

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Geologie
Studijní obor: Ložisková geologie



Bc. Barbara Nováková

Denní změny koncentrace vybraných prvků v arsenem bohaté vodoteči na Mokrsku
Diel variations of selected elements in arsenic-rich stream at the Mokrsko

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Petr Drahota, Ph.D.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12.8.2011

Barbara Nováková

ABSTRAKT

Na vzorcích povrchové potoční vody ze zlatonosné lokality Mokrsko byl proveden filtrační a ultrafiltrační experiment, který prokázal, že většina prvků obsažených ve vodě je přítomna v rozpuštěné formě a pro následující odběrové experimenty stačí používat filtry o pórovitosti 0,45 nebo 0,1 μm . Následovaly dva dvacetičtyřhodinové odběrové experimenty, během nichž byly každou hodinu odebrány vzorky vody. Výsledky měly prokázat změny rozpuštěných koncentrací stopových prvků v potoční vodě během denního cyklu. K určení možného vlivu sorpce těchto prvků na biofilm byly odebrány vzorky přírodního a uměle vykultivovaného biofilmu. Výsledky potvrdily pravidelné změny rozpuštěných koncentrací As, Sb a Mo s maximy po poledni a minimy brzy ráno. Ostatní prvky se chovaly konzervativně nebo se jejich koncentrace pohybovaly v blízkosti jejich detekčních limitů. Tyto cykly jsou pravděpodobně způsobené sorpcí na biologický a mineralogický substrát v korytě potoka, která je řízena pravděpodobně změnami teploty. Na odebrané vzorky biofilmů se studované prvky vázaly a také u nich docházelo k určitým změnám (přibližně o 35-96%), ovšem bez zjevné závislosti na jejich rozpuštěné obsahy ve vodě.

SUMMARY

The filtration and ultrafiltration experiment was applied on the stream water at the Mokrsko gold deposit and the results revealed that most of the elements were in the dissolved form and the 0,45 or 0,1 μm filters could be used. During two 24-h field experiments, water samples were collected at 1-h intervals in order to prove the diel changes in the concentration and speciation of several trace elements. The determination of sorption processes at the surface of or within the veneer of biofilm has been determined by collecting natural and artificial priphyton. The results showed regular diel changes of As, Sb and Mo with highest concentrations occurring after the moon and the lowest concentrations in the early morning. The dissolved concentrations of other elements are conservative or their values were closed to their detection limits. The diel cycles are caused by changes in adsorption/desorption equilibria induced by diel cycles of temperature. The samples of biofilm revealed increased concentrations of the elements under the study and their diel variation were significant (approximately 35-96%); however, biofilm-controlled diel cycles of dissolved concentrations have not been proved.

OBSAH

1. ÚVOD.....	1
1.1 Důvody, cíle a hypotézy diplomové práce.....	1
2. ARSEN.....	2
2.1 Vlastnosti arsenu.....	2
2.2 Toxicita a detoxifikace arsenu	2
2.3 Zdroje arsenu v prostředí a jeho výskyt	3
2.3.1 Mineralogie.....	3
2.3.2 Arsen ve vodním prostředí.....	4
2.3.3 Arsen v ostatních formách výskytu.....	5
2.4 Mobilita arsenu ve vodním prostředí.....	5
2.4.1 Adsorpce.....	5
2.4.2 Redukční rozpouštění.....	8
2.4.3 Vliv mikrobiální aktivity.....	9
3. DENNÍ CYKLY FYZIKÁLNÍCH PARAMETRŮ VODY A VYBRANÝCH PRVKŮ	10
3.1 Úvod a princip	10
3.1.1 Další možné příčiny změn koncentrací prvků	11
3.1.2 Role biofilmu.....	11
3.2 Denní cykly fyzikálně-chemických parametrů vody.....	12
3.2.1 Teplota vody	12
3.2.2 Rozpuštěné plyny.....	12
3.2.3 pH.....	12
3.2.4 Průtok.....	13
3.2.5 Anorganický a organický uhlík.....	13
3.3 Denní cykly vybraných prvků.....	14
3.3.1 Železo.....	14
3.3.2 Arsen.....	14
3.3.3 Kationty stopových prvků.....	14
4. LOKALITA	16
4.1 Úvod.....	16
4.2 Geologie.....	16
4.2.1 Ložisko Mokrsko.....	17
4.4 Geochemie.....	18
4.4.1 Horninové prostředí.....	18

4.4.2 Půda	18
4.4.3 Voda.....	19
5. METODIKA	21
5.1 Filtrační experiment.....	21
5.2 Jednodenní experiment	21
5.2.1 Příprava v laboratoři a v terénu před experimentem.....	22
5.2.2 Dvacetičtyřhodinový monitorovací experiment.....	23
5.2.3 Zpracování vzorků v laboratoři.....	27
6. VÝSLEDKY.....	30
6.1 Filtrační experiment.....	30
6.2 Jednodenní monitoring	31
6.2.1 Voda.....	31
6.2.2 Přírodní biofilm.....	40
6.2.3 Umělý biofilm.	44
6.2.4 RTG suspenze.....	49
7. DISKUSE.....	50
7.1 Filtrační experiment.....	50
7.2 Voda.....	50
7.3 Adsorpce na biofilm.....	52
8. ZÁVĚR.....	54
9. CITOVANÁ LITERATURA	55

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Eh-pH diagram pro arsen při 25°C a 101,3 kPa.	4
Obr. 2. Základní biogeochemické procesy ovlivňující chemismus přírodních vod během dne a noci s neutrálním a mírně alkalickým pH.	10
Obr. 3. Geologická mapa ložisek Čelina-Mokrsko.	17
Obr. 4. Obec Mokrsko.	19
Obr. 5. Piperův graf znázorňující základní chemismus povrchových vod na Mokrsku.....	20
Obr. 6. Umístění sklíčků s přírodním a umělým biofilmem na dně potoka.....	22
Obr. 7. Podložní sklíčka zalitá suspenzí WC média s biofilmem.....	23
Obr. 8. Odběr vzorků vody pomocí ruční pumpy a teflonové hadice do odběrové nádoby.....	24
Obr. 9. Elektrody pro měření pH, DO a vodivosti umístěné do potoka.....	25
Obr. 10. Měření průtoku pomocí kalibrované nádoby.....	25
Obr. 11. Separace As(III)/(AsV) redukcí borohydridem.....	28
Obr. 12. Výsledky filtračního experimentu pro Ba, Mg, Sr, Na.....	30
Obr. 13. Výsledky filtračního experimentu pro As, Mo, Sb, DOC.....	31
Obr. 14. Průběh vývoje průtoku, vodivosti a teploty s vyznačenou dobou mezi západem a východem slunce.	32
Obr. 15. Průběh vývoje pH a DO s vyznačenou dobou mezi západem a východem slunce.....	33
Obr. 16. Průběh rozpuštěných a celkových koncentrací As, Mo, Sb, Mn a Fe.....	34
Obr. 17. Grafy závislosti pH a teploty s vybranými prvky a vyznačenými Pearsonovými korelačními koeficienty <i>r</i>	37
Obr. 18. Grafy závislosti průtoku a vybraných prvků s vyznačenými Pearsonovými korelačními koeficienty <i>r</i>	38
Obr.19. Graf závislosti DOC a Cu s vyznačeným Pearsonovým korelačním koeficientem <i>r</i>	40
Obr. 20. Achnanthes, Coelastrella.	40
Obr. 21. As, Mo, Sb, Mn, Fe a Cd, Zn adsorbované na přírodní biofilm, celkové i adsorbované obsahy.....	41
Obr. 22. Meridion, Phormidium.	45
Obr. 23. As, Mo, Sb, Mn, Fe a Cd, Zn adsorbované na umělý biofilm, celkové i adsorbované obsahy.....	45
Obr. 24. Difrakční záznam suspenze zachycené jedním z filtrů.....	49
Obr. 25. Diagram zobrazující jednobuněčné organismy, minerální sraženiny a krusty obsahující MOH, FOH, exopolysacharidovou matrix (EPS), mrtvé buňky a horninový substrát.....	52

OBSAH TABULEK

Tab. 1. Adsorpce As na vybrané pevné fáze.....	8
Tab. 2. Přehled odběrů vzorků.	26
Tab. 3. Tabulka detekčních limitů analyzovaných prvků.....	29
Tab. 4. Denní změny a maximální a minimální hodnoty rozpuštěných koncentrací zájmových prvků.	37
Tab 5. Korelační koeficienty rozpuštěných koncentrací zájmových prvků.....	37

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Eh	oxidačně-redukční potenciál
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová ($C_{10}H_{16}N_2O_8$)
HDPE	vysokohustotní polyetylen
(HPLC-)ICP-MS	kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem s indukčně vázanou plazmou
ICP-OES	optický emisní spektrometr s indukčně vázanou plazmou
p	hladina statistické významnosti
p.a.	pro analysis purity
<i>r</i>	Pearsonův korelační koeficient
RTG	rentgenový
s.s.	sensu stricto

Pozn.: V seznamu nejsou uvedeny zkratky všeobecně známé nebo uvedené s vysvětlením v textu.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha I. Analýza stopových prvků pro filtrační experiment.
- Příloha II. Analýza hlavních a stopových prvků pro filtrační experiment.
- Příloha III. Fyzikálně-chemické parametry, 2010.
- Příloha IV. Fyzikálně-chemické parametry, 2010.
- Příloha V. Fyzikálně-chemické parametry, 2010.
- Příloha VI. Fyzikálně-chemické parametry, 2010.
- Příloha VII. Fyzikálně-chemické parametry, 2010.
- Příloha VIII. Analýza rozpuštěných ($< 0,1 \mu\text{m}$) koncentrací, 2010.
- Příloha IX. Analýza rozpuštěných koncentrací ($< 0,1 \mu\text{m}$), 2010.
- Příloha X. Analýza celkových (okyselených) koncentrací, 2010.
- Příloha XI. Analýza celkových (okyselených) koncentrací, 2010.
- Příloha XII. Celkové obsahy prvků v přírodním biofilmu, 2010.
- Příloha XIII. Adsorbované obsahy prvků na přírodní biofilm, 2010.
- Příloha XIV. Celkové obsahy prvků v umělém biofilmu, 2010.
- Příloha XV. Adsorbované obsahy prvků na umělý biofilm, 2010.
- Příloha XVI. Fyzikálně-chemické parametry, 2011.
- Příloha XVII. Fyzikálně-chemické parametry, 2011.
- Příloha XVIII. Fyzikálně-chemické parametry, 2011.
- Příloha XIX. Analýza rozpuštěných ($< 0,1 \mu\text{m}$) koncentrací, 2011.
- Příloha XX. Analýza rozpuštěných ($< 0,1 \mu\text{m}$) koncentrací, 2011.
- Příloha XXI. Analýza celkových (okyselených) koncentrací, 2011
- Příloha XXII. Analýza celkových (okyselených) koncentrací, 2011.
- Příloha XXIII. Celkové obsahy prvků v přírodním biofilmu, 2011.
- Příloha XXIV. Adsorbované obsahy prvků na přírodní biofilm, 2011.
- Příloha XXV. Celkové obsahy prvků v umělém biofilmu, 2011.
- Příloha XXVI. Adsorbované obsahy prvků na umělý biofilm, 2011.

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především svému školiteli Mgr. Petrovi Drahotovi, Ph.D. za odborné vedení, pomoc a zvláště pak za trpělivost a chápavý přístup v laboratoři i terénu a při sepisování této diplomové práce.

Poděkování patří také všem, kteří přispěli radou nebo se podíleli na analýzách, jmenovitě RNDr. Janu Rohovci, Ph.D, Mgr. Pavlovi Škaloudovi, Ph.D., Prof. RNDr. Martinovi Mihaljevičovi, CSc., Mgr. Michalovi Filippimu, Ph.D., Mgr. Tomášovi Matouškovi, Ph.D., Doc. RNDr. Vojtěchovi Ettlerovi, Ph.D., Marii Fayadové a pracovníkům Laboratoří geologických ústavů a Výzkumného ústavu vodohospodářského T.G. Masaryka v Podbabě. Poděkování patří také Bc. Aleši Redlichovi a Grantové agentuře ČR.

Dále bych ráda poděkovala svým blízkým, především svému partnerovi Lukášovi, za podporu po dobu mého studia.

1. ÚVOD

Problematika arsenu v životním prostředí je v současnosti závažným environmentálním tématem. Výzkumu arsenu se dnes daří díky snaze lépe porozumět fenoménu rozsáhlých kontaminací podzemních rezervoárů pitné vody ohrožující zdraví milionů lidí (Oremland a Stolz 2003). Přestože je arsen lidstvu známý již od starověku - v minulosti byl používán například v metalurgii, válečnictví, pro výrobu barev nebo jako jed i léčivo (Miller a kol. 2002; Nriagu 2002) - stále zbývá mnoho otázek o chování arsenu v životním prostředí, na které je třeba najít odpovědi. Státy, ve kterých jsou obyvatelé často nuceni pít vodu s obsahy arsenu výrazně překračující limit WHO pro pitnou vodu (10 µg/l; WHO 2008), jsou například Bangladéš, Indie, Vietnam, Kambodža, Taiwan, Argentina, Chile, Mexiko, USA (Fendorf a kol. 2010).

1.1 Důvody, cíle a hypotézy diplomové práce

V mnoha studiích bylo prokázáno, že v přírodních vodách dochází ke změnám koncentrací některých prvků. Tyto změny jsou pravidelné a probíhají v denních i ročních cyklech (Nimick a kol. 2003, 2005; Gammons a kol. 2007). V potoční vodě na zlatonosné lokalitě Mokrsko byly studovány koncentrace arsenu a dalších prvků pro účely stanovení jejich hmotnostní bilance (Drahota a kol. 2006) a v rámci této práce byly zjištěny velké změny v jejich obsazích během roku (Drahota a kol. 2011). Sezónní změny rozpuštěných koncentrací As, Zn, Cu, Mo se v Mokrském potoku během dvou let pozorování měnily až o 330% a to tak, že kationty kovů dosahovaly maximálních koncentrací na jaře, zatímco anionty As a Mo se chovaly přesně opačně (minima na jaře a maxima na podzim). Tyto cykly mohou být podle Drahoty a kol. (2011) způsobeny sorpčními procesy a bakteriální aktivitou ve dnovém sedimentu (podrobněji v Kapitole 2. a 3.).

Tato diplomová práce na předchozí výzkum navazuje a zaměřuje se na cyklus denní. Hlavní hypotézou je, že bude docházet ke změnám koncentrace arsenu a dalších prvků během dne (s předpokladem, že jsou způsobeny výše zmíněnými či jinými procesy). Dále byla položena otázka,

- (1) jak velká je frakce, ve které jsou prvky v potoční vodě na Mokrsku opravdu rozpuštěné.
- (2) zda bude docházet i ke změnám speciace anorganického arsenu během dne způsobeným různou mikrobiální aktivitou v systému sediment-voda. Ve zkoumané potoční vodě byly zjištěny ve velké míře formy trojmocného arsenu vedle forem arsenu pětimocného (Drahota a kol. 2009), přestože z hlediska termodynamické rovnováhy by trojmocný arsen neměl být přítomen.
- (3) zda dochází k adsorpci arsenu a dalších sledovaných prvků na biofilmy a zda mohou hrát tyto substráty významnou roli ve změnách rozpuštěné koncentrace prvků na studované lokalitě.

Tyto hypotézy jsou testovány během dvou 24-hodinových odběrových experimentů provedených na lokalitě Mokrsko.

2. ARSEN

Arsen na lokalitě Mokrsko je pro tuto práci hlavním zájmovým prvkem, a proto se v řešeršní části diplomové práce budu věnovat především jemu – přestože předmětem našeho studia jsou i další prvky.

2.1 Vlastnosti arsenu

Arsen je polokov vyznačující se schopností měnit mobilitu, reaktivitu i toxicitu (O`Day 2006). Toto chování je důsledkem jeho elektronové struktury a vazebných vlastností, díky kterým ochotně mění oxidační stav a vazebná uspořádání. V periodické tabulce prvků ho najdeme ve třetím řádku páté skupiny, přímo pod dusíkem a fosforem, se kterými má společné některé vlastnosti. Díky této poloze má přebytek elektronů a nenaplněné valenční orbitály, které jsou schopné zároveň poskytovat elektron i sdílet kovalentní vazbu (O`Day 2006).

Arsen se vyskytuje ve čtyřech oxidačních stavech: As(-III), As(0), As(III), As(V). Díky afinitě arsenu k některým prvkům se elementární arsen vyskytuje jen zřídka (Oremland a Stolz 2003; O`Day 2006) s občasnou výjimkou v hydrotermálních rudách (O`Day 2006). V přírodních sloučeninách se váže především na kyslík a síru, se kterou tvoří silně kovalentní vazby. Afinita arsenu k těmto dvěma prvkům spolu se snadnou vazbou na methylové skupiny tvoří strukturní základ pro velké množství různých přírodních a syntetických sloučenin, organických i anorganických (O`Day 2006).

2.2 Toxicita a detoxifikace arsenu

Schopnost arsenu chovat se jako jed i léčivo je znám po celou historii lidstva (Nriagu 2002; O`Day 2006). Například oxid arsenitý, „utřejch“, bílý prášek bez chuti a zápachu, je známý jako vraždící prostředek (Cullen a Reimer 1989). Arsen je karcinogen (zvláště dlouhodobé vystavování arsenu podporuje některé rakovinové formy kůže, močového měchýře, plic a ledvin; National Research Council 1999) a také způsobuje kardiovaskulární choroby, cévní onemocnění a ovlivňuje mentální vývoj dětí (Chen a kol. 1996). Paradoxně však mohou nízké dávky vázané do specifických forem léčit některé formy leukémie a nádorů (Miller a kol. 2002).

Míra toxicity záleží na chemické formě arsenu (Oremland a Stolz 2003). Anorganické formy trojmocného arsenu (arsenitany, As(III)) jsou za normálních podmínek mobilnější a až šedesátkrát toxičtější (Korte a Fernando 1991) pro rostliny, mikrobiotu a vyšší živočichy včetně člověka než anorganické formy pětímocného arsenu (arseničnany, As(V)). Zvýšená koncentrace As(III) v přírodních prostředích tedy může mít podstatný vliv na životní prostředí (Nimick 1998; McArthur a kol. 2001).

Arsen postihuje enzymové systémy a je toxický především ze dvou příčin. Arseničnan jako molekulární analog fosforečnanu (nahrazuje fosfor) potlačuje oxidační fosforylaci probíhající v mitochondriích a narušuje tak tkáňové dýchání. Arsenitan je mnohem více toxický, protože se váže na thiolové skupiny proteinů (afinita redukovaného arsenu k síře; O`Day 2006) a poškozuje tak jejich funkci (National Research Council 1999).

Orgány se mohou arsenu zbavit různými způsoby, zahrnujícími metylaci (na monomethylové a dimethylové sloučeniny arsenu), vázání proteinů a oxidaci či redukci arsenu (Carter a kol. 2003). Nejprostudovanější mechanismus detoxikace je pomocí proteinu ArsC, který zprostředkovává redukci As(V) na As(III) v cytoplasmě (Rosen 2002). Využívá ho celá řada mikroorganismů, například *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* (Langner a Inskeep 2000), *Desulfovibrio* (Macy a kol. 2000).

2.3 Zdroje arsenu v prostředí a jeho výskyt

Přestože průměrný obsah arsenu v zemské kůře je relativně nízký (průměrně 6 mg/kg; Bissen a Frimmel 2003; Oremland a Stolz 2003); na mnoha místech je však arsen hojně rozšířený a běžně se vyskytuje zejména v asociaci s rudami zlata a polymetalických kovů (Nriagu 2002; Bissen a Frimmel 2003). Hlavním zdrojem přirozené kontaminace pedosféry a hydrosféry arsenem je zvětrávání minerálů, které ho obsahují (Morin a Calas 2006).

Lidská aktivita zvýšila obsah arsenu v některých půdách kontaminací z průmyslu a zemědělství (Morin a Calas 2006; O`Day 2006). Antropogenně kontaminované půdy se tak chovají jako další zdroj arsenu i pro jiné sféry prostředí, což může ovlivňovat jídelní řetězec a nepříznivě působit na růst rostlin, zvířat a na lidské zdraví (O`Day 2006). Antropogenním zdrojem arsenu mohou být následující procesy nebo produkce: hutě a hutní strusky (tavba Cu, Pb, Zn, Ni rud), spalování uhlí, drenáže hlušin a odkališť, kožedělné odpady, produkce pigmentu pro barviva a laky, průmyslová výroba skla a polovodičů, lékařství, roxarsony (krmení drůbeže, zažívací prostředek pro prasata), odstraňování odpadů, výroba chemikálií obsahujících arsen a další (Czarnecki a Baker 1982; Bissen a Frimmel 2003; Oremland a Stolz 2003; Morin a Calas 2006; O`Day 2006). Používání pesticidů a herbicidů je nejnámějším a v nedávné historii nejvýznamnějším využitím arsenu v zemědělství (Oremland a Stolz 2003; Morin a Calas 2006; O`Day 2006). V minulém století se tyto přípravky často používaly nezodpovědně s ohledem na možný dopad na životní prostředí, ale v současné době jsou patrně snahy o regulaci. Také důlní činnost může uvolňovat vysoké koncentrace arsenu tím, že např. dojde k velmi rychlé oxidaci sulfidických minerálů obsahujících arsen kyselými důlními vodami (AMD; Williams 2001). Přes všechny tyto lokalizované zdroje antropogenního znečištění, je největším nebezpečím pro zdraví člověka arsen přirozeného původu v podpovrchových vodních kolektorech (Nordstrom 2002; Oremland a Stolz 2003).

