnit DV z lázně. Nechá se sušit dnem vzhůru na filtračním papíru.

Příloha č. 2 Celkový fosfor - korelační grafy

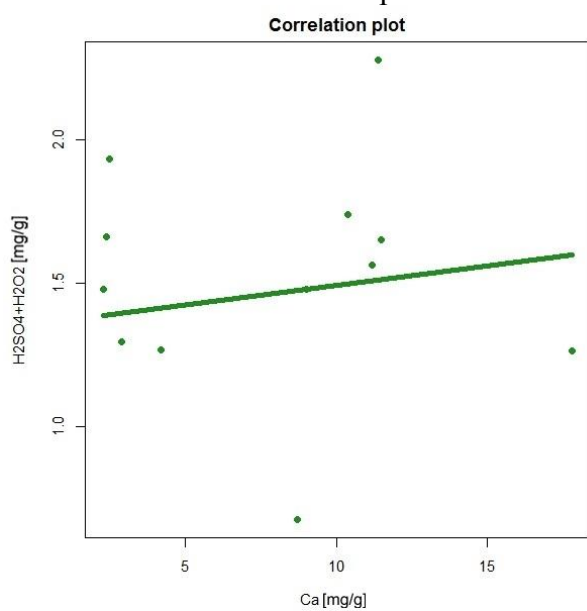
Korelační grafy – Závislost koncentrace celkového fosforu, stanovené jednotlivými analytickými metodami, na koncentraci kovu



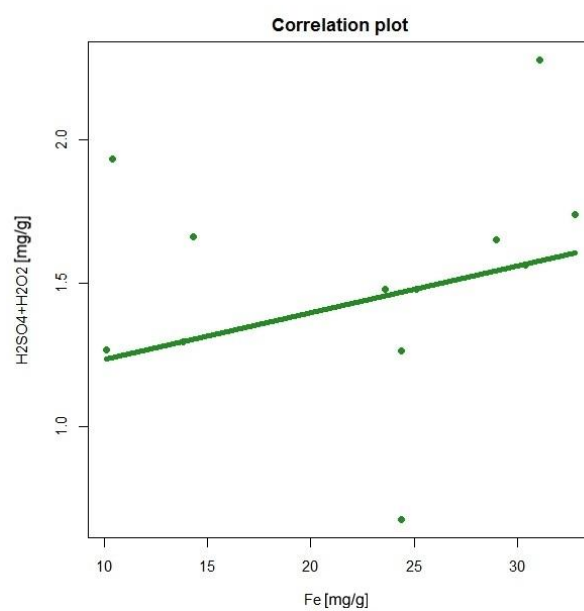
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+DNF na koncentraci vápníku



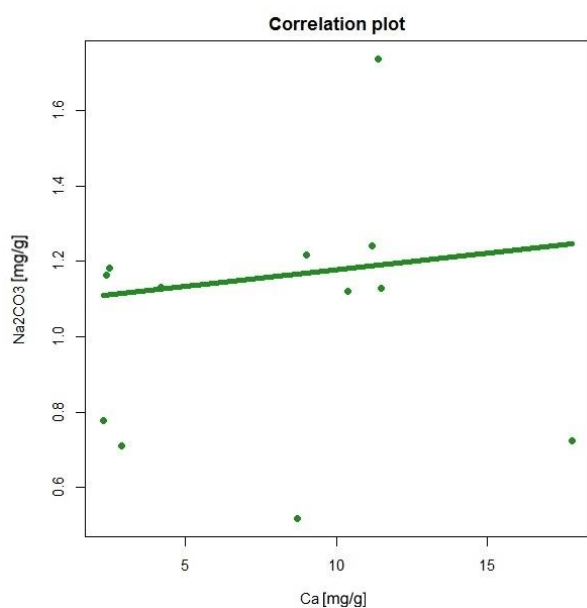
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+DNF na koncentraci železa



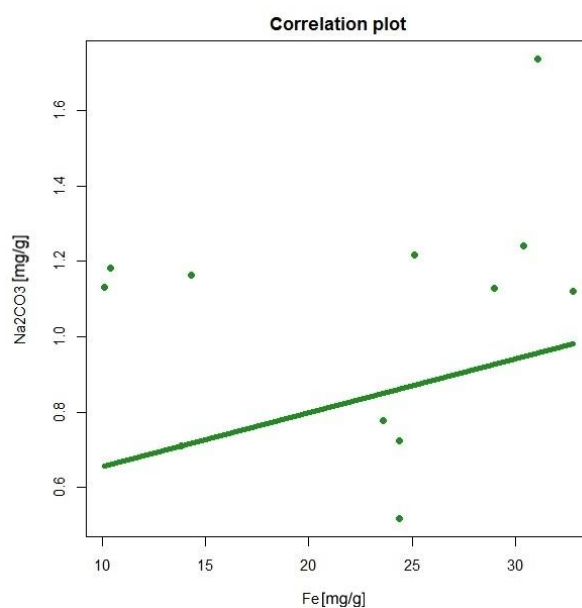
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+H₂O₂ na koncentraci vápníku