2.3.1 Mineralogie

V přírodě se vyskytuje více než 300 minerálů arsenu. Z toho je přibližně 20% sulfidů a sulfosolů, které se vyskytují primárně v hydrotermálních a magmatických rudních ložiskách (Drahota a Filippi 2009). Nejběžnějšími primárními sulfidy jsou arsenopyrit (FeAsS), arsenem bohatý pyrit (FeS_2) a realgar (As_4S_4). Realgar (žlutý) a auripigment (As_2S_3 , červený) byly v minulosti používány jako barvivo (O`Day 2006). Realgar je na vzduchu nestabilní a alteruje na pararealgar (AsS , Clark 1999). Některé kovy jako kobalt, nikl, měď často tvoří pevné roztoky s arsenem a sírou ve formě sulfidů a sulfosolů (O`Day 2006). Dále jsou známy arsenidy kovů, ve kterých arsen tvoří slitiny s železem, kobaltem, niklem a mědí, ale jde jen o vzácné výskyty v hydrotermálních a magmatických rudních ložiskách (O`Day 2006).

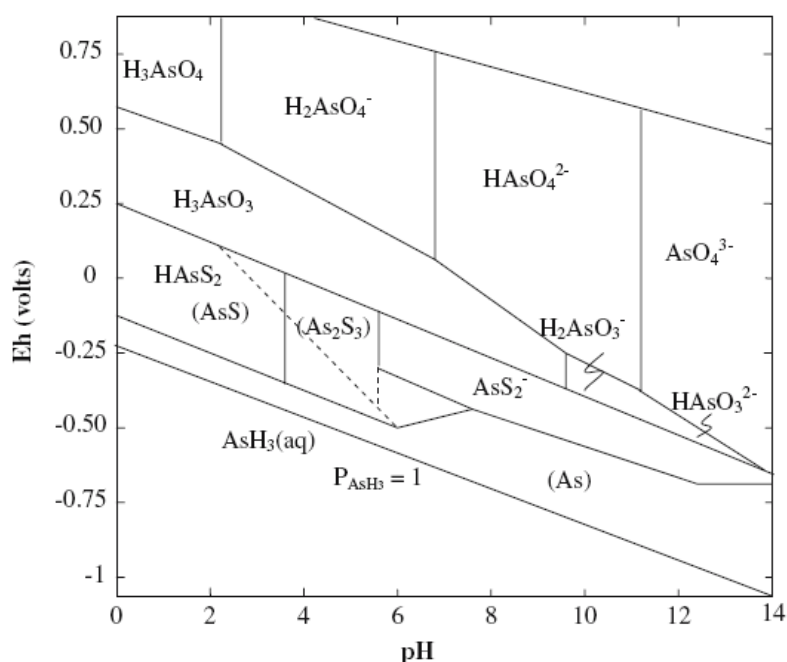
V oxidačních podmínkách je arsen z primárních minerálů postupně uvolňován jako trojmocný arsenitan, který se může dále oxidovat na pětímocný arseničnan a tyto specie pak mohou tvořit širokou škálu sekundárních minerálů vyskytující se zejména na (bio)geochemických rozhraních v půdách a v dalších prostředích (O`Day 2006; Drahota a Filippi 2009). Zvětrávacími produkty sulfidů arsenu jsou například jednoduché As(III) oxidy arsenolit a klaudetit (oba As_2O_3). Jedná se o polymorfy vznikající přirozeně jako sekundární minerály, ale jsou také nacházeny jako produkty kondenzace arsenem bohatých par po pražení arsenových rudních minerálů nebo spalování uhlí (O`Day 2006; Drahota a Filippi 2009). Oxidací sulfidů však vznikají nejčastěji skorodit ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), vzácnější adamin ($\text{Zn}_2(\text{AsO}_4)(\text{OH})$) a erytrin ($\text{Co}_3(\text{AsO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) a mnoho dalších (Chvátal 2005; Drahota a Filippi 2009). Tyto minerály jsou běžně nalézány jako zvětrávací produkty sulfidických minerálů obsahujících arsen v oxidačních zónách ložisek rudních surovin, ale i v kontaminovaných půdách a sedimentech (Belzile a Tessier 1990; Drahota a kol. 2009; Drahota a Filippi 2009). Velmi významnou roli ve fixaci

arsenu ze zvětrávacích roztoků hrají také nejrůznější sorbenty v půdách a sedimentech, o kterých pojednávám v Kapitole 2.4.

2.3.2 Arsen ve vodním prostředí

V sladkých přírodních vodách se arsen vyskytuje v rozmezí koncentrací od méně než 0,15 µg/l až do 1 mg/l (Bisen a Frimmel 2003).

Převládající formou anorganického arsenu ve většině přírodních vod (neutrální až mírně alkalické pH ~ 4-10) v oxidických prostředích je arseničnan As(V) (jako oxyaniont $H_xAsO_4^{x-3}$), zatímco arsenitan As(III) (ve formě $H_3AsO_3^0$ a $H_2AsO_3^0$) převládá v anoxických, redukčních prostředích (Inskeep a kol. 2002; Oremland a Stolz 2003). Arseničnan je termodynamicky stabilní při hodnotách redoxního potenciálu (Eh) přibližně nad +300 mV při pH 4 a -200 mV při pH 9, zatímco arsenitany převládají v hodnotách Eh pod touto linií (obr. 1; Inskeep a kol. 2002; O'Day 2006).



Obr. 1. Eh-pH diagram systému As-O-S-H₂O při 25°C a 101,3 kPa (převzato z Wang a Mulligan 2006).

Přestože je arseničnan typický pro oxická vodní prostředí, mnoho studií potvrdilo, že existují případy, kdy v těchto prostředích As(III) převažuje nad As(V) (takový stav byl zjištěn i ve vodách na lokalitě Mokrsko; Drahot a kol. 2009). Je to obvykle způsobeno pomalou kinetikou abiotické oxidace As(III), a naopak biologicky katalyzovanou redukcí As(V) (Cullen a Reimer 1997; Macur a kol. 2001).

V silně redukčních prostředích, ve kterých se vyskytuje síra v podobě rozpuštěného sirovodíku, vytváří arsenitan stabilní komplexy s rozpuštěnou sulfidickou sírou As-S, nebo se sráží v podobě sulfidů (Inskeep a kol. 2002).

Organické formy rozpuštěného arsenu se ve vodách vyskytují zejména ve formě methylovaných sloučenin, které jsou běžné především v přírodních vodách se zvýšenou mikrobiální aktivitou (O'Day 2006). Jedná se o metabolické produkty vodní bioty (Cullen a Reimer 1989), případně močové výměšky zvířat a lidí (Aposhian a kol. 2000).

2.3.3 Arsen v ostatních formách výskytu

Nejznámějším plynným zástupcem je arsenovodík (arsin, AsH_3) známý svou extrémní toxicitou. Jde o nejredukovanější formu arsenu vůbec. Je to volatilní plyn jen slabě rozpustný ve vodě (O'Day 2006). Představuje koncový mikrobiální produkt a právě kvůli jeho volatilitě může být množství arsenovodíku v životním prostředí přehlíženo (Cullen a Reimer 1989; Francesconi a Kuehnelt 2002).

V přírodních systémech se kromě převládajících anorganických forem arsenu často vyskytují také organické formy s arsenem, a to především methylované sloučeniny a deriváty karbohydrátů arsenu (Morin and Calas 2006). Nejběžnějším procesem syntézy organických sloučenin je biomethylace arsenu živými organismy v půdě a ve vodě, nejrozšířenější je zejména biomethylace v mořích. Methylovaný arsen vzniká připojením methylové skupiny ($-\text{CH}_3$), která nahrazuje hydroxylové ($-\text{OH}$) ligandy v oxyaniontu arsenu. Arsen také vstupuje do struktury celé řady cukrů a tuků nebo může substituovat dusík v trimethylglicinu (betainu), čímž vznikne arsenobetain (Burguera a Burguera 1997). Arsenolipidy a arsenosacharidy jsou koncovým produktem detoxifikace arsenu mikroorganismy a bezobratlými (Cullen a kol. 1989; Francesconi a Kuehnelt 2002; Oremland a Stolz 2003). Proto jsou organické látky s arsenem obvykle méně toxické než anorganické sloučeniny arsenu (Gettar a kol. 2000). Vzhledem k tomu, že syntéza organických sloučenin s arsenem je podmíněna přítomností mikroorganismů metabolizujících anorganický arsen, jsou methylované formy arsenu častěji nalézány v půdách a v sedimentech než ve vodách (Gettar a kol. 2000). V biomase se organický arsen vyskytuje zejména jako arsenobetain, arsenocholin a arsenofosfolipidy (Pitter 1999).

2.4 Mobilita arsenu ve vodním prostředí

Vstup arsenu do přírodních vod z pevné fáze kontaminantu (půda, sediment) je problém velkého významu, např. kvůli zvýšeným koncentracím rozpuštěného arsenu v podzemních vodách, které představují významné zdroje pitné vody. Kromě fyzikálně-chemických procesů v systému pevná fáze-voda také vyžaduje porozumění významu mikroorganismů v biogeochemii arsenu (Oremland a Stolz 2003).

Procesů které ovlivňují mobilitu rozpuštěného arsenu v přírodních podmínkách je více (Oremland a Stolz 2003) a mohou se navzájem kombinovat. Zahrnují zejména oxidaci As-sulfidů (Chowdhury a kol. 1999), mikrobiální redukci As(V) sorbovaného na oxyhydroxidy železa či jiné substráty (Harvey a kol. 2002; McArthur a kol. 2002), výměnu adsorbovaného arsenu s jinými anionty (Nordstrom 2000; Stollenwerk 2003), redukční rozpouštění oxyhydroxidů kovů biotickými nebo abiotickými cestami (Roden a Zachara 1996; Jones a kol. 2000; Inskeep a kol. 2002; Oremland a Stolz 2003).

2.4.1 Adsorpce

Zachycování arsenu na povrchu klastických minerálů nebo na jejich povlacích je přirozený proces významně redukcující množství rozpuštěného arsenu ve vodním prostředí. Bývá využíván také jako remediační technologie pro odstranění arsenu z pitné vody nebo z kyselých důlních vod (Oremland and Stolz 2003; Stollenwerk 2003; Morin a Calas 2006).

Ionty kovů na povrchu oxidu kovu, který je častým sorbentem, se ve vodě zaplňují skupinami OH (Hingston a kol. 1972). V závislosti na pH mohou tyto OH skupiny vázat nebo uvolňovat proton (H^+), což vede ke vzniku různých funkčních skupin na povrchu sorbentu (O^- , OH, OH_2^+) a tedy i určitého náboje na povrchu pevné částice (Sposito 1984). Adsorpce se může uskutečnit pomocí dvou mechanismů. Prvním je nespecifická adsorpce využívající elektrostatické přitažlivé síly mezi nabitým povrchem a opačně nabitým iontem v roztoku, který se váže na sorbent v určité vzdálenosti od minerálního povrchu. Specifickou adsorpcí vznikají na povrchu minerálu koordinační komplexy

(Hingston a kol. 1972), jejichž chemické vazby jsou silnější než vazby nespecifické adsorpce (Stollenwerk 2003).

Adsorpce a desorpce jsou rychlé reversibilní reakce, které ochotně reagují na měnící se pH roztoku (Nimick a kol. 2011). Specifická adsorpce arsenu je odvozena od změn v pH_{ZPC} (pH zero point of charge) pevné fáze reprezentující pH roztoku, ve kterém je celkový náboj povrchu sorbentu nulový (Sposito 1984). Pokud je pH prostředí nižší než pH_{ZPC} sorbentu, je náboj povrchu sorbentu kladný díky adsorpci přebytečných protonů a dochází tak převážně k adsorpci aniontů z roztoku. Při pH vyšších než pH_{ZPC} sorbentu, je náboj povrchu pevné fáze záporný, protože dochází k desorpci protonů, a tehdy převažuje adsorpce kationtů (Hingston a kol. 1972; Anderson a Malotky 1979). Kromě pH závisí adsorpce na vlastnostech povrchu pevné fáze, koncentraci a speciaci rozpuštěného prvku a ostatních kompetičních iontů v roztoku a teplotě (Stollenwerk 2003). Adsorpce také stoupá s rostoucím povrchem pevné látky, tedy s klesající krystalinitou různých oxyhydroxidů, protože tak přibývá sorpčních míst.

Adsorpce arsenu

Arsen se adsorbuje pomocí ligandové výměny s povrchovými funkčními skupinami OH a OH_2^+ . To vyžaduje rozpuštěný arsen ve formě ne zcela disociované kyseliny (např. $H_2AsO_4^-$), která poskytuje proton pro komplexaci s povrchovou skupinou OH za vzniku H_2O , díky čemuž se na povrchu sorbentu vytvoří prostor pro aniont arsenu (Hingston a kol. 1972).

Kyselé podmínky tedy způsobují protonizaci minerálního povrchu, který přitahuje a adsorbuje arseničnanové anionty. Když pH stoupne nad 7, vzroste negativní náboj povrchu pevné fáze a rozpuštěný As(V) se adsorbuje méně úspěšně než As(III), který se adsorbuje neefektivněji při pH 8 – 9 (Stollenwerk 2003). Díky tomu je As(III) mobilnější než As(V) v kyselých až neutrálních prostředích a méně mobilní v prostředích alkalických (Inskeep a kol. 2002; Stollenwerk 2003). V mírně redukčních podmínkách vzrůstá adsorpce As(III) s klesajícím pH. V oxických prostředích, kde převládá As(V), jeho adsorpce klesá se vzrůstajícím pH (Stollenwerk 2003).

Adsorpci arsenu mohou významně ovlivňovat ostatní anionty soutěžící s ním o adsorpční místa na povrchu sorbentu. Například přítomnost fosfátu, sulfátu, karbonátu, křemičitanu a dalších aniontů má v různé míře vliv na pokles adsorpce arsenu (Stollenwerk 2003). Kinetika adsorpce arsenu je rychlá, více než devadesát procent arsenu se nasorbuje během několika hodin, dosažení úplné rovnováhy pak obvykle trvá několik dní (Stollenwerk 2003). Závislost adsorpce arsenu na teplotě záleží na entropii roztoku a mnoha dalších faktorech konkrétních podmínek. Adsorpce As(III) stoupá se vrůstající teplotou, zřejmě kvůli zvýšené difuzi následující po adsorpci (Fuller a kol. 1993). Opačný vliv teploty na adsorpci As(V) je způsobený exotermickým projevem adsorpčních reakcí (Mohapatra a kol. 2007).

Nejvýznamnějšími sorbenty arsenu jsou hojně se vyskytující oxyhydroxidy kovů, které mají velký specifický povrch a mají schopnost vytvářet povlaky na jiných pevných částicích. Jedná se především o oxyhydroxidy železa, hliníku a manganu, dále pak jílové minerály a organické substráty (např. biofilm, viz. Kapitola 3.1). V přírodních vodách se oxyhydroxidy kovů často vyskytují v suspenzi (koloidní částice), jako novotvořené minerály na makrofytním povrchu a v sedimentu na dně nebo v hyporheické zóně (Stollenwerk a kol. 2003; Morin a Calas 2006; Nimick a kol. 2011). Adsorpce As(III) a As(V) je úspěšná při pH nižším než pH_{ZPC} těchto sorbentů (Manning a Goldberg 1996a). Tyto látky imobilizují arsen a další stopové prvky také v jiných přírodních systémech na rozhraní pevná fáze-roztok, např. v sedimentech zvodní (Belzile a Tessier 1990) a v saturovaných i nesaturovaných půdách (Morin a kol. 2002).

Oxyhydroxidy železa (FOH)

Oxyhydroxidy železa jsou velmi časté fáze v sedimentech a půdách a vyskytují se jako samostatná zrna i jako povlaky na zrnech ostatních minerálů. Ferrihydrit ($Fe_2O_3 \cdot 2H_2O$) je velmi málo krystalický

prekurzor většiny krystalických FOH s velkým specifickým povrchem a tudíž představuje velmi významný adsorbent arsenu a dalších stopových prvků (Dzombak a Morel 1990). Ferrihydrit může navázat až X00 miligramů trojmocného nebo pětímocného arsenu na kilogram substrátu (Goldberg 2002). K adsorpci As(V) na ferrihydrit dochází nejméně při nižších pH (2,2 – 6,9), zatímco As(III) se adsorbuje více než As(V) při vyšších pH než 6,9 (v takových pH podmínkách As(III) ve vodě převládá jako H_3AsO_3^0 , která snadněji dodá proton povrchové OH skupině než negativně nabitě ionty As(V); tab. 1; Stollenwerk 2003).

Goethit ($\alpha\text{-FeO(OH)}$) má podobné adsorpční vlastnosti jako ferrihydrit, ale protože je více krystalický, adsorbuje se na něj arsenu méně (Sun a Doner 1998). Ještě menší povrch má hematit (Fe_2O_3), adsorbuje se na něj asi o polovinu méně arsenu než na goethit. Na goethit a lepidokrokit ($\gamma\text{-FeO(OH)}$) se As(V) nejvíce adsorbuje okolo pH 6, zatímco na hematit mezi pH 7-8. Při pH nižším než 2,5 může být As(V) adsorbován na jarosit ($\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$; Fukushi a kol. 2003).

Oxyhydroxidy hliníku (AOH)

Atom Al(III) má stejný náboj a velmi podobný atomový poloměr jako atom Fe(III), takže AOH mají podobnou strukturu i adsorpční vlastnosti jako FOH (Stollenwerk 2003). Kolem pH 7 bývá As(V) silně adsorbován na amorfni i krystalický Al(OH)_3 (gibbsit), $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ a $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$. Nejvyšší míra adsorpce As(III) na tyto fáze byla nalezena při pH 8 (tab. 1; Manning a Goldberg 1997). Amorfni Al(OH)_3 adsorbuje více As(V) než krystalický $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ a než gibbsit (Anderson a Malotky 1979). Nekrystalické AOH adsorbují v rozmezí pH 5-8 jen o málo méně As(V) než FOH (Gulledge a O`Conner 1973).

Oxyhydroxidy manganu (MOH)

Nejběžnější MOH patří do birnessitové skupiny a vyznačují se nízkým pH_{ZPC} . Díky tomu se As(III) nejvíce adsorbuje na MOH za nižších pH (okolo pH 4) než na FOH a AOH a adsorpce As(V) je tedy za normálních podmínek přírodních vod na MOH zanedbatelná (Stollenwerk 2003). Jde například o birnessit ($(\text{Na,Ca,K})_x(\text{Mn}^{\text{IV}},\text{Mn}^{\text{III}})_2\text{O}_4 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$), kryptomelan ($\text{K(Mn,Mn)}_8\text{O}_{16}$) a pyrolusit (MnO_2 ; Oscarson a kol. 1983), který je nejvíce krystalický a tedy disponuje nejslabšími adsorpčními vlastnostmi.

Jílové minerály

Jílové minerály se skládají z vrstev oxidů křemíku a hliníku, nicméně pro adsorpci aniontů arsenu jsou vhodné jen OH skupiny vázané na hliníkové ionty, které jsou schopné přijmout proton od oxyaniontu arsenu (Stollenwerk 2003). Nejběžnější představitelé jílových minerálů v půdách a sedimentech jsou kaolinit, montmorilonit, illit, halloysit a chlorit (Frost a Griffin 1977; Manning a Goldberg 1997). Podobně jako u předchozích skupin minerálních fází i zde závisí adsorpce na pH, koncentraci arsenu a jeho speciaci, a především na velikosti povrchu (množství adsorpčních míst). Montmorilonit, který má 2,5 krát větší specifický povrch než kaolinit, je schopen adsorbovat dvakrát více As(III) a As(V) než kaolinit. K nejméně efektivní adsorpci As(V) dochází okolo pH 7, ve vyšších pH množství adsorbovaného As(III) jen o málo převyšuje As(V) (tab.1; Manning a Goldberg 1997).

Tab. 1. Adsorpce As na vybrané pevné fáze. S: specifický povrch, As: přibližné množství adsorbovaného As při pH, As_{in} : iniciační koncentrace As v roztoku, pH: pH maximální adsorpce (nízké: adsorpce klesá s rostoucím pH, vysoké: adsorpce roste s rostoucím pH; podle: Sisir 2006).

Sorbent	S(m ² /g)	As (%)	Specie	pH	As _{in}	Reference
ferrihydrit	202	100	As(V)	nízké (3)	40 mg/l	Raven a kol. 1998
	202	100	As(V)	4-7,5	120 mg/l	
	202	30	As(V)	nízké (3)	2 000 g/l	
	202	100	As(III)	9	40 mg/l	
	202	100	As(III)	vysoké (10)	120 000 mg/l	
	202	45	As(III)	9	2 000 mg/l	
kaolinit	34,2	89	As(V)	5	10,1 mg/l	Frost a Griffin 1997
	34,2	32	As(V)	5	123 mg/l	
	34,2	77	As(III)	vysoké	8,4 mg/l	
	34,2	34	As(III)	vysoké	68 mg/l	
montmorillonit	86	50	As(V)	5	128 mg/l	
	86	57	As(III)	vysoké (7)	66,7 mg/l	
gibbsit	45	38	As(V)	4,3	10 mg/l	Manning a Goldberg 1996b
	45	27	As(V)	nízké (6)	20 mg/l	
goethit	43,7	41	As(V)	nízké (3)	10 mg/l	
	43,7	34	As(V)	nízké (3)	20 mg/l	
illit	24,2	85	As(III)	9	30 μM	Manning a Goldberg 1997
amorfní Al(OH) ₃	5,9	90	As(III)	8	30 μM	

2.4.2 Redukční rozpouštění

Arsen je uvolňován z arsenem bohatých oxyhydroxidů železa mikrobiální redukcí FOH (mikrobiálně katalyzovaná redukce Fe(III) na Fe(II)), která může být doprovázena i mikrobiální redukcí As(V) na As(III), který je v redukčních podmínkách stabilnější a obvykle mobilnější než As(V) (Inskeep a kol. 2002; Oremland a Stolz 2005; Morin a Calas 2006; Fendorf a kol. 2010).

Aby v podzemní vodě vzrostla koncentrace arsenu vlivem redukčního rozpouštění FOH, je nutné, aby byly splněny tři podmínky: (1) částečná saturace vody kyslíkem, (2) omezený přísun síry a (3) zdroj organického uhlíku, který je současně hlavním dárce elektronů pro redukcí Fe(III) a zdrojem uhlíku pro mikroorganismy (Fendorf a kol. 2010). V případě zvýšeného obsahu síry ve velmi redukčním prostředí obvykle dochází k mikrobiálně katalyzované redukcí sulfátu na sirovodík, který se může vázat na arsen a vytvářet tak málo rozpustné As-sulfidické minerály, které v redukčních prostředích efektivně odstraňují trojmocný arsen z podzemní vody (Langner a kol. 1999; Macy a kol. 2000; Inskeep a kol. 2002; Buschmann a Berg 2009). Rozpuštěné formy sulfidické síry (H₂S, HS⁻) zde mohou také působit jako důležité redukční činidlo (poskytují elektrony arseničnanu) pro redukcí As(V) na As(III) (Inskeep a kol. 2002). V neutrálních vodách je redukce arseničnanu rozpuštěným sulfidem velmi pomalá, ale při pH nižších než 5 může být tato redukce významná (Inskeep a kol. 2002). Při absenci rozpuštěných sulfidů jsou tedy koncentrace rozpuštěného arsenu v podzemních vodách vlivem redukčního rozpouštění FOH výrazně zvýšené (Masscheleyn a kol. 1991; Jones a kol. 2000).

Kinetika a úspěšnost redukčního rozpouštění je opět závislá na krystalinitě a velikosti povrchu pevné fáze (Roden a Zachara 1996; Jones a kol. 2000). Obecně se rychlost děje zvyšuje s větším povrchem (např. amorfní ferrihydrit vs. dobře krystalický goethit; Inskeep a kol. 2002).

2.4.3 Vliv mikrobiální aktivity

Některé mikroorganismy regulují kinetiku redoxních reakcí arsenitanu a arseničnanu a využívají ji pro svůj metabolismus (Oremland a Stolz 2005). Tyto mikroorganismy mohou přispívat k mobilizaci arsenu z pevné fáze do vodního prostředí následujícím způsobem. Primárně je arsen přítomný ve formě redukováných minerálů jako jsou realgar, auripigment a arsenopyrit. Tyto minerály jsou napadány bakteriemi, které získávají energii z oxidace arsenitanu, dvojmocného železa a sulfidické síry se souběžnou fixací CO₂ do organické hmoty. Arseničnan je postupně adsorbován na oxidizované povrchy minerálních substrátů jako jsou ferrihydrit nebo oxid hlinitý. Bakterie DARP (disimilační prokaryoty redukující arseničnan) pak na povrchu těchto sorbentů selektivně redukují adsorbovaný As(V), což vede k uvolnění As(III) do vodní fáze (Oremland a Stolz 2003). V případě, že se rozpuštěný arsen vyskytuje ve formě arseničnanu, mikrobiální redukce na arsenitan probíhá dvěma způsoby. Buď je As(V) používán jako koncový elektronový akceptor během anaerobního dýchání, kdy některé prokaryotní organismy využívají oxyanionty arsenu pro získání energie (Macy a kol. 2000; Stolz a Oremland a Stolz 2003) nebo dochází k procesu detoxifikace, kdy mikroorganismus redukuje uvnitř své cytoplazmy arseničnan na arsenitan, který se snadněji vylučuje pomocí specifických proteinů *Ars* (Ji 1992; Silver 1993; Macur a kol. 2001). Detoxifikační redukce As(V) se vyskytuje v aerobních a anaerobních podmínkách saturovaných i nesaturovaných půd a sedimentů a v přírodních vodách. Disimilační redukce As(V) vyžaduje striktně anaerobní podmínky, při nichž jsou zejména organické látky (např. glukóza) primárním dodavatelem elektronu (Inskeep a kol. 2002). Disimilační redukce As(V) na As(III) se běžně odehrává v mikroaerobních až anoxických podmínkách, v sedimentech, saturovaných půdách a zvodních (Masscheleyn a kol. 1991; Nimick 1998) a může přispívat k oxidaci organické hmoty (Oremland a Stolz 2003).

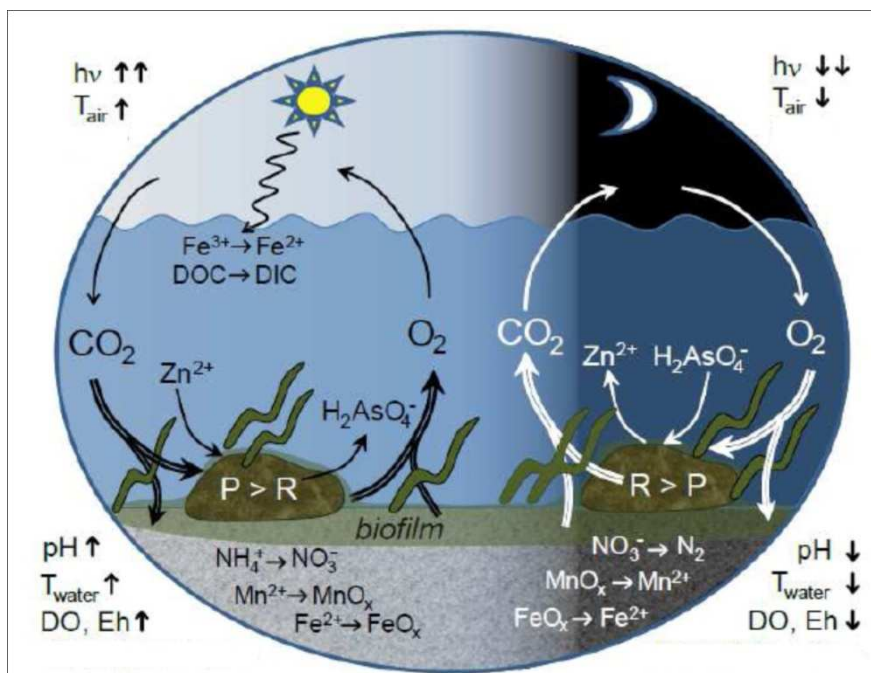
Tyto procesy jsou urychlovány i lidskou aktivitou, která způsobuje vstup oxidantů do přírodních systémů, např. vstup atmosferického kyslíku při hloubení studní a snižování vodní hladiny nebo dusičnanů a organické hmoty v případě hnojení v zemědělských oblastech. To způsobuje na jedné straně rychlejší oxidaci sulfidů či As(III) a na straně druhé vytvoření anoxických podmínek a zvětšení mikrobiální biomasy (a organické hmoty s ní spojené), které podporují uvolnění arsenu do vodní fáze vlivem redukčního rozpouštění či disimilační redukce As(V) (Harvey a kol. 2002; Oremland a Stolz 2003). Zvýšené koncentrace arsenu úzce korespondují se zvýšenými hladinami vedlejších metabolických produktů v podzemních vodách, jako jsou anorganický uhlík, amoniak, metan a rozpuštěné dvojmocné železo (Dowling a kol. 2002; Harvey a kol. 2002; Buschmann a Berg 2009).

3. DENNÍ CYKLY FYZIKÁLNÍCH PARAMETRŮ VODY A VYBRANÝCH PRVKŮ

3.1 Úvod a princip

Denní cykly stopových prvků v neutrálních a alkalických podmínkách jsou způsobovány vzájemně se prolínajícími fyzikálními a biogeochemickými procesy. Zdrojem jejich energie je energie sluneční, která v průběhu dne i roku ovlivňuje teplotu vody a aktivitu fotosyntetizujících mikroorganismů (obr. 2). Během dne dochází k fotosyntéze, při níž je spotřebováván oxid uhličitý a produkován kyslík (v noci naopak převládá respirace, která oxid uhličitý vytváří), což má vliv na koncentraci těchto plynů rozpuštěných ve vodě a tím i na její pH. Při nižším parciálním tlaku oxidu uhličitého stoupá pH a naopak. Změna teploty naopak ovlivňuje koncentraci rozpuštěného kyslíku, který řídí Eh (Nimick a kol. 2003, 2011).

Změny pH a Eh mají vliv na reakce mezi pevným substrátem a vodní fází, což ovlivňuje složení vody i sedimentu na dně koryta (obr. 2). Mění se pH určuje náboj povrchu minerálního nebo organického substrátu, což má vliv na adsorpci iontů (viz. Kapitola 2.4.1). Ve dne, kdy je pH vody vyšší, dochází k adsorpci kationtů, zatímco anionty se z povrchu minerálů a biofilmu uvolňují a ve vodě tak roste koncentrace rozpuštěných aniontů; v noci pak opačným procesem stoupá obsah kationtů (Fuller a kol. 1993; Trivedi a Axe 2000). Se změnou Eh se amoniakální dusík ve dne oxiduje na dusičnan a Fe(II) a Mn(II) se sráží na pevné oxidy (resp. Fe(II) a Mn(II) se oxidují na Fe(III) a Mn(III),(IV), které se ihned hydratují).



Obr. 2. Základní biogeochemické procesy ovlivňující chemismus přírodních vod během dne a noci s neutrálním a mírně alkalickým pH. Ve dne dochází k fotosyntéze a snížení pH, adsorpci kationtů a desorpci aniontů. DIC: bikarbonát (rozpuštěný anorganický uhlík), DOC: rozpuštěný organický uhlík, DO: rozpuštěný kyslík, Eh: oxidačně-redukční potenciál, hv: fotony, P: fotosyntéza, R: respirace, T: teplota, Zn²⁺: kationty kovů, H₂AsO₄⁻: běžná forma arsenu ve vodě (převzato z: Nimick a kol. 2011).

Tyto procesy pak mohou vést k pravidelným denním cyklům rozpuštěných koncentrací některých prvků. Tyto cykly byly zjištěny především pro kationty železa, manganu, zinku, kadmia a prvků vzácných zemin nebo pro anionty arsenu (Nimick a kol. 2011). U některých kovů však k denním cyklům nedochází nebo u nich dosud nebyly zjištěny. Nebyly například zaznamenány zřetelné denní

cykly koncentrací mědi, olova, molybdenu a antimonu (Nimick a kol. 2003, 2011; Tercier-Waeber a kol. 2009).

Porozumění těmto biogeochemickým cyklům je zásadní pro rozvrh sběru dat pro určení kvality povrchových vod nebo pro geochemické a ekologické studie toků. Odběr vzorku v určitý čas totiž nemusí zachytit jeho nejvyšší nebo ani průměrnou denní koncentraci (Nimick a kol. 2003, 2011). To může být důležité pro interpretaci analýz, jejichž výsledky podléhají normám například životního prostředí nebo kvality pitné vody. Ze stejného důvodu je třeba se změnami koncentrací prvků počítat i při výpočtu hmotnostních bilancí prvků a v podobných studiích na povodích.

3.1.1 Další možné příčiny změn koncentrací prvků

Změna v adsorpční a desorpční rovnováze je jediná hypotéza, která vysvětluje opačné denní cykly koncentrací kationtů (např. Cd, Mn, Zn) a aniontů (např. As; Nimick a kol. 2011). Denní cykly změn koncentrací stopových prvků ve vodotečích mohou být ale způsobené i jinými procesy a jejich kombinací a prolínáním.

Těmi mohou být mikrobiálně řízené redoxní cykly manganu a železa (Brick a Moore 1996; viz. Kapitola 2.4), kdy rozpouštění FOH a MOH uvolňuje adsorbované stopové prvky zpět do vodního sloupce a jejich srážení je odstraňuje z rozpuštěné frakce. Oxidace Mn(II),(III) a Fe(II) roste s rostoucím pH, teplotou a fotosyntézou během dne, zatímco redukce může dominovat během noci, kdy klesá koncentrace rozpuštěného kyslíku. Toto cyklické srážení a rozpouštění FOH a MOH se odehrává především v tocích bohatých organickou hmotou nebo uvnitř biofilmu, kde dochází k mnohem větším změnám pH a redoxního potenciálu než v okolním vodním prostředí (Nimick a kol. 2011).

Denní cykly koncentrací prvků mohou být vyvolané také zvýšenými přítoky z tání sněhu v horských potocích (Sullivan a kol. 1998), hydraulickou výměnou mezi povrchovou vodou v toku a hyporheickou zónou (Brick a Moore 1996) nebo rozpouštěním karbonátů (Whitton a kol. 1981).

3.1.2 Role biofilmu

Velká část biogeochemických procesů, které ovlivňují vodní chemismus toků, se odehrává na povrchu nebo uvnitř tenké vrstvy biofilmu (perifytonu) pokrývající sediment a makrofyta v korytě řek a potoků. Biofilm se skládá z masy odumřelých i živých bakterií, hub, filamentózních a jednobuněčných řas a rozsviek (Hill a kol. 2000; Fein a kol. 2001; W1, W2); biofilm je tvořen pouze z živých složek. Vzhledem k výsledkům našich analýz (Kapitola 7.) budu v dalším textu pro toto společenství organismů používat především výraz biofilm. Biofilm je důležitý sorpční substrát stejně jako hydratované oxidy kovů (Hill a kol. 2000; Fein a kol. 2001) a ovlivňuje tak denní cykly živin, rozpuštěného organického uhlíku a kovů (Nimick a kol. 2011). Několik studií pomocí mikroelektrod prokázalo velmi výrazné zvýšení pH a DO během dne a jejich pokles v noci na povrchu biofilmu, což má za následek i menší změny těchto parametrů v okolní vodě. Mezi vzrůstem pH uvnitř biofilmu způsobeným fotosyntézou a zvýšením pH ve vodním sloupci dochází ke zpoždění o 1 hodinu (Beck a kol. 2009). Také chemismus vody v biofilmu se může výrazně lišit od průměrného složení potoční vody (Cicerone a kol. 1999).

Výzkumu adsorpce stopových prvků na biofilm v závislosti na pH a teplotě nebylo provedeno mnoho a týká se převážně jen kovů tvořící kationty (viz. rešeršní práce Ginn a Fein 2008, 2009; Mishra a kol. 2009). Například, Beck a kol. (2009, 2011) zjistili denní cykly rozpuštěného kadmia a niklu řízené adsorpcí na biofilm: když vlivem fotosyntézy vzrostlo pH vody, prvky se adsorbovaly na koloidní částice biofilmu. Pokud je mi z literatury známo, podobné studie sledující adsorpci aniontů (arsen, molybden, antimon) na biofilm nebyly dosud provedeny.

3.2 Denní cykly fyzikálních parametrů vody

3.2.1 Teplota vody

Rozdílné teploty vody během dne způsobuje sluneční záření, teplotní výměna s atmosférou a interakce s hyporheickou zónou. Teplotní výměnu mezi atmosférou a potoční vodou ovlivňuje teplota vzduchu, relativní vlhkost, oblačnost a rychlost větru (Poole a Berman 2001). K největším změnám teploty dochází v mělkých a nestíněných tocích a to především během léta za nižších průtoků (Nimick a kol. 2005).

Teplota vody v potoce významně ovlivňuje kinetiku a rovnováhu bio/geochemických reakcí, a proto se od změn teploty vody odvíjí většina biochemických i hydrologických cyklů. Denní teplotní cykly mohou ovlivnit hydraulickou vodivost vody (Constantz a kol. 1994), rozpustnost minerálů a plynů (Drysdale a kol. 2003), sorpci prvků (Fuller a Davis 1989) a řadu dalších procesů (Nimick a kol. 2011).

3.2.2 Rozpuštěné plyny

Nejvýznamnějšími plyny, jejichž koncentrace v tocích podléhá denním cyklům jsou rozpuštěný kyslík a oxid uhličitý (DO a DCO). A právě ty mají zásadní vliv na pH a redoxní stav, představující dvě nevyznamnější fyzikálně-chemické charakteristiky ovlivňující geochemii přírodních vod (Nimick a kol. 2011).

Jak již bylo zmíněno výše, rozpustnost obou plynů je řízena teplotou. Nejvyšší koncentrace DO a DCO ve vodě, kde nehrají roli biologické procesy, je během noci, kdy je teplota vody nejnižší (Nimick a kol. 2011). Mnohem výrazněji jsou ale denní cykly těchto plynů ovládnuty biologickými procesy, respektive fotosyntézou a respirací vodních rostlin, řas a mikroorganismů (Wright a Mills 1967; Loperfido a kol. 2009). Během dne fotosyntéza převažuje nad respirací, oxid uhličitý je spotřebováván a produkuje se kyslík. V noci naopak k fotosyntéze nedochází, respirace vyčerpává kyslík a tím se zvyšuje koncentrace DCO. Denní cykly koncentrace DO a DCO tak mají inverzní průběh (Nimick a kol. 2011). K výrazným denním změnám DO dochází především v čistých a pomalých tocích. Ve velkých řekách omezují fotosyntézu částice v suspenzi, které snižují intenzitu slunečního světla (Loperfido a kol. 2009). Kromě fotosyntézy, respirace a teplotně závislé rozpustnosti plynů má na koncentraci DO a DCO také vliv kinetika výměny plynů s atmosférou, míšení vod, fotolýza a redoxní reakce (Loperfido a kol. 2009).

3.2.3 pH

Hodnota pH potoční nebo říční vody je velmi důležitá, neboť se jedná o proměnnou ovlivňující důležité biogeochemické procesy - adsorpci a desorpci stopových prvků, rozpouštění a srážení minerálů, chemickou speciaci rozpuštěných prvků, karbonátový chemismus, nitrifikaci a mikrobiální růst. Pokud dochází k denním cyklům pH, pak dochází i k cyklům těchto procesů a tedy i ke změnám chemismu rozpuštěných prvků (Wright a Mills 1967; Nimick a kol. 2011).

Jak již bylo zmíněno výše, dominantním procesem který je příčinou změn pH vody jsou denní změny koncentrace DCO způsobené převládající fotosyntézou nebo respirací ve vodním prostředí. S rostoucím obsahem oxidu uhličitého ve vodě klesá její pH (Nimick a kol. 2011).

V kyselých nebo živinami bohatých tocích mohou být denní změny pH způsobeny také oxidací Fe(II), hydrolyzou specií Fe(III), fotoredukcí Fe(III) a oxidací NH₄, nicméně změny pH jsou v těchto případech jen velmi malé (Nimick a kol. 2011).

Amplituda denních cyklů pH nebývá vyšší než 1 jednotka pH (v průběhu roku se s teplem zvyšuje; Nimick a kol. 2005).

3.2.4 Průtok

V neregulovaných tocích jsou příčinou odlišných průtoků během dne a roku sněhová tání a srážky, evapotranspirace a infiltrace vody do dna koryta. Tyto přirozené děje pak narušují antropogenní vlivy jako je vypouštění vodních nádrží (Lundquist a Cayan 2002).