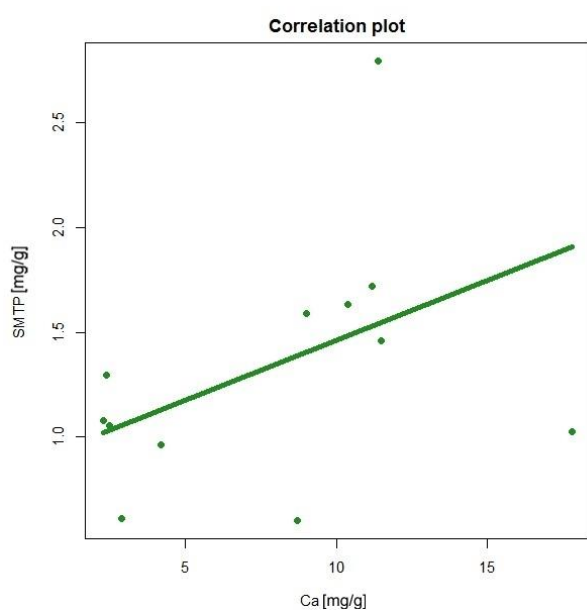
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou H₂SO₄+H₂O₂ na koncentraci železa



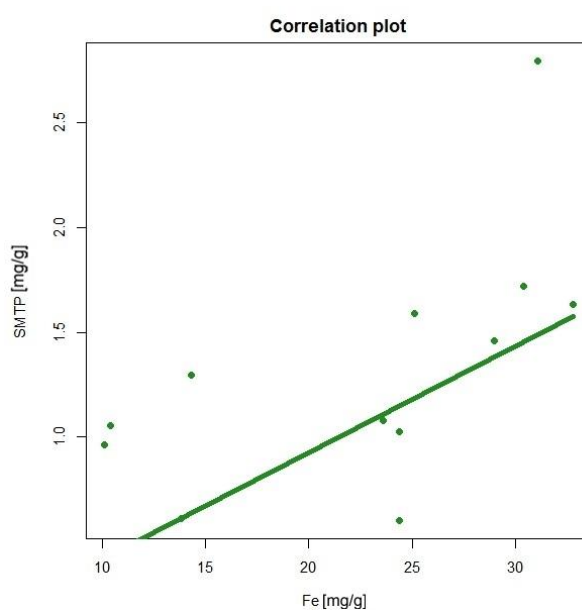
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou Na₂CO₃ na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou Na₂CO₃ na koncentraci železa



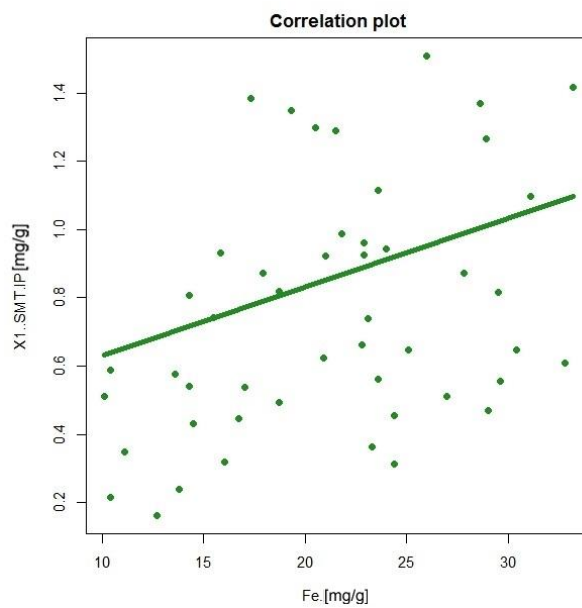
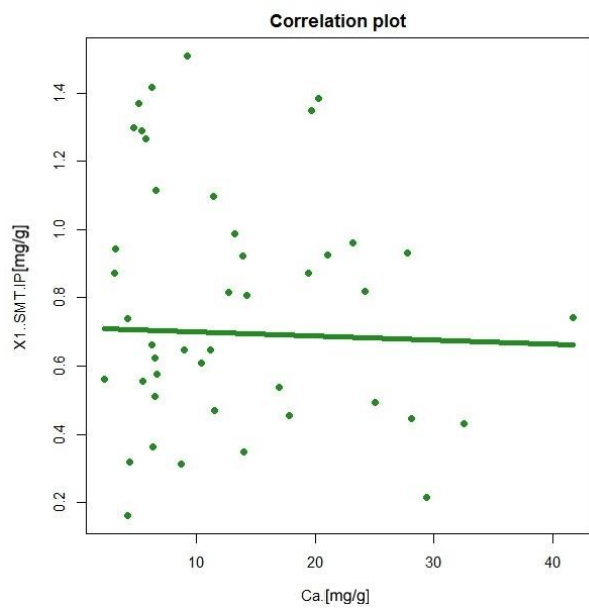
Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou SMTP na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace celkového fosforu stanovené metodou SMTP na koncentraci železa

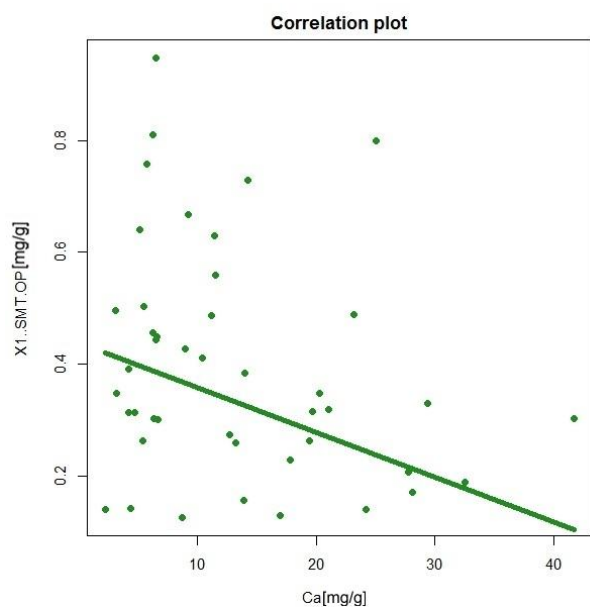
Příloha č. 3 Anorganický fosfor - korelační grafy