Denními i sezónními cykly mrazů a tání sněhu jsou ovlivňované především horské potoky (jejich průtok může během dne na jaře a v létě vzrůst o 10 - 70%), kde nejvyšší průtok koresponduje s intenzitou tání během dne (Caine 1992; Lundquist a Cayan 2002). Ve vodotečích, které nejsou táním sněhu ovlivněné obvykle klesá průtok mezi polednem a večerem a roste během pozdní noci a brzkého rána, a to především za nízkých průtoků v létě. Je to způsobeno evapotranspirací, kdy voda v korytě ubývá díky transpiraci nivní vegetace zachytávající podzemní vodu, která prosakuje do povrchového toku (Bond a kol. 2002; Czikowsky a Fitzjarrald 2004).

Evapotranspirace ovlivňuje nejčastěji cykly velkých prvků. V horských potocích způsobuje tání ledovců ředění iontů a také dochází k poklesu interakce vody s horninou (Sullivan a kol. 1998). Pokud jsou denní cykly průtoků způsobené vypouštěním přehrad, ke změnám chemismu vody obvykle nedochází, protože jde o stejný původ vody (Nimick a kol. 2011). Pro geochemické studie je znalost těchto cyklů důležitá, protože průtok ovlivňuje zvýšení nebo snížení koncentrace prvků v potoční vodě a tedy její chemické složení a vodivost (Nimick a kol. 2011).

3.2.5 Anorganický a organický uhlík

Obsah rozpuštěného anorganického uhlíku (DIC) ve vodě ovlivňují fotosyntéza s respirací a rozpouštění a srážení karbonátových minerálů. K největším denním změnám koncentrací DIC (až o 75%) dochází v tocích velmi bohatých na oxid uhličitý, které se vyskytují zejména v krasových oblastech (Spiro a Pentecost 1991). V těchto vodách odpovídají změny koncentrace DIC denním cyklům teploty vody, které ovlivňují rozpustnost kalcitu (Drysedale a kol. 2003). Ve vodách, které nejsou tak bohaté karbonáty bývají denní variace koncentrací DIC nízké (Jarvie a kol. 2000; Nagorski a kol. 2003) a jsou způsobené celkovou spotřebou oxidu uhličitého při fotosyntéze a jeho akumulací během noci. Tento cyklus se může kombinovat s periodickým srážením a rozpouštěním kalcitu nebo dalších karbonátových látek na povrchu makrofyt (Cicerone a kol. 1999). Kalcit se během dne sráží, protože jeho rozpustnost klesá s rostoucím pH a teplotou; v noci se pak znovu rozpouští (Gammons a kol. 2007). Proto mohou být denní cykly DIC doprovázeny cykly vápníku, hořčíku, stroncia či kadmia, které se na kalcit váží (Whitton a kol. 1981; Cicerone a kol. 1999; Gammons et al. 2007a).

Organická hmota je unášena tokem v rozpuštěné formě i v suspenzi a kvalita a kvantita rozpuštěné organické hmoty (DOM) se může měnit během roku i dne (Manny a Wetzel 1973; Kaplan a Bott 1982; Spencer a kol. 2007). Měřítkem množství DOM je obvykle rozpuštěný organický uhlík (DOC). Pokud byly tyto cykly nalezeny, koncentrace DOC se měnily až o 100%, a to tak, že vzrostly přes den a v noci klesly (Manny a Wetzel 1973; Kaplan a Bott 1982, 1989; Kuserk a kol. 1984). Tyto změny jsou pravděpodobně způsobeny metabolickými procesy heterotrofních organismů, které v noci, kdy neprobíhá fotosyntéza, konzumují DOC (Kuserk a kol. 1984). Autotrofní organismy naopak vylučují nestabilní DOC během dne, který nebyl spotřebovaný respirací (Nimick a kol. 2011). Změny denních koncentrací DOC nemusejí být často měřitelné, protože biogeochemické změny jsou v porovnání s celkovými koncentracemi malé (Spencer a kol. 2007). Denní cykly DOM tedy nejsou výrazné a mohou se projevovat jen v některých frakcích či speciích DOM. Přesto mají i malé změny ve složení DOM velký vliv na biogeochemické reakce (Nimick a kol. 2011).

3.3 Denní cykly vybraných prvků

3.3.1 Železo

Denní změny koncentrace a speciace železa jsou významné a časté, zvláště v kyselých vodách. Procesy které ovlivňují geochemii železa v přírodních vodách zahrnují fotoredukcí Fe(III) na Fe(II), oxidaci Fe(II) na Fe(III), srážení oxyhydroxidů železa (HFO), transport HFO v suspendované nebo koloidní formě a adsorpci Fe(II) na HFO a další povrchy. Vliv každého z těchto procesů se během dne může měnit (Nimick a kol. 2011).

K fotoredukcí rozpuštěného Fe(III) a koloidních specií na Fe(II) dochází ve všech hodnotách pH (nejrychlejší je však mezi pH 2 – 4) a je úměrná intenzitě slunečního záření (McKnight a kol. 2001). Fotoredukcí pak rychle následuje reoxidace na Fe(III). Tento proces je však silně závislý na hodnotě pH (při pH 3 je asi šestkrát pomalejší než při pH 7; Stumm a Morgan 1996). Při nízkých pH mohou rychlost oxidace zrychlovat některé bakterie (Gammons a kol. 2008). Oxidace je také citlivá na teplotu, v teplé vodě je rychlejší než ve studené.

Ve vodách s neutrálním nebo alkalickým pH mohou v noci vzrůst koncentrace Fe(II) také díky (1) desorpci Fe(II) z povrchu HFO a dalších pevných fází vlivem snížení pH a teploty a (2) rychlejší oxidaci Fe(II) během dne než v noci (Gammons a kol. 2005).

Kromě rozpuštěných specií železa podléhají denním změnám v koncentraci také partikulární Fe(III) (koloidy nebo suspendované pevné částice; Gammons a kol. 2005a; Parker a kol. 2008). To je velmi důležité pro mobilitu dalších rozpuštěných látek jako jsou arsen, měď, olovo, fosforečnany a DOC, které se na tyto částice váží (Vesper a Smilley 2010). Protože je oxidace rychlejší v teplé vodě, suspendované částice HFO se tvoří zejména během dne, a to především v prostředích se zvýšeným pH (Nimick a kol. 2011).

3.3.2 Arsen

Arsen je významným prvkem známým změnami svých rozpuštěných koncentrací ve vodách. Zjištěné denní cykly rozpuštěného arsenu jsou obvykle způsobeny jeho různou různou sorpční afinitou při pravidelných změnách pH. V průběhu celého dne byly zjištěny změny koncentrací arsenu o 20 - 54%, kdy se nejvyšší obsahy rozpuštěného arsenu v neutrálních a alkalických tocích vyskytovaly pozdě odpoledne (maximální hodnoty pH bývají o 1- 3 hodiny dříve z důvodu pomalejší adsorpční kinetiky arsenu) a minima v brzkých ranních hodinách (Brick a Moore 1996; Nimick a kol. 1998; Nimick a kol. 2003, 2005; Gammons a kol. 2007). V kyselých tocích měly tyto cykly opačné amplitudy s nejnižšími koncentracemi během pozdního odpoledne. Bylo to způsobeno zvýšenou denní tvorbou HFO a následnou adsorpcí arsenu (Parker a kol. 2008).

Stejně jako u železa se kromě koncentrace celkového rozpuštěného arsenu může měnit i poměr jeho specií. Ve většině neutrálních až alkalických přírodních vod však převažuje As(V), který se také zejména podílí na denních cyklech (Nimick a kol. 1998).

3.3.3 Kationty stopových prvků

Výrazné denní změny byly zaznamenány i pro rozpuštěné koncentrace mnoha stopových (Mn, Zn, Ni, Cd, atd.) a vzácných prvků (prvky vzácných zemin, REE). Tyto prvky mají během denních cyklů nejčastěji nejvyšší koncentrace krátce po svítání a nejnižší koncentrace odpoledne, což je opačný trend k denním cyklům rozpuštěného arsenu v neutrálních a alkalických vodách a k cyklům železa ve vodách kyselých (Nimick a kol. 2011). Amplituda těchto cyklů může být velmi výrazná. Nejvyšší

zaznamené změny koncentrace pro REE byly o 830% (Gammons a kol. 2005b), pro Zn 800% (Kimball a Runkel 2009), pro Mn 306%, Ni 167%, a Cd 119% (Nimick a kol. 2003).

4. LOKALITA

4.1 Úvod

Lokalita se nachází v bezprostřední blízkosti obce Mokrsko, která leží ve středních Čechách v okrese Příbram, asi 40 km jižně od Prahy a 6 km jihovýchodně od Nového Knína. Mokrsko se rozkládá na severozápadním svahu kopce Veselý (489 m.n.m.), jenž je z východní strany omýván Slapskou přehradou.

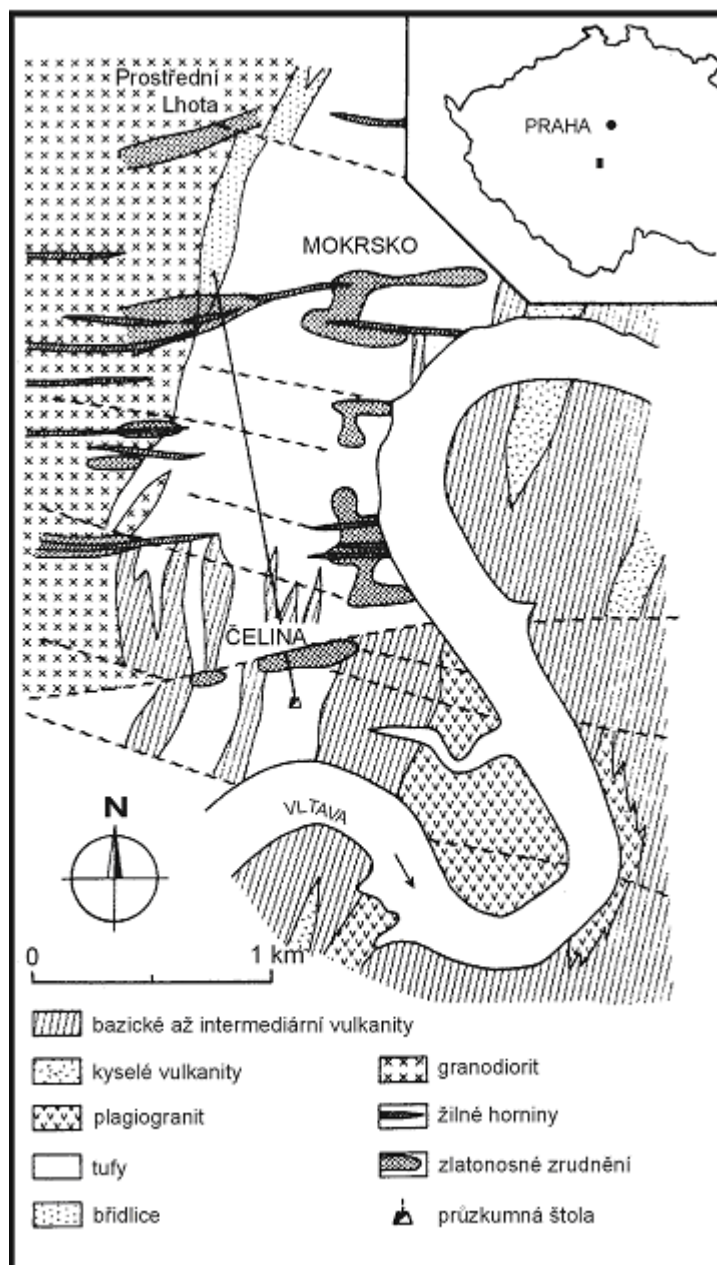
Zároveň v sobě tento vrch ukrývá největší netěžené ložisko zlata v Českém masivu (Morávek 1983; Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995). Ložisko Mokrsko bylo objeveno v raných osmdesátých letech při regionálním geochemickém průzkumu jílovského pásma na rudy zlata a mědi (Cliff a Morávek 1995). Významné je i mezi evropskými a světovými zlatými ložisky, a to jak z ekonomického hlediska, tak i z hlediska těžby (ložisko typu low-grade a příznivé ložiskové parametry - pravidelné zrudnění, mocnost, velký objem zásob). Pravděpodobně jde o největší netěžené ložisko zlata ve střední Evropě (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995). Odhaduje se, že zásoby na ložisku dosahují více než 100 tun zlata (Morávek 1983; Morávek a kol. 1989; Morávek 1990; Cliff a Morávek 1995) s generálním obsahem kovu v rudě 1,5-2 g/t (Morávek 1990). Vzhledem ke vtroušené mineralizaci je ložisko těžitelné povrchoým způsobem pomocí kyanidového loužení.

4.2 Geologie

Ložisko Mokrsko je součástí rudního revíru Psí hory (Cliff a Morávek 1995). Jedná se o střední úsek jílovského pásma mezi obcemi Prostřední Lhota a Cholín. Zlatonosný revír je vyvinutý v kontaktní zóně intruze amfibol-biotitového granodioritu (západní okraj slapského výběžku středočeského plutonu) a nízkometamorfovaných vulkanosedimentárních hornin západního okraje jílovského pásma (obr. 3; Morávek a kol. 1989; Janatka a Morávek 1990; Cliff a Morávek 1995).

Výskyt jednotlivých rudních těles ve zlatonosném pásmu Čelina-Mokrsko pravděpodobně závisí na povaze hostitelské horniny. Hlavní zóny anomálií zlata (> 100 ppb) se vyskytují v tufových komplexech podél kontaktu s mafickými vulkanity a na okraji granodioritového tělesa (Janatka a Morávek 1990). Koncentrace arsenu v granodioritu dosahuje velmi vysokých hodnot okolo 5000 ppm, zatímco ve vulkanosedimentárních horninách 500-600 ppm. Rozšíření dalších prvků jako je měď, kobalt nebo nikl je s litologií spjaté ještě více než zlatonosná mineralizace (Janatka a Morávek 1990).

Hlavním typem mineralizace jsou zlatonosné křemenné žíly a žilníky (Morávek a kol. 1989), vyplňující příkré V-Z tektonické dilatační zóny (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995). Kromě zlata se na ložiscích Čelina-Mokrsko vyskytují další dva typy mineralizace. První je sulfidická mineralizace exhalačního původu, tvořící stratiformní vrstvy v tufitických horninách bez ekonomického významu. Jedná se o rozptýlenou impregnaci i masivní agregáty pyritu a pyrhotinu s minoritním chalkopyritem. Ekonomicky zajímavější je epigenetická stratiformní sheelitová mineralizace, která litologicky souvisí s intermediálními a bazickými tufy (Janatka a Morávek 1990).



Obr. 3. Geologická mapa ložisek Čelina-Mokrsko (převzato z Morávek 1983).

4.2.1 Ložisko Mokrsko

V zóně Čelina-Mokrsko se vyskytují čtyři tělesa zlatonosné mineralizace (Čelina, Prostřední Lhota, Mokrsko-západ, Mokrsko-východ) v zóně delší než 2 km. Mezi nimi je nejvýznamnější ložisko Mokrsko-západ, které tvoří centrální a západní část vrchu Veselý (Morávek 1983; Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995).

Zlato je velmi jemnozrné (průměrně $< 10 \mu\text{m}$, výjimečně $30 \mu\text{m}$) a vysoké ryzosti (970/1000). Doprovází ho akcesorické minerály bismutu a minerály Bi-Te (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995). Zlatonosná mineralizace je charakteristická nízkým obsahem sulfidů ($< 3\%$). Převažujícím sulfidem je arsenopyrit (FeAsS), který je nejhojnějším primárním minerálem arsenu a také nejhojnějším rudním minerálem na ložisku, zřídka je ho ale více než několik procent (průměrně 0,1%). Pyrit (FeS_2), pyrhotin (FeS), molybdenit (MoS_2), chalkopyrit (CuFeS_2), sfalerit (ZnS) a sheelit (CaWO_4) jsou méně hojné. Nerudní minerály jsou zastoupeny dominantním křemenem s minoritním

mikroklinem, amfibolem, biotitem a zřídka kalcitem, chloritem, titanitem (Morávek a kol. 1989; Morávek 1990; Cliff a Morávek 1995).

Z distribuce prvků v řezu ložiska je zřetelná vertikální zonálnost mineralizace (Morávek a kol. 1989). Zatímco hustota křemenných žil a obsah zlata směrem do podloží klesají, obsahy arsenu a wolframu s hloubkou rostou (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995). Mineralizace nevykazuje významnou hydrotermální alteraci okolních hornin (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995).

4.4 Geochemie

Kromě zlata je v této oblasti zájmovým prvkem arsen, a to především z hlediska zájmu o životní prostředí. Zdrojem arsenu je arsenopyrit, který se vyskytuje v asociaci se zlatonosnou mineralizací. Zvýšené koncentrace arsenu v rudě a jeho mobilita během zvětrávacích procesů způsobují potenciální environmentální nebezpečí v podobě kontaminace podzemních vod loužením arsenu ze saprolitu a půdy. V oblasti okolo ložiska Mokrsko dosahuje arsen vysokých koncentrací v podloží, půdě, podzemní vodě, povrchové vodě a v biomase (Drahota 2008).

4.4.1 Horninové prostředí

Průměrná koncentrace arsenu v granodioritu a ve vulkanosedimentárních horninách je 1632 ppm a 652 ppm. Vysoké koncentrace arsenu jsou charakteristické zejména pro severní část rudní zóny ložiska Mokrsko-západ (Morávek a kol. 1989; Morávek 1990; Cliff a Morávek 1995).

Faktorová analýza velkého souboru analýz ukázala, že stopové prvky lze rozdělit do tří skupin: (1) prvky spojené se zlatonosnou mineralizací – As, Bi, (Mo, W), (2) prvky spojené s litologií – Co, Cu, Ni a místy W, (Zn, Pb) a (3) prvky spojené s mladší mineralizací – Ag, Ba, Pb, Sb, (Zn) (Morávek a kol. 1989; Cliff a Morávek 1995).

4.4.2 Půda

Okolí ložiska je zemědělskou oblastí ležící především na biotit-amfibolovém granodioritu (Drahota a kol. 2011). Půdy v této oblasti mohou být definovány jako kambisoly a glejové půdy, jejich mocnost je mezi jedním a deseti metry, v závislosti na topografii a drenáži (Drahota a kol. 2009). Zdejší půdy jsou většinou neutrálního pH, jen při povrchu kyselé (zřejmě díky organickým kyselinám) a převládají v nich oxidační podmínky (Drahota a kol. 2009). Neutrální pH půd je způsobené zvětráváním karbonátů, které jsou obsažené v žilovině.

Detailní půdní metalometrie oblasti a následné prvkové analýzy Au, Ag, As, B, Bi, Co, Cu, Mo, Ni, Pb, Sn, W, Zn v B horizontu půd zjistily vysoké koncentrace arsenu (> 200 mg/kg) v půdách okolo ložiska a mírně zvýšené koncentrace Zn (94 mg/kg), Cu (42 mg/kg), Mo (7 mg/kg; Janatka a Morávek 1990). Průměrné obsahy arsenu dosahují v okolí Mokrska 101 mg/kg, koncentrace arsenu nad 1000 mg/kg pokrývají území větší než 1 km² (Janatka a Morávek 1990).

Největším zdrojem arsenu v půdách je zvětrávání arsenopyritu v podložní hornině, které bylo vyčísleno na 1,37 kg As/ha/rok a odpovídá 95% z celkového přínosu As do půdy (Drahota a kol. 2006). Během zvětrávání podložní horniny je arsenopyrit oxidován a vznikají sekundární arseničnanové minerály a arsenem bohaté oxyhydroxidy železa, které jsou hlavními nositeli arsenu v půdách – arseniosiderit ($\text{Ca}_2\text{Fe}_3(\text{AsO}_4)_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), ferrihydrit ($5(\text{Fe}_2\text{O}_3) \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), goethit ($\text{FeO}(\text{OH})$), minerály farmakosideritové skupiny $((\text{K}, \text{BaCa})(\text{Fe}, \text{Al})_4(\text{AsO}_4)_3(\text{OH})_{4.5} \cdot 5-7\text{H}_2\text{O})$ a skorodit ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Drahota a Pertold 2005; Filippi a kol. 2007).

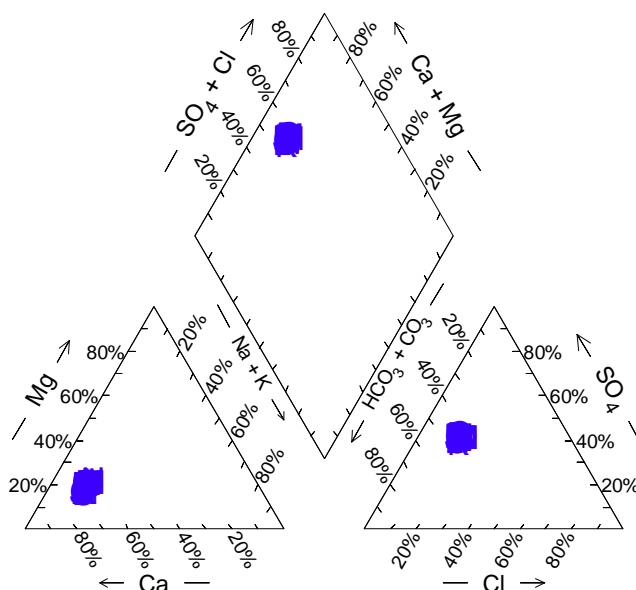
4.4.3 Voda

Mokrský potok odvodňuje ložisko Mokrsko-západ, protéká rybníkem v jihozápadní části obce a dále odtéká směrem k jihu. Před jeho vstupem do rybníka se na meliorační rýze nachází odběrové místo experimentů pro tuto diplomovou práci (obr. 4).



Obr. 4. Obec Mokrsko, červená šipka označuje odběrové místo (zdroj: W3).

Voda na Mokrsku je neutrální až slabě alkalická. Základnímu chemismu dominuje vápník (54,5-114,2 mg/l) a HCO_3 (94,6-201,4 mg/l). Jedná se o vody typu zejména Ca-HCO_3 nebo méně Ca-SO_4 (obr. 5). Intenzivní zemědělství v této oblasti je příčinou zvýšených koncentrací NO_3 , které často překračují limit pro pitnou vodu (> 50 mg/l; Vyhláška č. 252/2004 Sb.). Koncentrace Fe, Mn, Al jsou velmi nízké (< 200 $\mu\text{g/l}$), Mn obecně převyšuje Fe (Drahota a kol. 2009). Vysoké koncentrace arsenu byly zaznamenány v podzemní (< 1140 $\mu\text{g/l}$) i povrchové (< 450 $\mu\text{g/l}$) vodě (Jílek 1985; Drahota a Pertold 2005; Drahota a kol. 2009; Drahota a kol. 2011), což je pro srovnání 114 - 45 krát více než je limit pro pitnou vodu (Vyhláška č. 252/2004 Sb.).



Obr. 5. Piperův graf znázorňující základní chemismus povrchových vod na Mokrsku. Pro vytvoření grafu byla použita veškerá data získaná z analýz našich vzorků odebraných v letech 2010 a 2011 (viz. Kapitola 5 a 6.).

Nejvyšší koncentrace arsenu byly zjištěny v soukromých studních ve vesnici Mokrsko, které byly používány jako zdroje pitné a užitné vody do té doby, než v nich byly zaznamenány vysoké obsahy arsenu v rámci geomedicínské studie (Jílek 1985), která nepotvrdila ani nevyvrátila možnost výskytu onemocnění způsobených arsenem (konkrétně cévních chorob). V roce 1988 pak bylo používání této vody pro individuální použití zakázáno, dnes je tam již zavedený vodovod (Morávek 1990).

Nejvyšší koncentrace rozpuštěného arsenu se vyskytují v mírně redukční zóně podzemní vody, kde je arsen uvolňovaný redukčním rozpouštěním oxyhydroxidů železa a pravděpodobně i krystalických arseničnanů ze saturovaných půd pod hladinou podzemní vody a z potočního sedimentu v hyporheické zóně. Rozpuštění je vyvolané změnami redoxního potenciálu, způsobené oscilací hladiny podzemní vody a/nebo změnami mikrobiální aktivity (Drahota a kol. 2009). Obsah forem As(III) v podzemní a místy i v povrchové vodě převyšuje obsah As(V) (Drahota a kol. 2009), což je v rozporu s termodynamickou stabilitou těchto forem v daném prostředí. Poměr As(III)/As(V) ve vodách je navíc úzce spojený s koncentrací DOC, který je v redukci As(V) zřejmě důležitým dárcem elektronu (Drahota a kol. 2009).

Jak již bylo poznamenáno v úvodu, v potoční vodě na Mokrsku dochází také k pravidelným změnám rozpuštěných obsahů některých prvků během roku. Drahota (2008) a Drahota a kol. (2011) zjistili, že koncentrace kationtů zinku, olova a mědi se na jaře zvýšily o 150% - 330% oproti podzimu. S opačným méně výrazným trendem se chovaly oxyanionty arsenu, molybdenu a antimonu a také pH a teplota, jejichž hodnoty dosáhly maxima v létě a na podzim. Změny týkající se As, Mo, Sb jsou podle výše zmíněných autorů pravděpodobně důsledkem mikrobiálně řízených oxidačně-redukčních reakcí manganu a oxyhydroxidů železa v potočním sedimentu. Naopak rozdíly koncentrací zinku, olova a mědi jsou spojené s teplotně a pH závislou adsorpcí opět na oxyhydroxidy manganu a železa v potočním sedimentu. Sorpce i procesy týkající se redoxních reakcí manganu jsou úzce vázané na změny pH a Eh podmínek na povrchu oxyhydroxidů, které jsou ovlivňované fotosyntézou a dýcháním, což je primárně řízeno mikrobiální aktivitou (viz. Kapitola 3.). Teorii biogeochemických procesů podporuje skutečnost, že průtok potoka s maximy a minimy koncentrací jednotlivých skupin prvků nekoreluje (Drahota a kol. 2011).

5. METODIKA

5.1 Filtrační experiment

Dne 26.3.2010 byly na Mokrsku odebrány vzorky povrchové vody, které byly filtrovány přes čtyři filtry o různé pórovitosti a následně analyzovány na obsah kationtů, stopových prvků a rozpuštěného organického uhlíku (DOC). Výsledky měly ukázat, zda jsou tyto prvky v povrchových vodách na Mokrsku rozpuštěné nebo vázané v koloidech, respektive jaký podíl prvku je rozpuštěný v pravém slova smyslu. V dosud publikovaných pracích na Mokrsku byly pro rozpuštěnou frakci používány filtry o pórovitosti 0,45 a 0,1 μm (Drahota a kol. 2006, 2009, 2011).

Vzorky byly odebírány do HDPE lahví (vyloužené a umyté, viz. Kapitola 4.2.1). Vzorek BN1 pochází z potoka nad rybníkem protékající meliorační rýhou, kde převládají oxické podmínky a kde byly provedeny samotné monitorovací experimenty (viz. níže; obr. 4). Vzorek BN2 byl odebrán 20 m níže po proudu, poblíž ústí do rybníka, kde potok nabývá charakteru mokřadu s vysoce redukčními podmínkami těsně pod povrchem sedimentu (Drahota a kol. 2009). Voda pro BN3 byla odebrána z rybníka v Mokrsku, charakteristického vyšším obsahem organické hmoty a alkalickým prostředím. Z potoka pod rybníkem (oxické podmínky) pochází vzorek BN4.

Kromě odběru vzorků bylo na každém odběrovém místě *in situ* měřeno pH a teplota vody (pH 3310 SET2, WTW). Hodnoty naměřeného pH se pohybují mírně nad 7. Nejvyšší pH bylo změřeno v rybníku (7,79), stejně jako zde byla zjištěna i nejvyšší teplota vody (13,5 °C). Na prvních dvou lokalitách byla naměřena teplota jen kolem 7 °C.

Po převezení do laboratoře byl každý ze vzorků ihned rozdělen na čtyři díly a každý díl byl následně přefiltrován přes jeden z filtrů o velikostech pórů 0,45 μm , 0,1 μm a 10 kDa, 1 kDa (~ 3 nm, 1 nm; Klein a Niessner 1998).

Na filtry velikosti 0,45 a 0,1 μm bylo použito filtrační zařízení typu Sartorius, pro ultrafiltraci (< 10 kDa) 50 ml cella (Amicon 8050, Millipore). V případech filtrů 0,45 a 0,1 μm byly aplikovány nitrocelulóзовé filtry Millipore® (průměr 47 mm) zatímco pro ultrafiltraci byly použity regenerované celulóзовé filtry Amicon, Millipore® (tloušťka 200 μm a průměr 44,5 mm). Každý filtr byl nejdříve loužený alespoň 10 min v deionizované vodě (18,2 M Ω /cm) a použit pro filtraci pouze jednoho vzorku. Vzorky pro analýzu kationtů a stopových prvků byly posléze stabilizovány přidáním 50 μl 2 M HNO₃ (suprapur, Merck).

Stopové prvky byly analyzovány pomocí ICP-MS, kationty ICP-OES a DOC pomocí analyzátoru TOC/TN (viz. analytické metody v Kapitole 4.2.3).

Z výsledků vyplývá (viz. Kapitola 6. a 7.), že pro analýzy rozpuštěných prvků ve vodách z jednodenních monitoringů stačí používat filtry o velikosti 0,45 nebo 0,1 μm . A to i přesto, že ultrafiltrace poskytuje přesnější zastoupení rozpuštěné frakce s.s. některých prvků. Ultrafiltrační procedura je však příliš časově náročná a pro velkého množství vzorků a nutnost jejich rychlého zpracování v terénu během monitoringu je tedy pro naše účely nepraktická.

5.2 Jednodenní monitoring

V rámci dvou 24-hodinových experimentů byly od 10 do 9 hodin následujícího dne každých šedesát minut odebírány vzorky potoční vody pro "celkové" (nefiltrované a okyselené) a rozpuštěné (< 0,1 μm) koncentrace prvků. Kromě vody byly odebírány také vzorky biofilmu, jehož analýza by mohla prověřit změny ve vazbě (adsorpci) prvků na jeho povrch během 24-hodinového experimentu.

5.2.1 Příprava v laboratoři a v terénu před experimentem

Příprava materiálu

Veškeré odběrové zařízení, HDPE lahve, filtrační jednotky, držáky na skla pro biofilm, chemické nádoby a další předměty používané během experimentů této diplomové práce byly pečlivě umyty a bylo s nimi nakládáno tak, aby se předešlo možné kontaminaci během odběru a laboratorního zpracování (Benoit 1994):

Plastové předměty byly louženy minimálně 24 hodin v 0,1 M HNO₃ (p.a., Lachema), dále 6 hodin ponechány v destilované vodě a po její výměně dalších 12 hodin. Lahve byly poté vypařeny (cca 5 min) znovu opláchnuty destilovanou vodou a usušeny na čistém filtračním papíru při 70 °C.

Sklo včetně podložních sklíček bylo vylouženo v 1 M HNO₃ (p.a., Lachema) po dobu minimálně 2 hodin a opět dvakrát opláchnuty v lázni s destilovanou vodou. Sklo pak bylo sušeno při 120 °C.

Filtry pro zpracování biofilmu byly předem prolity 50 ml 0,1 M HNO₃ (suprapur, Merck) a poté 100 ml deionizované vody. Pak byly sušeny minimálně 15 hodin při 50 °C a okamžitě zváženy na laboratorních vahách na čtyři desetinná místa (A 200S, Sartorius, analytic).

Manipulace s těmito předměty byla prováděna ve vinylových jednorázových rukavicích (typ 151111 Rail), případně s použitím čisté plastové pinzety a po umytí byly uskladněny v novém mikrotenovém sáčku.

Příprava a instalace přírodního biofilmu

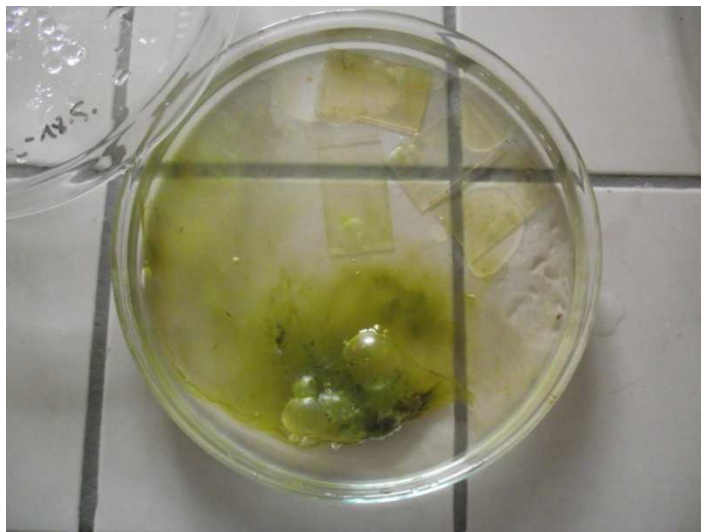
V potoce byla 4 týdny před 24-hodinovým experimentem instalována čistá podložní sklíčka. Sklíčka byla vertikálně zasazena v PVC držácích asi 1cm pod hladinou a delší stranou paralelně s proudem (viz. obr. 6). Celkem se jednalo o pět držáků po 12 sklíčkách umístěných těsně pod místem pro odběr vzorků vody. Již po 10 dnech se na sklech objevila tenká vrstva biofilmu, který však nebyl v dostatečném množství pro analýzu, a proto byla doba pro dostatečné nahromadění biofilmu zvýšena na výsledné 4 týdny.



Obr. 6. Umístění sklíček s přírodním a umělým biofilmem na dně potoka.

Příprava a instalace umělého biofilmu

Pro kultivaci umělého biofilmu byl odebrán potoční sediment (kamínky a písek) s makroskopickým biofilmem, který byl z jeho povrchu seškrábán do sterilních petriho misek. Tento zelený povlak pak byl kultivován ve sterilním živném WC mediu (Guillard a Lorenzen 1972), které je vhodné pro mírně alkalická prostředí (pH 7,8), typické pro naši lokalitu. Slepé vzorky biofilmu z roku 2010 vyrostlé v tomto mediu prokázaly zvýšené obsahy některých zájmových stopových prvků (Cu, Zn, Mn, Mo), primárně obsažených ve WC mediu, a proto byly tyto stopové prvky při přípravě WC media v roce 2011 vynechány. Po čtyřech týdnech se narostlý biofilm shrábl a rozmělnil do suspenze s novým WC médiem, kterou byla zalita podložní sklíčka v osmi petriho miskách (obr. 7).



Obr. 7. Podložní sklíčka zalitá suspenzí WC média s biofilmem, který byl inkubovaný z biofilmu nalezeného v potočním sedimentu na Mokrsku. Na tyto sklíčka během jednoho měsíce naroste umělý biofilm.

Po dalších čtyřech týdnech se na sklíčkách vytvořil zelený povlak biofilmu. Okolo 70 sklíček s narostlým umělým biofilmem bylo do potoka instalováno tři dny před odběrovým experimentem stejným způsobem jako sklíčka pro přírodní biofilm.

Kultivace a mikroskopická identifikace složek biofilmu byly provedeny ve spolupráci s Mgr. Pavlem Škaloudem, Ph.D. z Katedry botaniky PřF UK.

5.2.2 Dvacetičtyřhodinový monitorovací experiment

Ve dnech 2. - 3. srpna 2010 a 20. - 21. června 2011 proběhly 24-hodinové monitorovací experimenty. Oba se odehrály za stejných monitorovacích podmínek na stejném místě na lokalitě Mokrsko (obr. 4).

Odběry vzorků a jejich zpracování v terénu

Vzorky vody (cca 2 l) byly v jednodinových intervalech pod tlakem čerpány do skleněných lahví s pomocí ruční vakuové pumpy a vyloužené teflonové hadice, která byla zafixovaná uprostřed potoka asi 1 cm pod hladinou (obr. 8). Před odebráním každého vzorku byla hadice i odběrová láhev několik minut promývána potoční vodou.



Obr. 8. Odběr vzorků vody pomocí ruční pumpy a teflonové hadice do odběrové nádoby.

Nefiltrované vzorky byly odebírány pro analýzu "celkového" obsahu kationtů a stopových prvků (HDPE lahvička, 50 ml) a alkalitu (HDPE lahvička, 100 ml). Vzorky na kationty a stopové prvky byly okyseleny na $\text{pH} < 1$ pomocí 2 ml 2 M HNO_3 (suprapur, Merck) a ekvilibrovány dva týdny za normálních laboratorních podmínek. Pak byly přefiltrovány ($0,45 \mu\text{m}$) a uchovávány v lednici do analýzy.

Filtrované ($< 0,1 \mu\text{m}$) vzorky byly odebírány na analýzu rozpuštěných obsahů aniontů (jednorázová plastová zkumavka, 10 ml), kationtů (jednorázová plastová zkumavka, 10 ml), stopových prvků (jednorázová plastová zkumavka, 10 ml), DOC (skleněná lahvička, 30 ml) a specií As (HDPE lahvička, 50 ml). Vzorky na kationty byly hned po odebrání a filtraci stabilizovány na $\text{pH} < 3$ přidáním $100 \mu\text{l}$ 2 M HNO_3 (suprapure, Merck). Vzorky na speciaci As byly po odběru a filtraci probublány argonem a v případě druhého 24-hodinového experimentu v roce 2011 byly navíc stabilizovány 0,5 ml 1 mM EDTA (Bednar a kol. 2002). V časech kdy byl odebírán také biofilm (viz. níže) se navíc do HDPE lahve odebíralo 250 ml filtrované ($< 0,45 \mu\text{m}$) vody určené pro uskladnění biofilmu v petriho miskách a jeho pozdější zpracování v laboratoři.

Všechny vzorky byly vloženy do nového mikrotenového sáčku, zagumičkovány a v terénu skladovány v chladícím boxu. Po převezení do laboratoře byly do analýzy uchovány v lednici.

V každé 24-hodinové sérii byly stejným způsobem zpracovány dva slepé vzorky obsahující deionizovanou vodu a čtyři duplikované vzorky pro každý typ analytu. Slepé vzorky byly filtrovány stejným filtračním zařízením a případně acidifikovány stejným způsobem jako všechny ostatní vzorky. Stabilita As(III) během zpracování a uchování vzorku před analýzou byla ověřena přidáním známého množství As(III) do dvou duplikovaných vzorků potoční vody.

Pro určení fázového složení suspendované frakce byla analyzována hmota zachycená na filtrech pomocí RTG difrakce. Za tímto účelem byly v petriho miskách do laboratoře převezeny také tři použité filtry velikosti $0,45 \mu\text{m}$ z obou 24-hodinových experimentů.

Měření parametrů vody

Kromě odběrů vzorků vody byly každých 10 minut měřeny pH, teplota vody a rozpuštěný kyslík a po 30 minutách specifická vodivost. Měřeny byly pomocí automatických přístrojů pH 3310 a Oxi 3310 (WTW), kalibrovaných v terénu před instalací technickými pufrými NIST. Přesnost dat z měření pH, DO a vodivosti byly $\pm 0,01$ std. pH, $\pm 0,1$ mg/l a $\pm 1 \mu\text{S/cm}$.

Elektrody byly umístěny cca 2 m nad místem odběru vzorků (obr. 9).



Obr. 9. Elektrody pro měření pH, DO a vodivosti umístěné do potoka.

Nejnižší po proudu vody (cca 4 m pod místem odběru vzorků) proběhlo nejméně každých 60 minut měření průtoku pomocí stopek a 10 l nádoby s kalibrovanou stupnicí (obr. 10). Výsledná hodnota průtoku je průměrem ze dvou měření. Variační koeficient obou měření byl vždy nižší než 6%.



Obr. 10. Měření průtoku pomocí kalibrované nádoby.

Odběr biofilmu

Přirodní a umělý biofilm byly odebírány každé 2 – 4 hodiny (viz. tab. 2). Bylo odebíráno 4 - 10 sklíček (dle uchyceného množství biofilmu), následně byly opláchnuty potoční vodou a uloženy do sterilních jednorázových petriho misek společně s malým množstvím filtrované vody odebrané ve stejnou hodinu.

Tab. 2. Přehled odběrů vzorků. A: anionty, K: kationty, S: stopové prvky, C: celkový obsah, alk: alkalita, As: speciace arsenu, DOC: rozpuštěný organický uhlík, U: umělý biofilm, P: přírodní biofilm (pokud je P v závorce, byl odebírán jen během prvního experimentu v roce 2010), B: slepý vzorek, D: duplikovaný vzorek, DS přidáný As(III); ke každému odběru biofilmu bylo navíc odebíráno a filtrováno 250 ml vody na jeho zpracování.

odběrový čas	odebrané vzorky
10 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, P, B
11 h	K, S, C, alk, As D A, D DOC, DS As
12 h	A, K, S, C, alk, DOC, D As U, (P)
13 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
14 h	A, D K, D S, D C, alk, DOC, As D U, D P
15 h	K, S, C, alk As D A, D DOC, D As
16 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, (P)
17 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
18 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, P
19 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
20 h	A, D K, D S, D C, alk, DOC, As D U, (P)
21 h	K, S, C, alk, As D A, D DOC, DS As
22 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, P, B
23 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
24 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, (P)
1 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
2 h	A, D K, D S, D C, alk, DOC, As U, P
3 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
4 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, (P)
5 h	A, K, S, C, alk, DOC, As
6 h	A, K, S, C, alk, DOC, As U, P
7 h	K, S, C, alk D A, D DOC, D As
8 h	A, D K, D S, D C, alk, DOC, As U, (P)
9 h	A, K, S, C, alk, DOC, As

5.2.3. Zpracování vzorků v laboratoři

Biofilm

Po převezení do laboratoře byl biofilm okamžitě zpracován. Umělý i přírodní biofilm byl čistým nadložním sklíčkem seškrábán a suspendován v cca 50 ml filtrované potoční vodě odebrané ve stejnou hodinu jako vzorek biofilmu. Suspenze pak byla rozdělena na dvě stejné části. Do jedné bylo přidáno 2,5 ml 0,04 M EDTA (výsledný roztok 4 mM EDTA), aby se uvolnily stopové prvky adsorbované na buněčnou stěnu (Behra a kol. 2002; Meylan a kol. 2004). Po 10 minutách byl tento roztok i druhý roztok bez přidání EDTA přefiltrovány přes předvážené filtry (0,45 μm , Millipore[®]). Oba filtry s biofilmem byly následně sušeny 15 hodin při 50 °C a pak zváženy pro výpočet váhy sušiny.