Korelační grafy – Závislost stanovené koncentrace anorganického fosforu, stanovené analytickou metodou 1. SMT, na koncentraci kovu

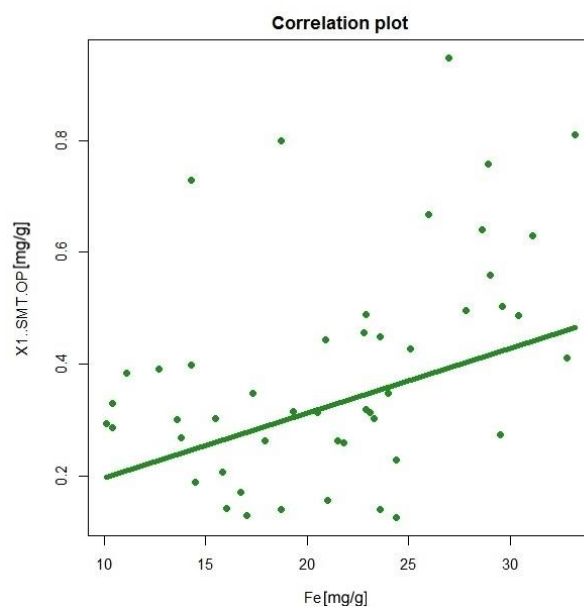


Příloha č. 4 Organický fosfor – korelační grafy

Korelační grafy – Závislost koncentrace organického fosforu, stanovené analytickou metodou 1. SMT, na koncentraci kovů



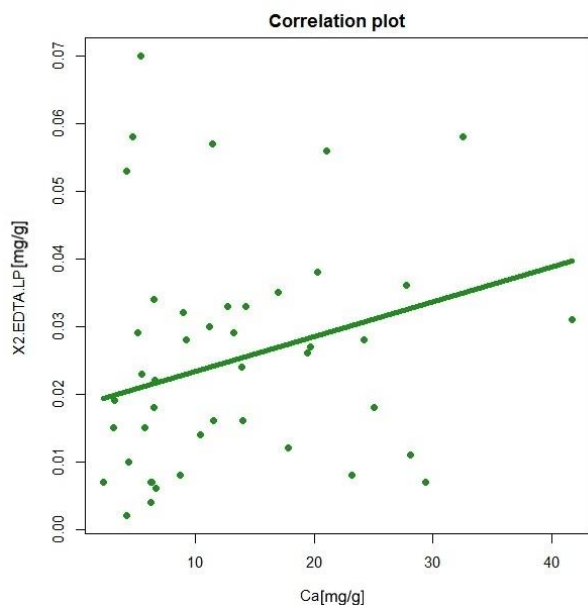
Závislost koncentrace organického fosforu, stanovené metodou 1. SMT na koncentraci vápníku



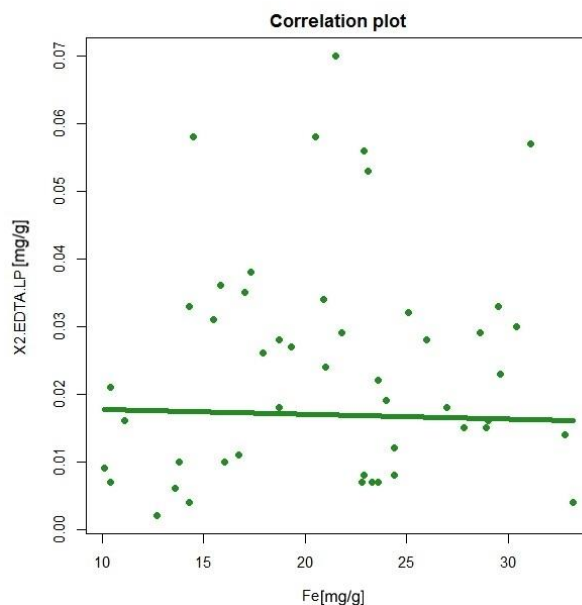
Závislost koncentrace organického fosforu, stanovené metodou 1. SMT na koncentraci železa

Příloha č. 5 Labilní fosfor – korelační grafy

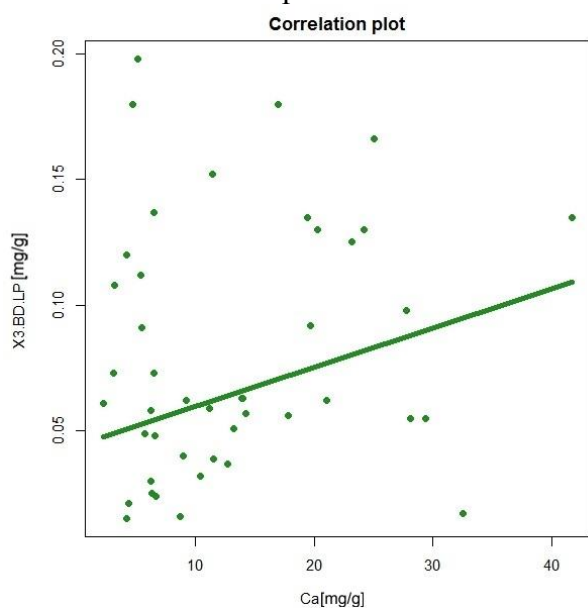
Závislost koncentrace labilního fosforu, stanovené jednotlivými analytickými metodami,
na koncentraci kovů