Zvážené filtry se sušinou biofilmu byly rozloženy v roztoku 3 ml koncentrované HNO_3 (65% suprapure, Merck) a 0,5 ml H_2O_2 (30% suprapure, Merck) v zavřených teflonových kelímcích (Savillex[®]). Stejný rozklad filtrů se týkal i třech čistých filtrů (slepé vzorky pro přírodní biofilm) a třech filtrů s umělým biofilmem, který nebyl instalován do potoční vody (slepé vzorky pro umělý biofilm).

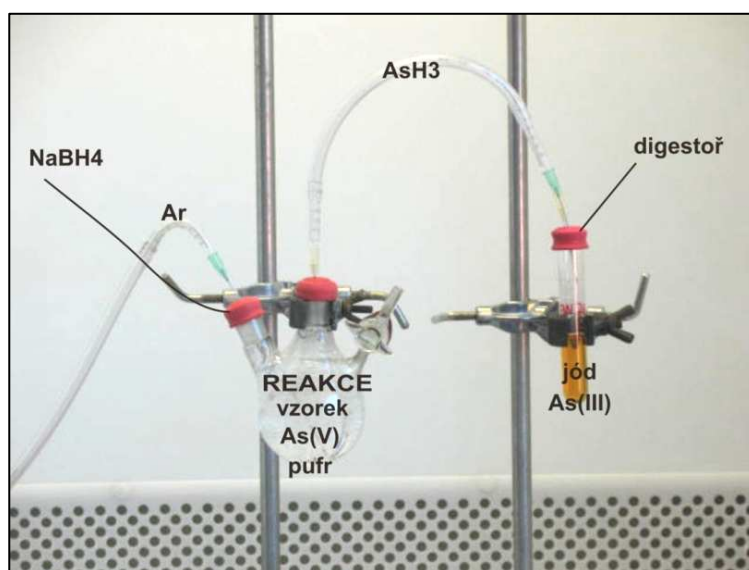
Po odpaření a doplnění deionizovanou vodou na 25 ml, byly měřeny koncentrace stopových prvků na ICP-MS.

Výsledná koncentrace prvků v obou typech biofilmu je vztažena na váhu sušiny. Výsledné obsahy jednotlivých stopových prvků v sušině biofilmu prezentované v této práci jsou výsledkem rozdílu změřené koncentrace obsahu prvku v biofilmu ve vzorku a průměrného změřeného obsahu prvku ve třech slepých vzorcích pro daný typ biofilmu v daném roce.

Měření speciace As - separace As(III)/As(V)

Samotné analýze a terénním experimentům předcházelo hledání vhodné metody na separaci anorganických specií arsenu As(III) a As(V). Neúspěšnou se ukázala být metoda dle Sounderajan a kol. (2007), která kvantifikuje As(V) separovaný v 12-molybdoarsenové kyselině extrahované v butanolu.

Nakonec byla v roce 2010 použita metoda oddělující specie As pomocí redukce borohydridem (Jones a kol. 2000). Reakce probíhala v inertním prostředí (probubláváno argonem) za fixovaných pH podmínek (pufr TRIS, pH 6), během kterých je veškerý As(III) ve vzorku redukován borohydridem (NaBH_4) na arsin (AsH_3) a nosným argonem odváděn pryč (v případě obr. 11 do zkumavky s roztokem jódu). Pomocí peristaltické pumpy se do 50 ml vzorku s 5 ml 2 M TRISu přidávalo 2,5 ml borohydridu během cca 10 minut. Kvantifikace arsenu probíhala ve vzorku před separací (As(tot)) a v roztoku po separaci se zbylým As(V). Arsen(III) pak odpovídá rozdílu celkového As(tot) a As(V). Měřeno na ICP-OES. Chyba této metody stanovená na základě duplikovaných analýz ze tří vzorků destilované vody se známou koncentrací As(III) a As(V) byla až 21%. Variační koeficient u opakovaných dvanácti analýz byl < 3%.



Obr. 11. Separace As(III)/(AsV) redukcí borohydridem.

V roce 2011 byla využita přesnější metoda HPLC-ICP-MS (Mgr. Tomáš Matoušek, Ph.D., ÚACH, AV ČR). Výsledná koncentrace je průměrem ze dvou měření. Variační koeficient opakovaných analýz As(III) byl u vzorků destilované vody s přidaným As(III) vždy < 1,5 % a u přírodních vzorků s nízkou koncentrací As(III) < 10 %. Variační koeficient opakovaných analýz As(V) byl u všech vzorků kromě jednoho (7%) vždy < 4 %. Variační koeficienty pro duplikované vzorky byly obdobné, < 10 % pro As(III) a < 2 % pro As(V). Limit detekce pro As(III) a MMA byl stanoven na 0,13 µg/l a limit stanovení na 0,43 µg/l.

Analytické metody

Hlavní kationty (Na, K, Ca, Mg, Al, Si) byly analyzovány na ICP-OES (IRIS Interpid II XPS) v Geologickém ústavu AV ČR na Suchdole (operátor B. Nováková a P. Drahot).

Alkalita a anionty (PO_4^{3-} , F^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^-) byly okamžitě po přivezení z terénu zpracovány v Laboratořích geologických ústavů na PřF UK. Anionty byly stanoveny pomocí kapalinové chromatografie (HPLC, columns Dionex ICS-2000) a alkalita mikrotitrací (Schott TitriLine Easy automatic titrator) s 0,05 M HCl (operátor L. Jílková).

Stopové prvky rozpuštěného i "celkového" obsahu (Fe, Mn, Mo, Sb, Pb, Zn, Cu, Cd, Cr) byly analyzovány na PřF UK (ÚGMNZ) na kvadrupólovém ICP-MS (ThermoScientific XSeries II) (operátor M. Mihaljevič). Pro měření byly použity standardy NIST 1640; chyba měření byla < 2%.

DOC byl měřen ve Výzkumném ústavu vodohospodářském T.G. Masaryka v Podbabě prostřednictvím TOC/TN analyzátoru Skalar Formacs^{HT} (operátor I. Nižňanská).

Detekční limity pro prvky měřené na ICP-MS jsou: < 1,4 µg/l Fe, < 0,03 µg/l Mn, < 0,108 µg/l As, < 0,078 µg/l Mo, < 0,003 µg/l Sb, < 0,183 µg/l Zn, < 0,012 µg/l Cd, < 1,158 µg/l Cu a < 0,018 µg/l Pb. Všechny slepé vzorky byly pod detekčním limitem ICP-MS, s výjimkou Mn a As pro rozpuštěné koncentrace a Mn, Fe, As a Sb pro celkové koncentrace ve vodě. Jejich koncentrace však byly < 5% nejnižší koncentrace vzorku. Podobně byly pod detekcí slepé vzorky DOC (< 0,5 mg/l) a všech prvků analyzovaných na ICP-OES (< 0,121 mg/l Na, < 0,014 mg/l K, < 0,232 mg/l Ca, < 0,183 mg/l Mg, < 0,006 mg/l Al, < 0,089 mg/l Si) a iontové chromatografii (< 0,4 mg/l F, < 0,2 mg/l Cl, < 0,4 mg/l NO_3^- , < 0,4 mg/l SO_4^{2-} ; tab. 3). Variační koeficient pro všechny složky byl < 5% nejméně pro šest ze sedmi duplikovaných vzorků. Variační koeficient byl vyšší pro rozpuštěné koncentrace DOC (< 7%), Cu (< 13%), Cr (< 25%) a "celkové" Al (< 16%), K (< 18%), Na (< 15%).

Tab. 3. Tabulka detekčních limitů analyzovaných prvků (kovy a metaloidy jsou v uvedené v µg/l, ostatní v mg/l).

Fe	Mn	As	Mo	Sb	Zn	Cd	Cu	Pb	DOC
									µg/l
1,404	0,03	0,108	0,078	0,003	0,183	0,012	1,158	0,018	0,5
F	Cl	NO₃	SO₄	Na	K	Ca	Mg	Al	Si
mg/l									
0,4	0,2	0,4	0,4	0,121	0,014	0,232	0,183	0,006	0,09

RTG suspenze

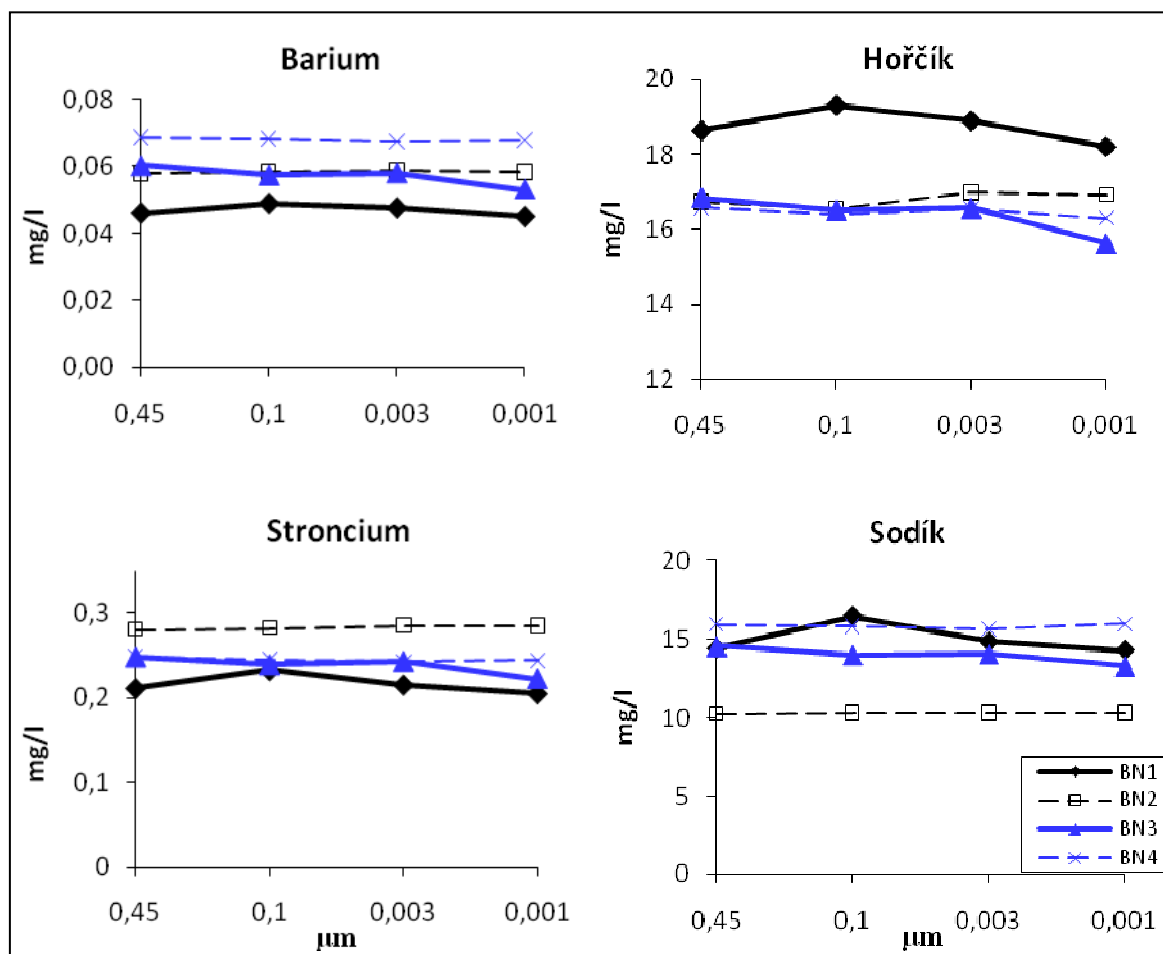
RTG analýza suspendované hmoty zachycené na filtrech byla provedena PANalytical X`Pert Pro difraktometrem na PřF UK (operátor P. Drahota), který je vybavený monochromátorem a X`Celerator multichannel detektorem. Podmínky difrakce byly: záření CuK α , 40 kV, 30 mA, krok 0,02°/250 s v rozmezí 3-70° 2 θ . Kvalitativní analýza byla provedena pomocí X`Pert Pro software 1,0d s databází JCPDS PDF-2 (ICDD 2002).

6. VÝSLEDKY

6.1. Filtrační experiment

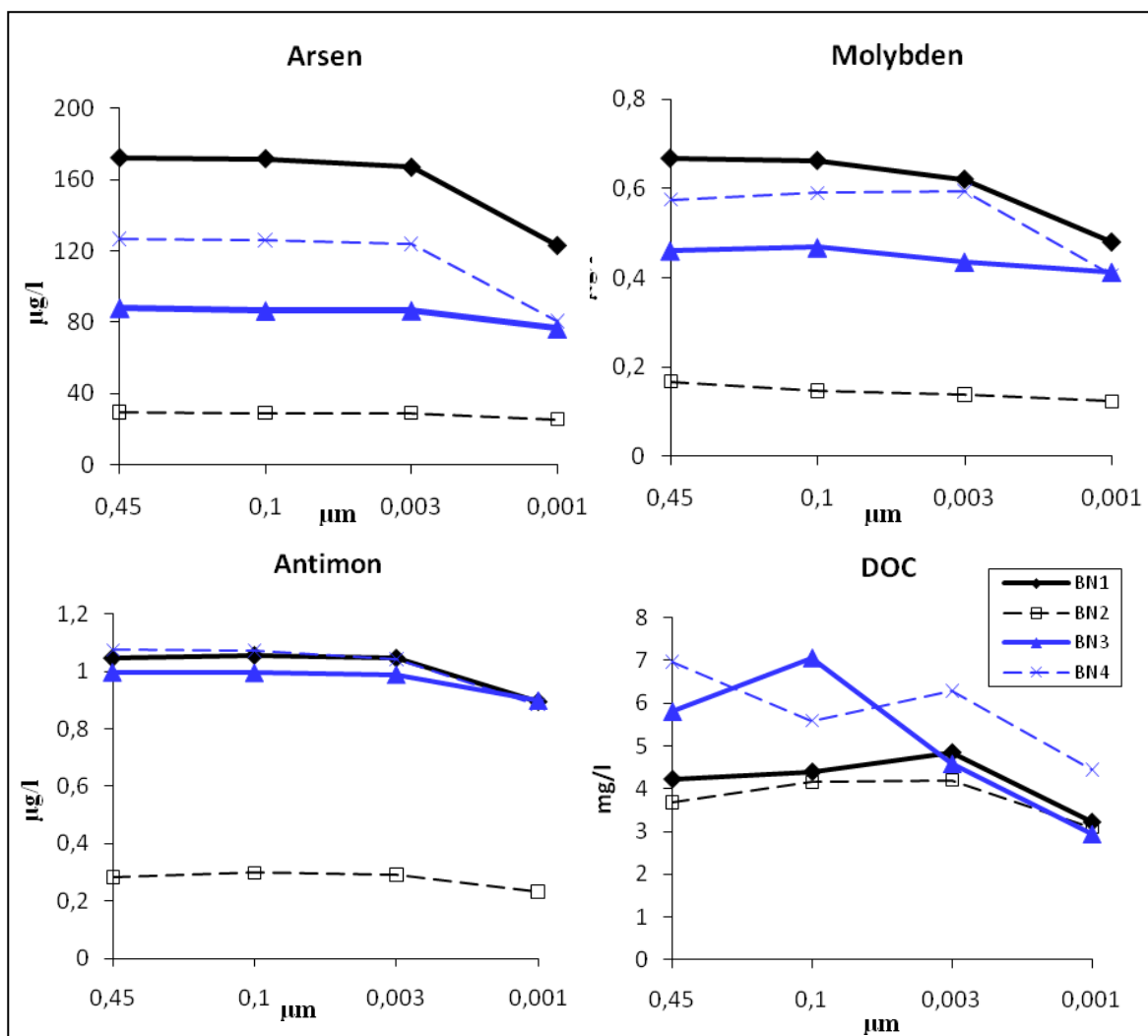
Vzorky byly podrobeny analýzám na obsahy Mg, Ca, Na, K, Sr, Ba, Si, Al, S, P, As, Sb, Fe, Mn, Mo, Pb, Cr, Cu, Zn, Cd a DOC. Výsledky byly zaneseny do grafů zobrazující koncentraci prvku vs. pórovitost filtru.

Výsledné křivky jsou u většiny prvků poměrně vodorovné, tzn. že se jejich koncentrace v přefiltrovaných vzorcích výrazně nemění a prvky jsou přítomné v rozpuštěné formě s.s. Nejlépe se v tomto smyslu projevují velké kationty jako Na, Ba, K, Si, Mg, Sr (obr. 12).



Obr. 12. Výsledky filtračního experimentu pro Ba, Mg, Sr, Na. Na vodorovné ose jsou jednotlivé velikosti filtrů a BN1-4 jsou odběrová místa (viz. Kapitola 5.1).

Nicméně ultrafiltrace objevila mírný pokles koncentrací ve frakci 0,001 – 0,003 µm u DOC (který klesl o 31±4%), As (21±10%), Sb (15±4%), Mo (18±10%) a S (25±15%) (obr. 13).



Obr. 13. Výsledky filtračního experimentu pro As, Mo, Sb, DOC. Na vodorovné ose jsou jednotlivé velikosti filtrů a BN1-4 jsou odběrová místa (viz. Kapitola 5.1).

Koncentrace Cu, Cd, Cr, Al, Ca, P, Fe, Zn a Pb jsou v jednotlivých přefiltrovaných vzorcích podobné a nevykazují žádné trendy stejně jako u velkých kationtů, případně chaoticky kolísají, což je zřejmě způsobeno příliš nízkými obsahy těchto prvků ve vzorcích, které se pohybují okolo detekčního limitu přístroje (tab. 3).