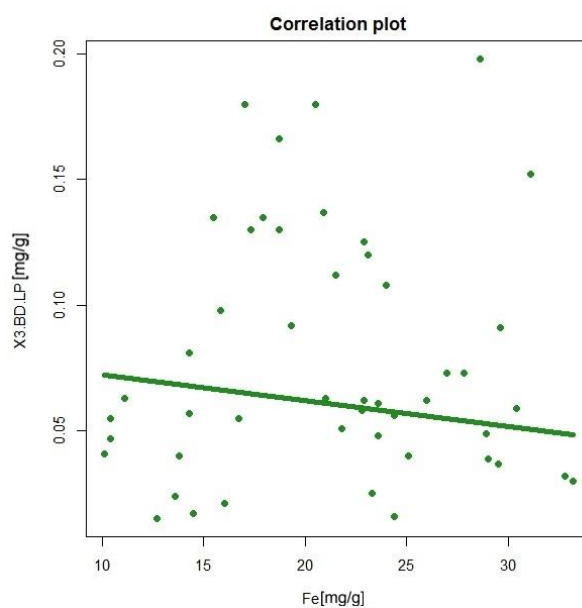
Závislost koncentrace labilního fosforu
stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci
vápníku



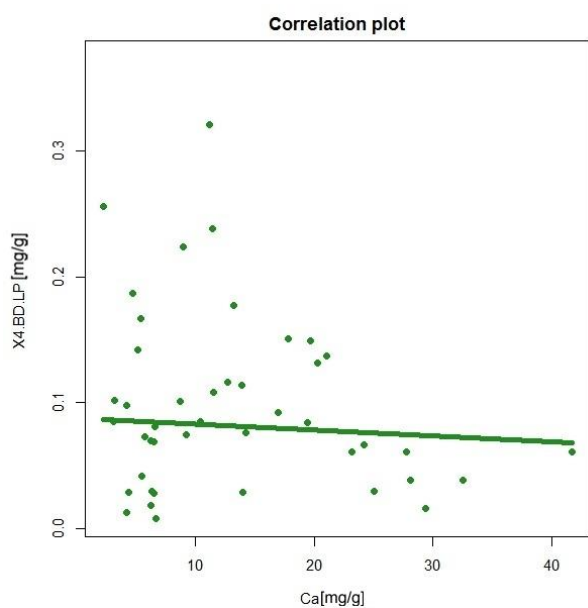
Závislost koncentrace labilního fosforu
stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci
železa



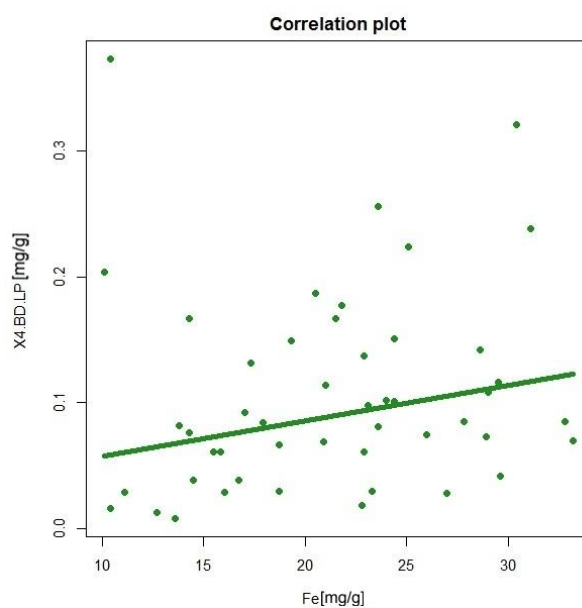
Závislost koncentrace labilního fosforu
stanovené metodou 3. BD na koncentraci
vápníku



Závislost koncentrace labilního fosforu
stanovené metodou 3. BD na koncentraci
železa



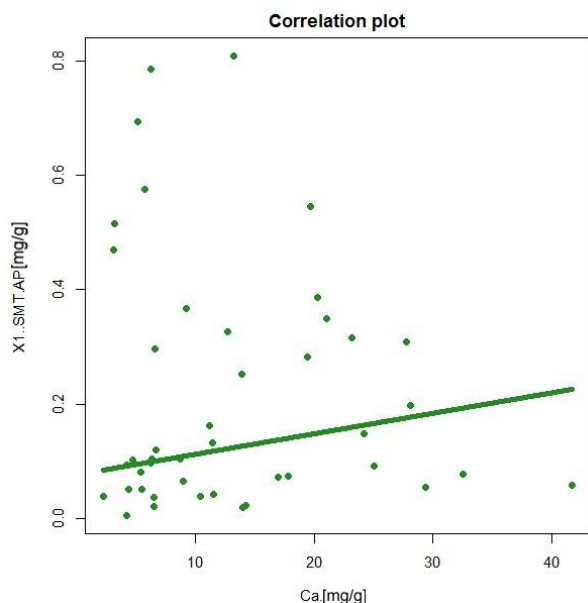
Závislost koncentrace labilního fosforu stanovené metodou 4. BD na koncentraci vápníku



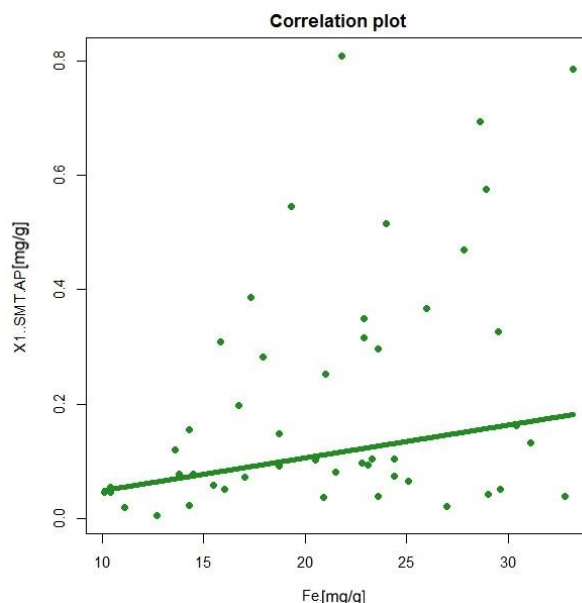
Závislost koncentrace labilního fosforu stanovené metodou 4. BD na koncentraci železa

Příloha č. 6 Apatitový fosfor – korelační grafy

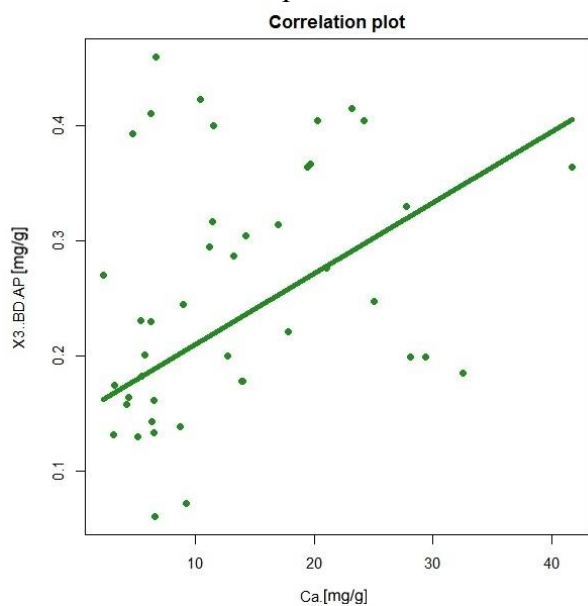
Korelační grafy - Závislost koncentrace apatitového fosforu, stanovené jednotlivými analytickými metodami, na koncentraci kovu



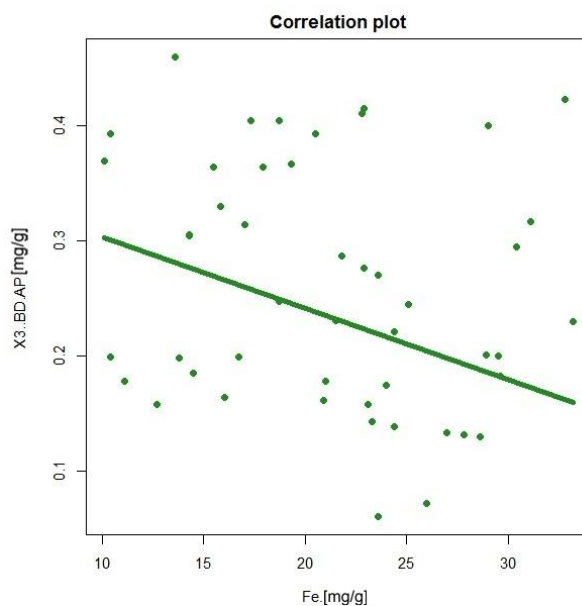
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci vápníku



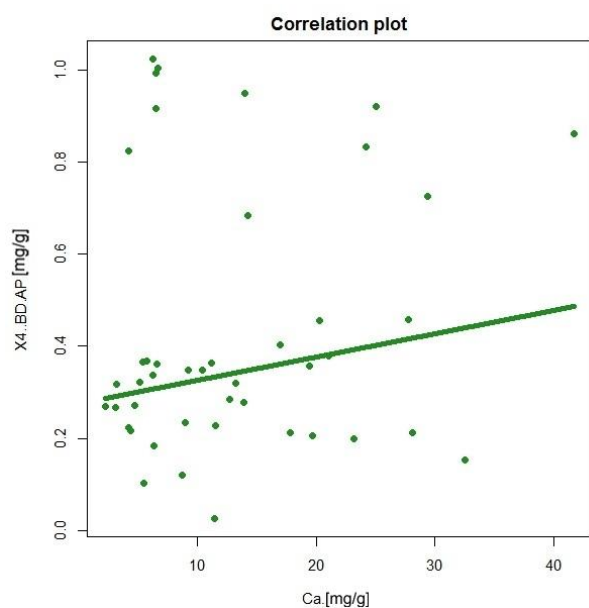
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci železa