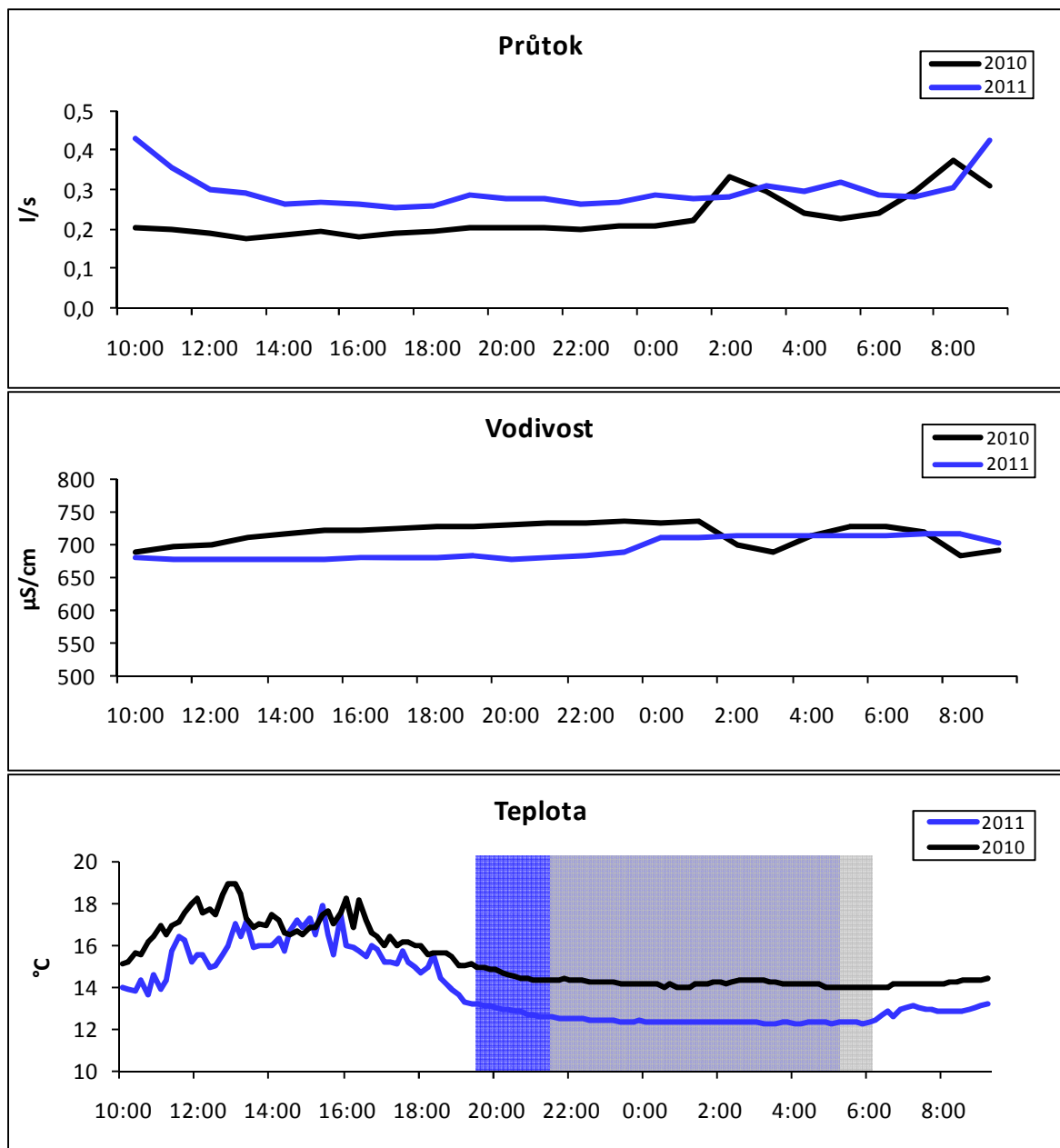
6.2 Jednodenní monitoring

6.2.1 Voda

Vývoj teploty, průtoku a vodivosti

Odběrové dny v obou letech byly poznamenány dešťovými srážkami s různou intenzitou. V roce 2010 přišlo od 22 hodin až do rána poměrně mírně, nicméně se vyskytly dva výrazné přívalové eventy (od 1:30 a 7 hod). V roce 2011 přišlo intenzivně před samotným odběrovým experimentem a během odběrového experimentu přišlo drobně v době od 18:45 do 19:45 a intenzivně od 7:50 do 9:10.

Tyto události odráží výsledky v grafech, které zobrazují vývoj průtoku, vodivosti a teploty během obou 24-hodinových experimentů (obr. 14). Krátce po začátku dešťů se zvýšil průtok a snížila se vodivost vody v potoce (mísení s méně mineralizovanou dešťovou vodou; obr. 14). Vyšší průtok na začátku odběrového dne v roce 2011 je způsobený předchozím nočním deštěm. Při větším rozlišení lze sledovat mírná zvýšení teploty během noci v roce 2010 a ráno v roce 2011, která jsou evidentně spojena s teplejšími srážkovými přívaly.



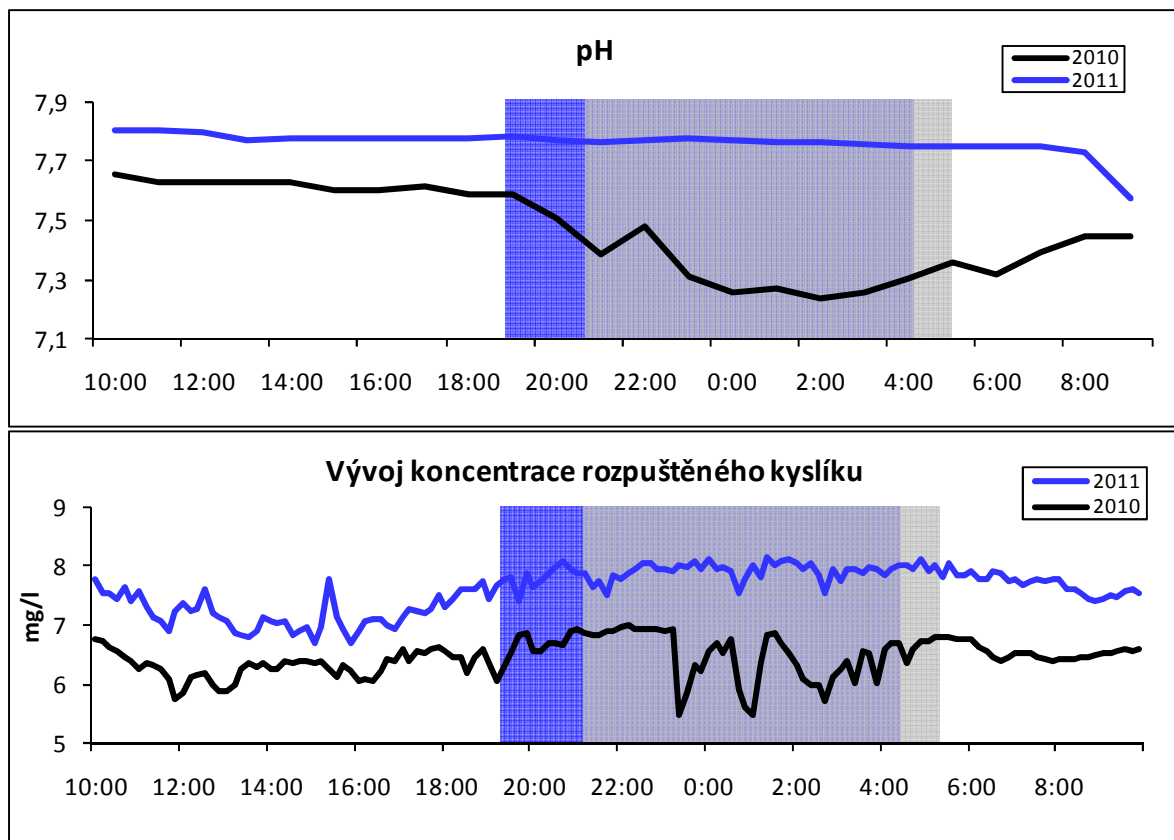
Obr. 14. Průběh vývoje průtoku, vodivosti a teploty s vyznačenou dobou mezi západem a východem slunce (2010: sytě modrá, 2011: světle šedá).

Vývoj pH a DO

Hodnoty pH byly v obou monitorovacích experimentech poměrně stálé (obr. 15). Pokles pH byl zaznamenán zejména během roku 2010. Nižší pH během noci v roce 2010 a pokles v ranních hodinách roku 2011 je evidentně spojen s mísením potoční vody s kyslejšími dešťovými srážkami. Nicméně pokles pH v roce 2010 byl zaznamenán již 3 hodiny před začátkem mírného deště a nemůže být proto

přisuzován jen vlivu dešťových srážek. Je tedy pravděpodobné, že vliv respirace organické hmoty spolu s tvorbou DCO může hrát určitou roli při poklesu pH během noci, a to zejména v obdobích nižšího průtoku, které reprezentuje odběr v roce 2010 (obr. 15). V obdobích vyššího průtoku je vliv fotosyntézy a respirace na pH vody minimální (viz odběr v roce 2011). Koncentrace DO ukazují na podobný průběh během obou let monitoringu (obr. 15). Během dne je koncentrace DO nižší, zatímco v noci roste až o cca 1 mg/l. Průběh změn koncentrace DO neodpovídá působení předpokládaných hlavních biologických procesů ovlivňujících koncentraci DO (fotosyntéza a respirace), a proto lze tento průběh vysvětlit jen teplotní závislostí, respektive závislostí rozpustnosti DO na teplotě. Tomu odpovídá vyšší koncentrace DO během roku 2011, kdy byla teplota nižší než v předešlém monitorovacím experimentu (obr. 14 a 15).

Alkalita se v průběhu dne neměnila.



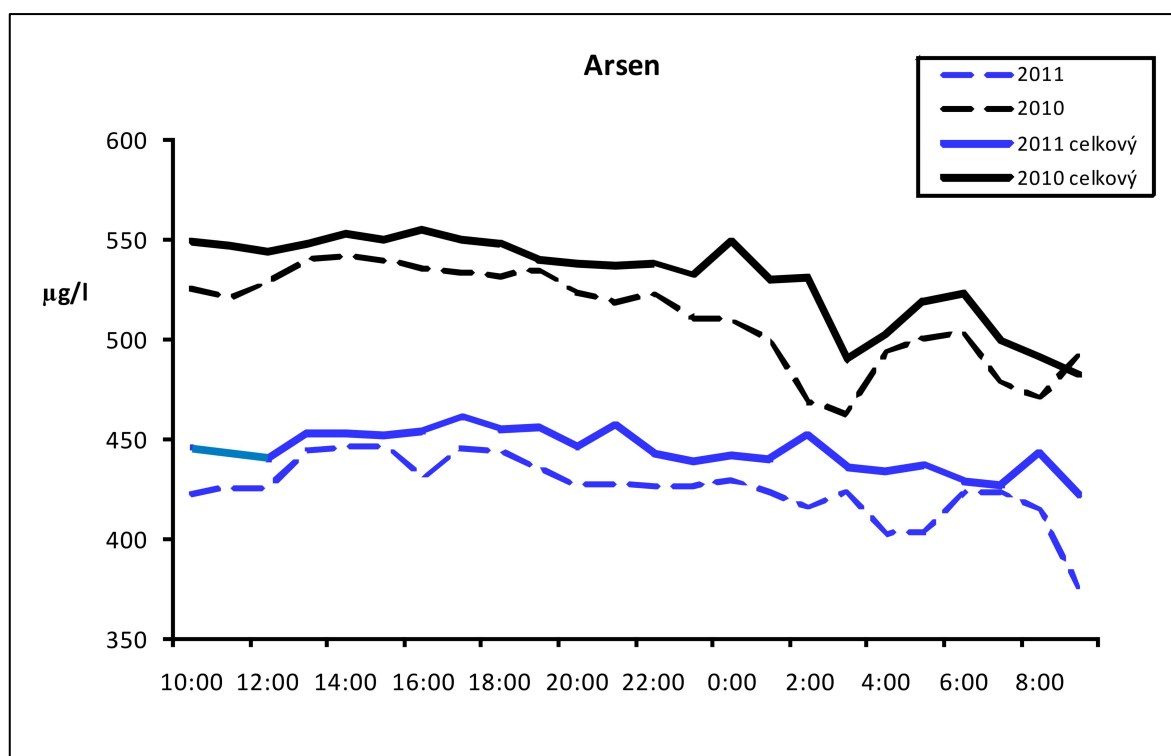
Obr. 15. Průběh vývoje pH a DO s vyznačenou dobou mezi západem a východem slunce (2010: sytě modrá, 2011: světle šedá).

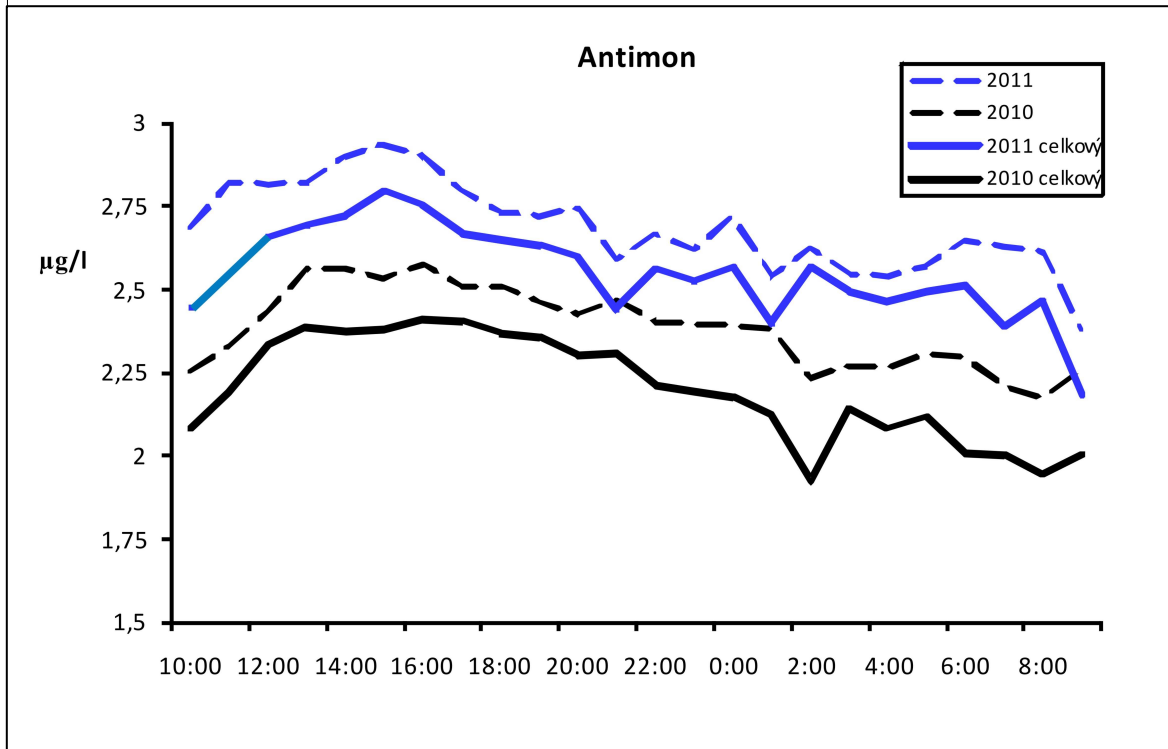
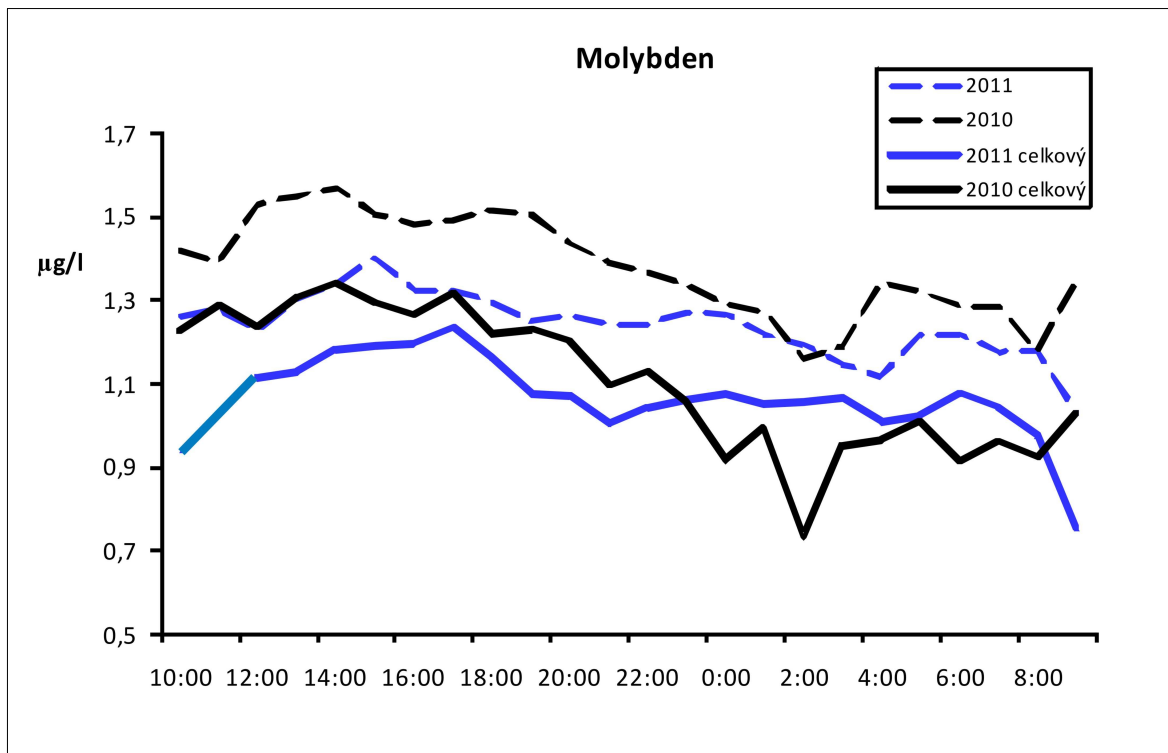
Vývoj koncentrací vybraných prvků

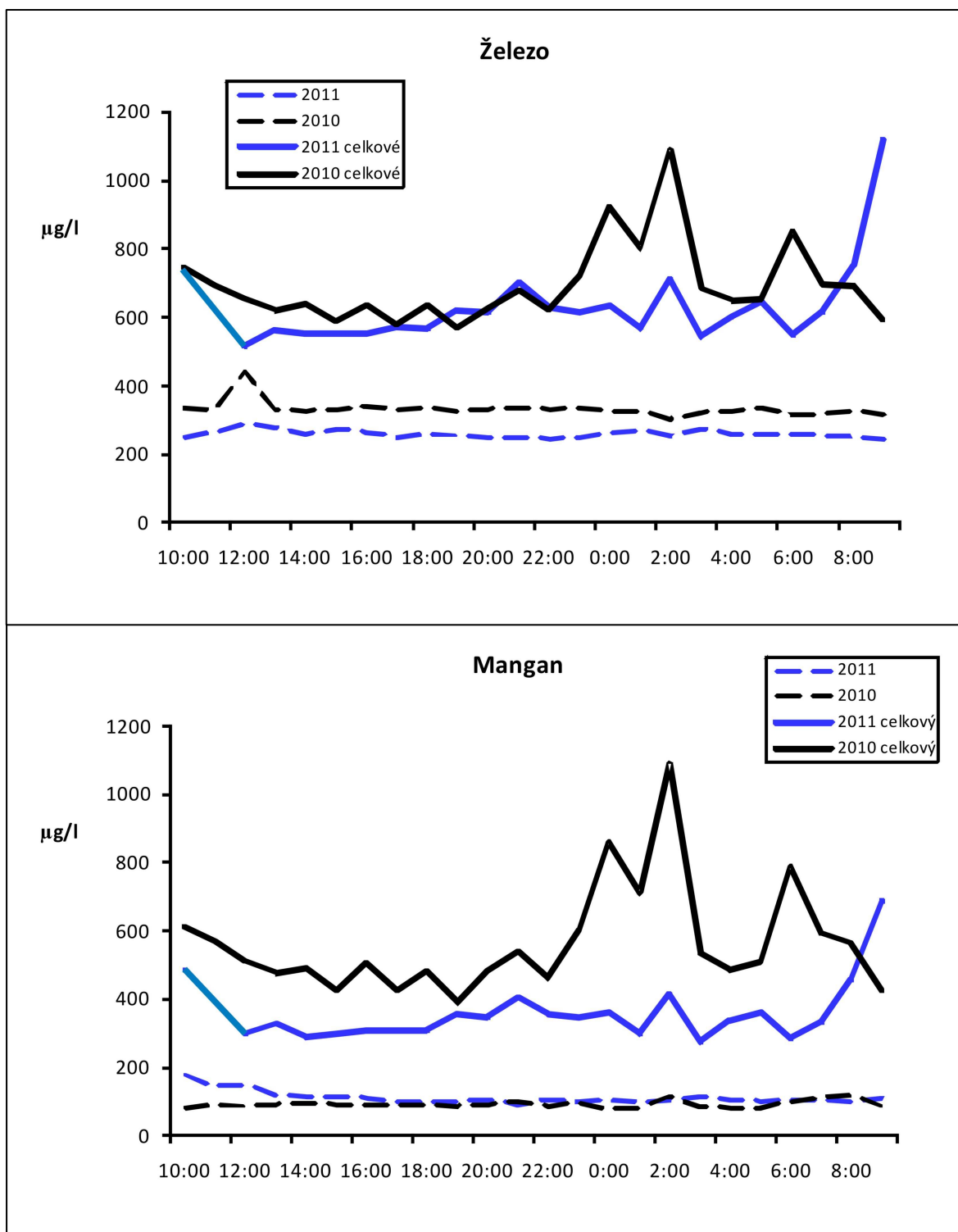
Odebrané vzorky vody byly analyzovány na velké množství prvků. K prezentaci v diplomové práci byly však vybrány pouze některé z nich, protože rozpuštěné koncentrace velkých kationtů a aniontů se během dne příliš nemění a rozpuštěné koncentrace většiny stopových prvků jsou na studované lokalitě nízké, obvykle dosahují hodnot okolo jejich detekčního limitu (tab. 3) nebo byly detekovatelné pouze v jednom roce (v druhém roce byly pod mezí detekce). K prezentaci byly vybrány především As, Sb, Mo, Mn, Fe: As jako environmentálně nejvýznamnější prvek arsenové vodoteče na Mokrsku, Sb, Mo byly vždy vyšší než detekční limit a ukázalo se, že velmi dobře korelují s As. Mn, Fe byly vybrány proto, že jde o prvky popisující chování potenciálně významných sorbentů, zjištěných v práci Drahota a kol. (2011). Všechny tyto prvky se také stanovovaly v biofilmu.