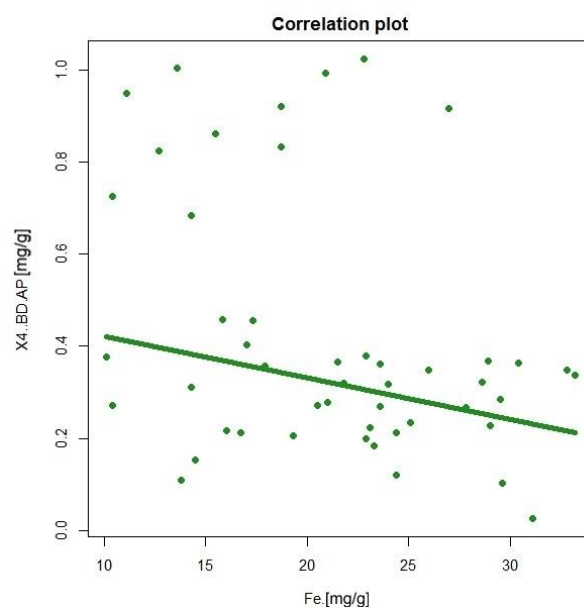
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 3. BD na koncentraci železa



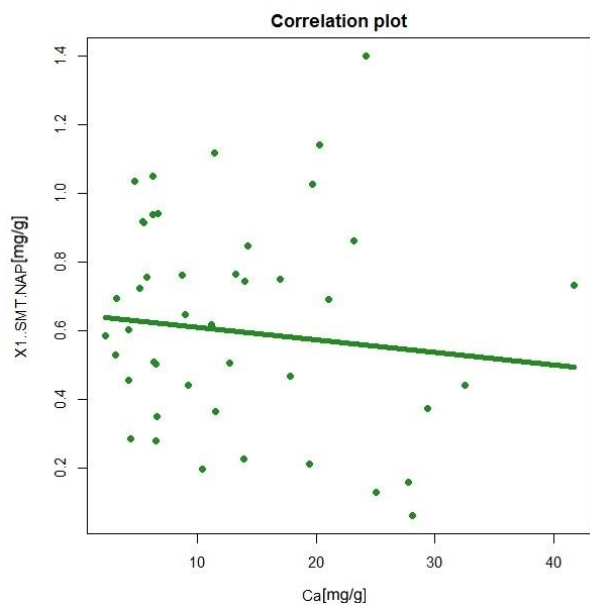
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 4. BD na koncentraci vápníku



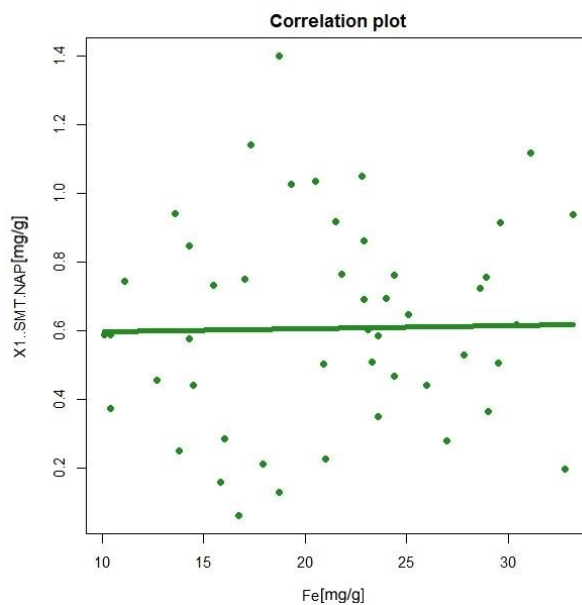
Závislost koncentrace apatitového fosforu stanovené metodou 4. BD na koncentraci železa

Příloha č. 7 Neapatitový fosfor – korelační grafy

Korelační grafy – Závislost koncentrace neapatitového fosforu, stanovené metodou 1. SMT, na koncentraci kovů



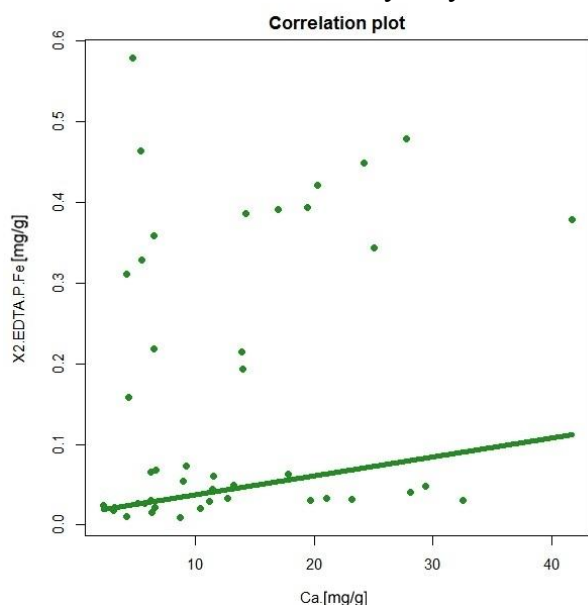
Závislost koncentrace neapatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci vápníku



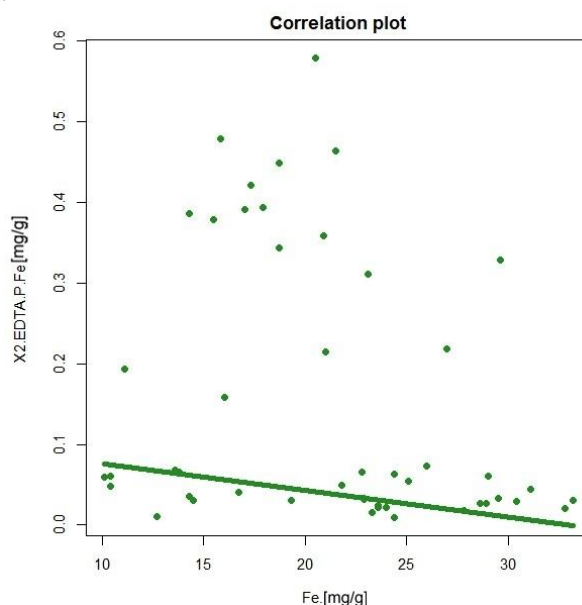
Závislost koncentrace neapatitového fosforu stanovené metodou 1. SMT na koncentraci železa

Příloha č. 8 Fosfor vázaný na železo - korelační grafy

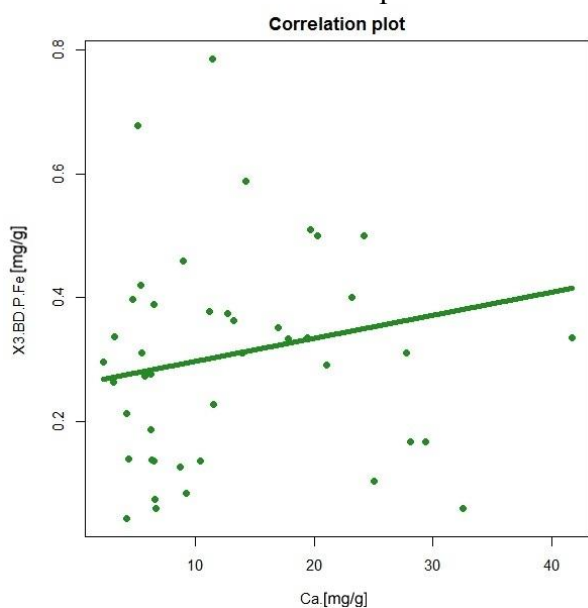
Korelační grafy – Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené jednotlivými analytickými metodami, na koncentraci kovu



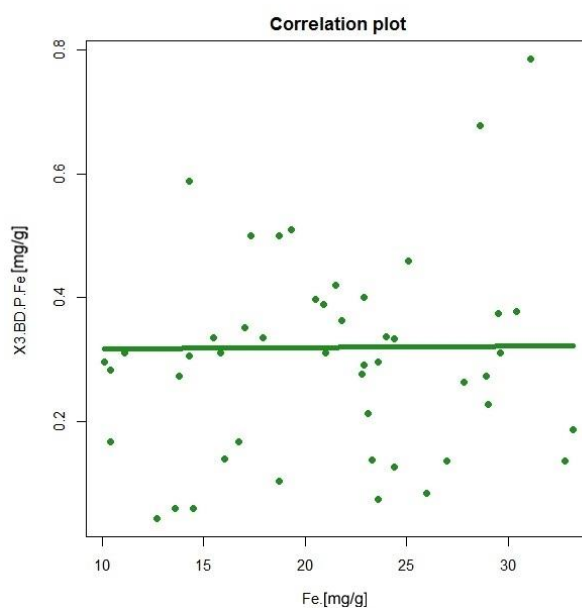
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci vápníku



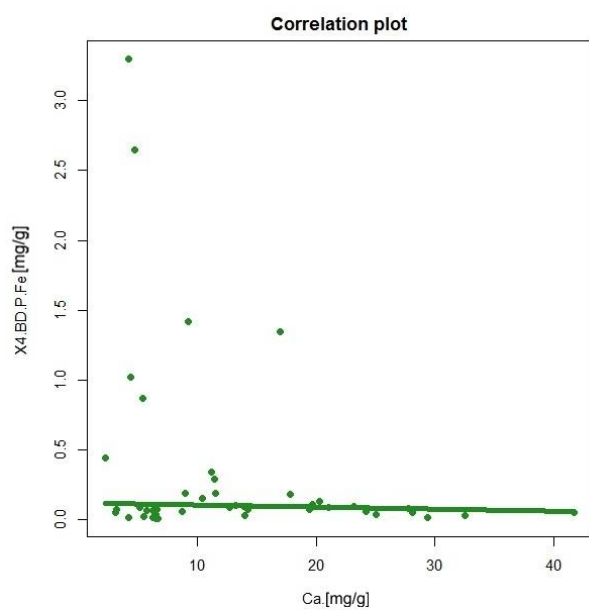
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 2. EDTA na koncentraci železa



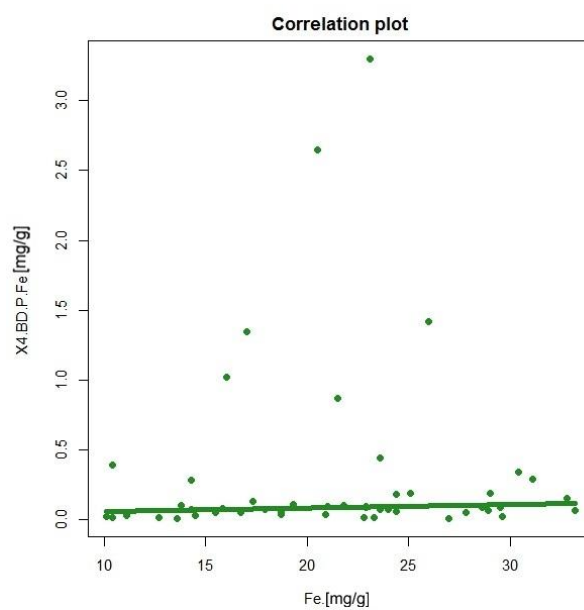
Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace fosforu vázaného na železo, stanovené metodou 3. BD na koncentraci železa



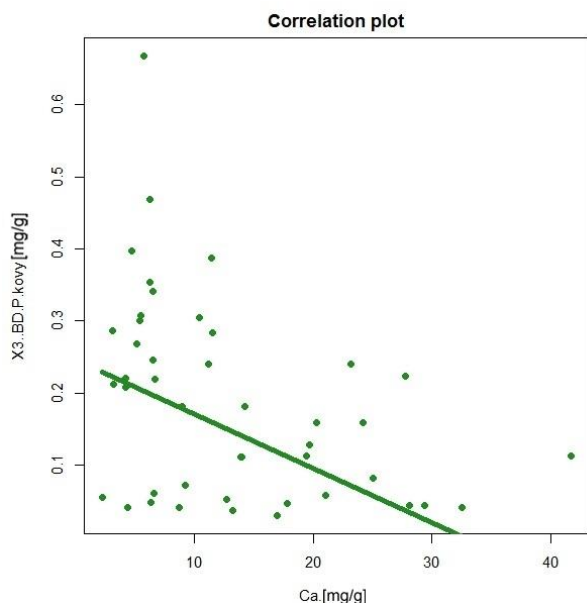
Závislost koncentrace fosforu vázaného
na železo, stanovené metodou 4. BD
na koncentraci vápníku



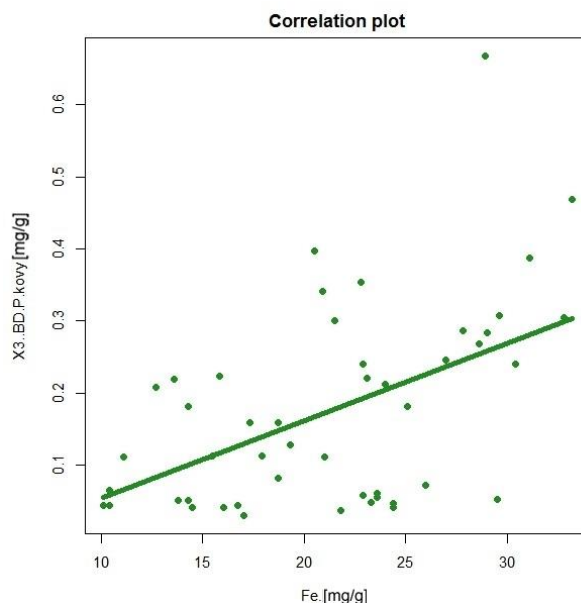
Závislost koncentrace fosforu vázaného
na železo, stanovené metodou 4. BD
na koncentraci železa

Příloha č. 9 Fosfor vázaný na oxidy kovů - korelační grafy

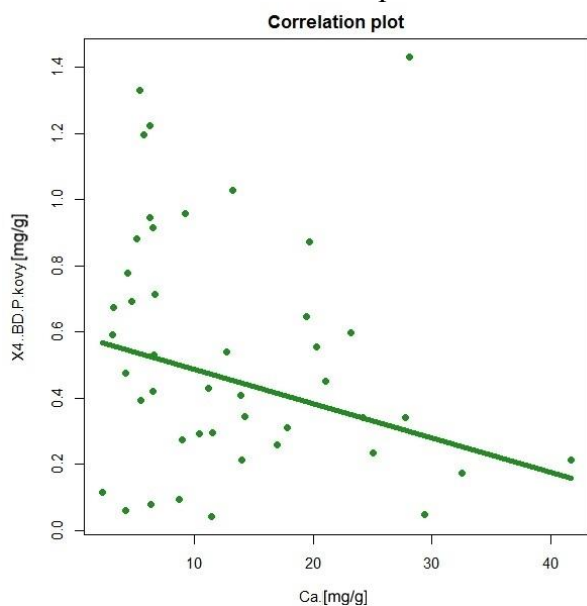
Korelační grafy – Závislost koncentrace fosforu vázaného s oxidy kovů, stanovené jednotlivými analytickými metodami, na koncentraci kovu



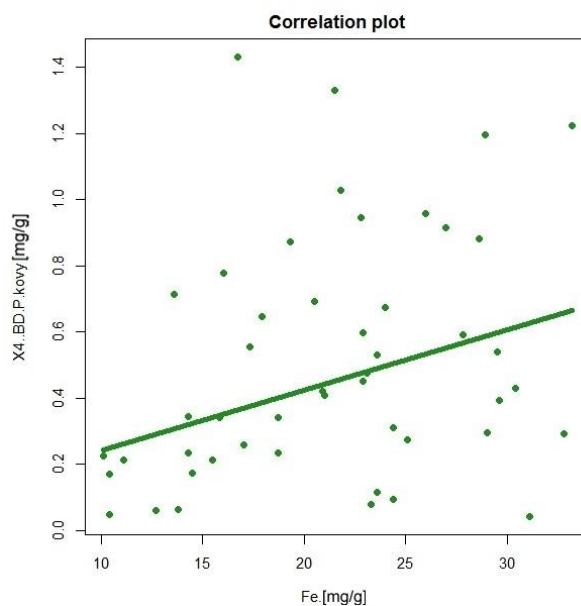
Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 3. BD na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 3. BD na koncentraci železa



Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 4. BD na koncentraci vápníku



Závislost koncentrace fosforu vázaného na oxidy kovů, stanovené metodou 4. BD na koncentraci železa