Kromě As jsou koncentrace vybraných prvků relativně nízké (As 400-550 $\mu\text{g/l}$, Mo < 1,7 $\mu\text{g/l}$, Mn < 1200 $\mu\text{g/l}$, Sb < 3 $\mu\text{g/l}$, Fe < 1100 $\mu\text{g/l}$). Rozpuštěné koncentrace Mo a Sb byly v obou letech vyšší než koncentrace "celkové" (obr. 16). Příčiny pro nízké "celkové" koncentrace nám nejsou jasné, nicméně mohou hrát roli (1) změny sorpčních vlastností fází v suspenzi během okyselení (kyselé podmínky budou podporovat adsorpci aniontů), (2) možné interference s HNO_3 při analýze. U ostatních prezentovaných prvků (As, Mn, Fe) byly "celkové" koncentrace vždy vyšší než rozpuštěné a maxima u Mn a Fe velmi dobře odpovídaly přívalovým eventům (obr. 16).

Během dne docházelo ke změnám rozpuštěných koncentrací prvků (přibližně o 15-30%). Podle jejich odlišného chování během dne je lze rozdělit na dvě skupiny: 1) oxyanionty As, Mo, Sb, které pravidelně klesají v noci (minima mezi 2. a 9. hodinou ranní) a maxima mají okolo 14. – 16. hodiny odpoledne (tab. 4) a 2) kationty Mn, Fe, jejichž nepravidelné změny rozpuštěných koncentrací jsou méně patrné a dochází k významným změnám jen v celkové frakci během srážkových eventů. Pravidelné cykly u As, Mo a Sb jsou také narušeny těmito srážkovými eventy. Jejich rozpuštěné a dokonce i "celkové" koncentrace během těchto událostí klesají vlivem ředění.







Obr. 16. Průběh rozpuštěných a "celkových" koncentrací As, Mo, Sb, Mn a Fe.

Tab 4. Denní změny a maximální a minimální hodnoty rozpuštěných koncentrací zájmových prvků.

	2011			2010		
	změna (%)	max (h)	min (h)	změna (%)	max (h)	min (h)
As	16	15	9	15	14	3
Mo	27	15	9	26	14	2
Sb	19	16	8	16	16	8
Mn	21	3	21	38	8	0
Fe	11	15	9	31	12	2

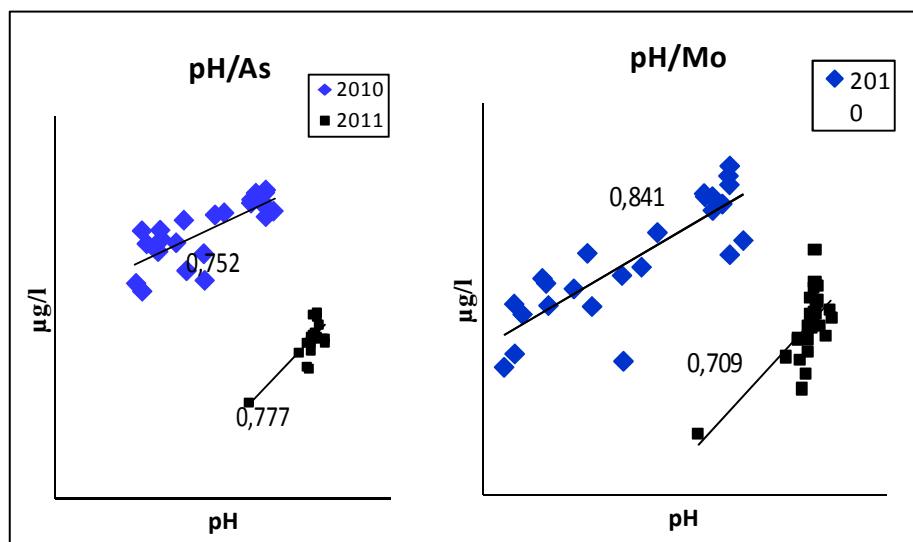
Podobně jako u výsledků z filtračního experimentu spolu oxyanionty (As, Mo, Sb) navzájem velmi dobře korelují. Rozpuštěné obsahy kationtů (Fe, Mn) však vykazují k aniontům špatnou korelaci (tab. 5).

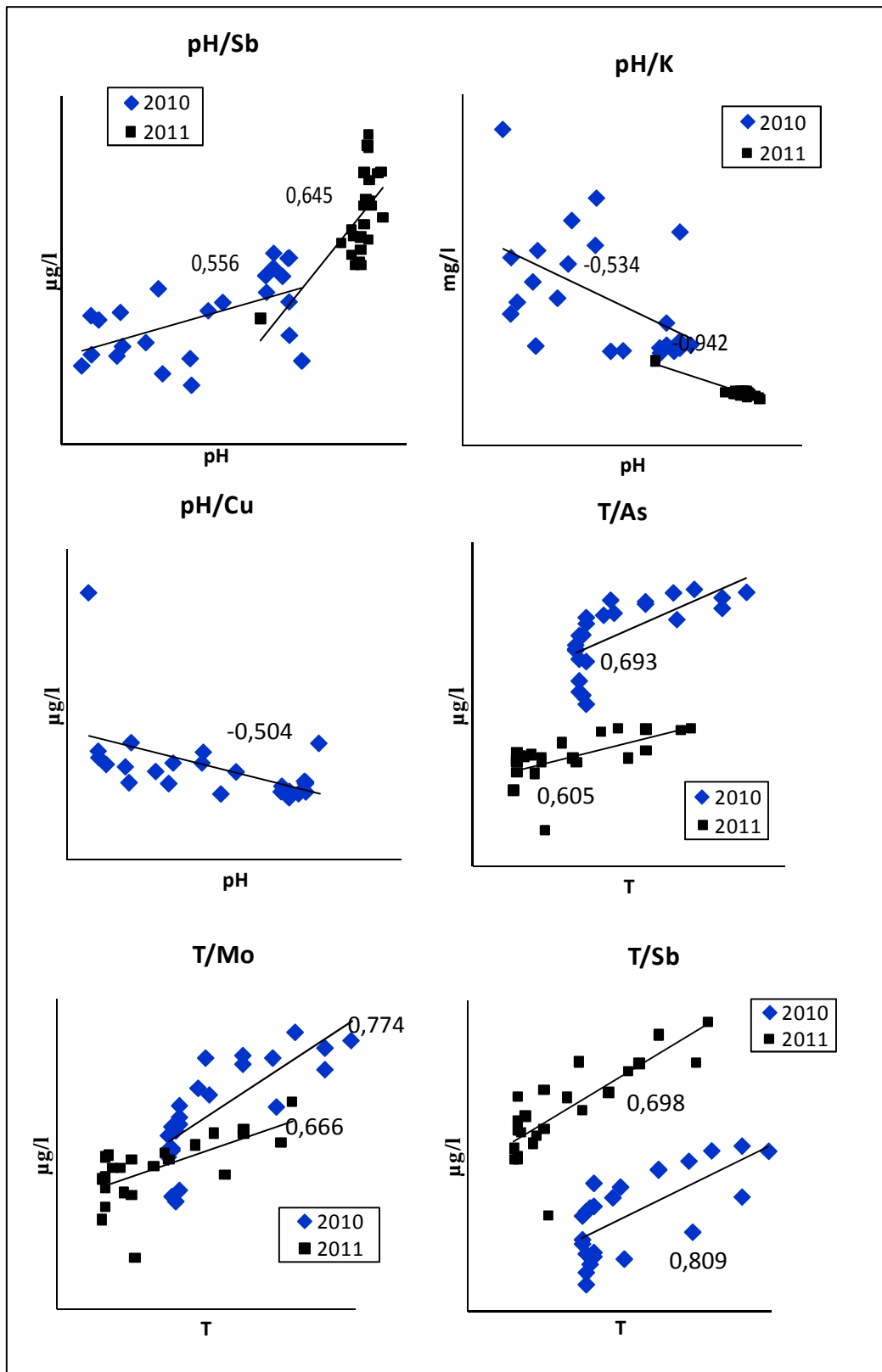
Tab. 5. Korelační koeficienty (r) rozpuštěných koncentrací zájmových prvků (hodnoty p byly vždy $< 0,0001$).

	2011				2010			
	Mo	Sb	Mn	Fe	Mo	Sb	Mn	Fe
As	0,88	0,80	0,09	0,37	0,93	0,86	-0,44	-0,44
Mo		0,88	0,09	0,26		0,83	-0,38	0,44
Sb			0,27	0,44			-0,33	0,28
Mn				0,31				-0,22

Teplota vody, pH a DO vzájemně nekorelují příliš dobře, nicméně celá řada rozpuštěných prvků s nimi korelují velmi dobře ať už pozitivně nebo negativně:

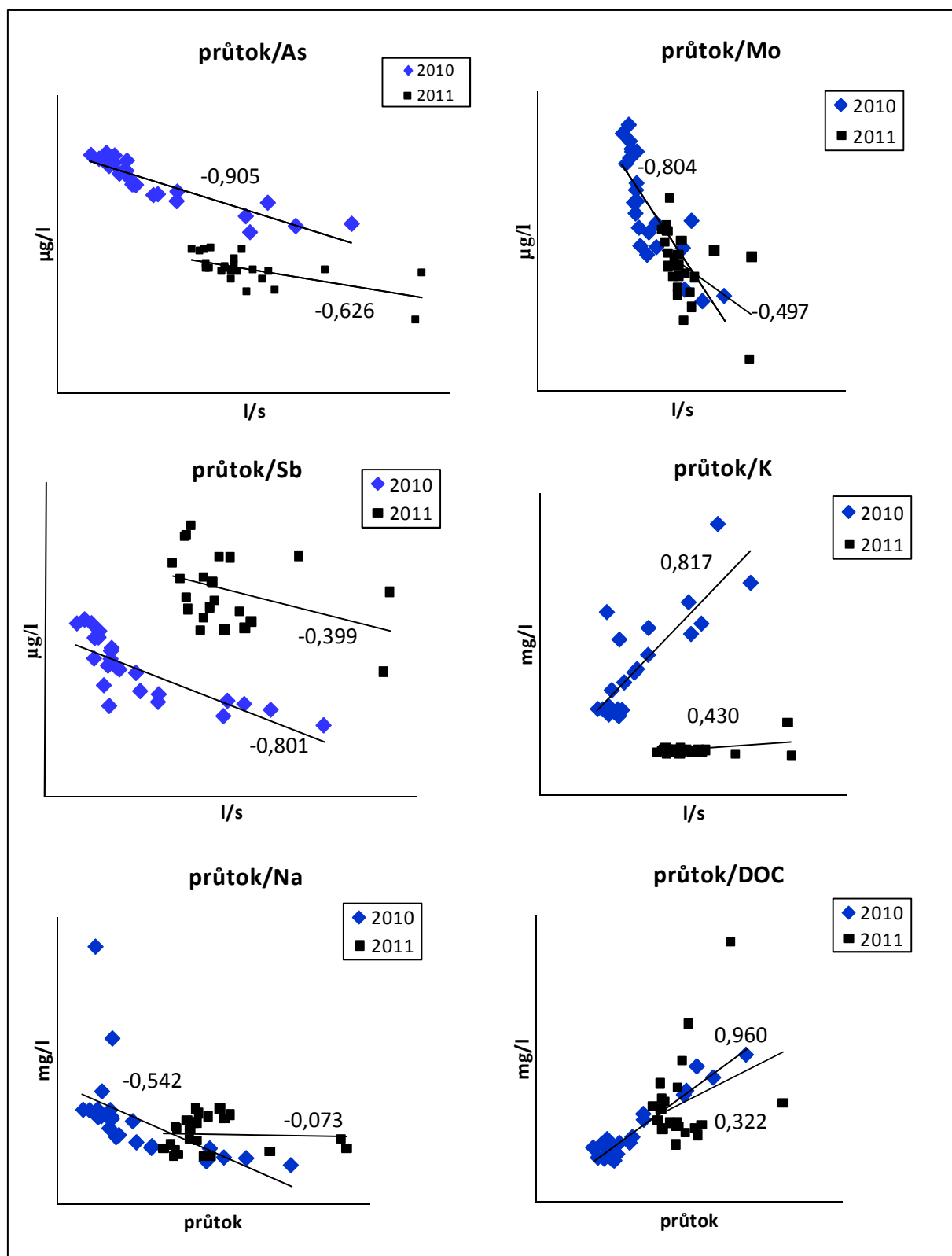
1. Jednoznačně pozitivně s pH (a teplotou) korelují rozpuštěný As, Mo, Sb (obr. 17) (a stejně tak i jejich "celkové" obsahy).
2. Jednoznačně negativně s pH koreluje pouze K a "celkové" a rozpuštěné koncentrace Cu (rozpuštěná Cu nebyla v roce 2011 detekovatelná; obr. 17).
3. Žádnou závislost na pH a teplotě vody nevykazují Mn a Cr. Ostatní prvky se v každém roce chovaly jinak nebo jejich koncentrace byly příliš nízké.





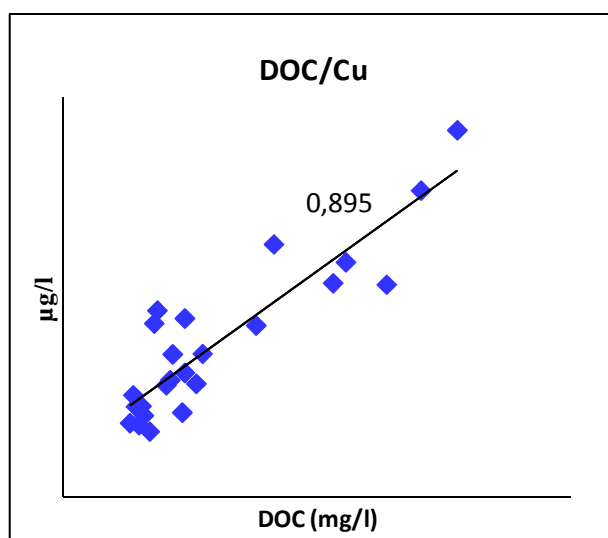
Obr. 17. Grafy závislosti pH a teploty s vybranými prvky a vyznačenými Pearsonovými korelačními koeficienty r . Jedná se o rozpuštěné koncentrace, v případě Cu pouze pro rok 2010.

Podle toho, jak se koncentrace měnily v reakci na průtok lze rozlišit alespoň dvě skupiny prvků: 1) prvky, jejichž rozpuštěné koncentrace se s s průtokem snížily: As, Mo, Sb ± HCO₃, F, SO₄, Ca, Mg, Na, Si (obr. 18), 2) nebo se zvýšily: Cu, DOC a K (Cu). As, Mo a Sb s průtokem korelují nejlépe (obr. 18).



Obr.18. Grafy závislosti průtoku a vybraných prvků s vyznačenými Pearsonovými korelačními koeficienty r . Jedná se o rozpuštěné koncentrace.

Dobrou korelaci vykazují DOC vůči rozpuštěné Cu (obr. 19).



Obr. 19. Graf závislosti DOC a Cu s vyznačeným Pearsonovým korelačním koeficientem r . Jedná se o rozpuštěné koncentrace pouze pro rok 2010.

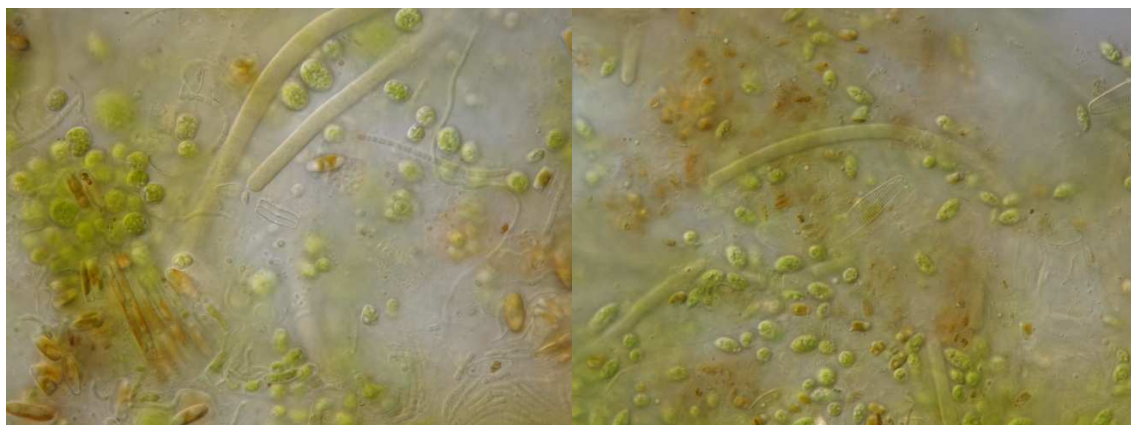
Speciace arsenu

V roce 2010 bylo separací pomocí redukce borohydridem získáno asi 20% As(III) ze sumy rozpuštěného As. Ke změnám koncentrací jednotlivých specií As docházelo, As(V) se nepravidelně měnil až o 60 $\mu\text{g/l}$ a As(III) o 25 $\mu\text{g/l}$. Z korelačních koeficientů mezi As(V), As(III) a fyzikálně-chemickými parametry se zdá, že by se obě formy As mohly chovat odlišně. Zatímco As(V) koreluje nejlépe s průtokem ($r = -0,95$), As(III) koreluje nejvíce s pH ($r = 0,75$). Tyto úvahy ovšem nemusí být relevantní, neboť chyba stanovení As specií touto metodou je podobně vysoká jako stanovené obsahy As(III).

V roce 2011 byl přesnější metodou zjištěn jen minimální obsah As(III) (< 1%) a veškerý rozpuštěný As ve vodě byl ve formě As(V). Proto není relevantní věnovat se změnám koncentrací As(III) v roce 2011.

6.2.2 Přírodní biofilm

Dle mikroskopické identifikace obsahují vzorky přírodního biofilmu především rozsivky (*Gomphonema*, *Achnanthes*), dále zelené řasy (*Coelastrrella*; obr. 20) a v malém množství protozoa.

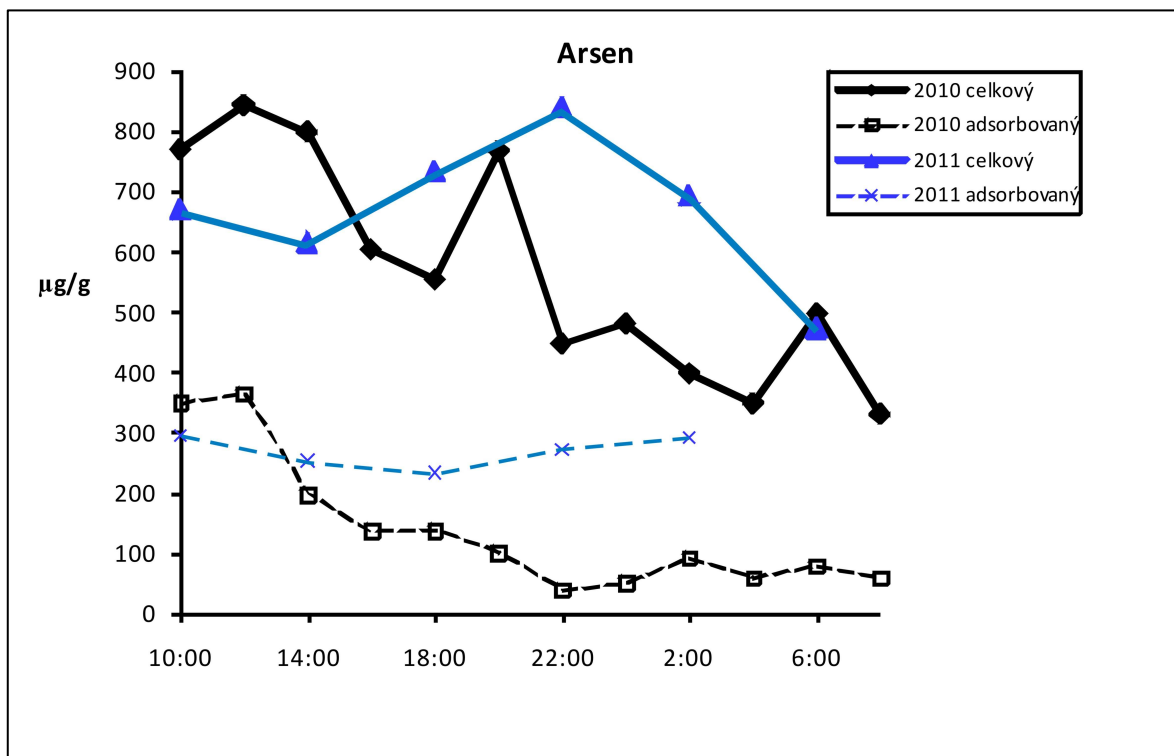


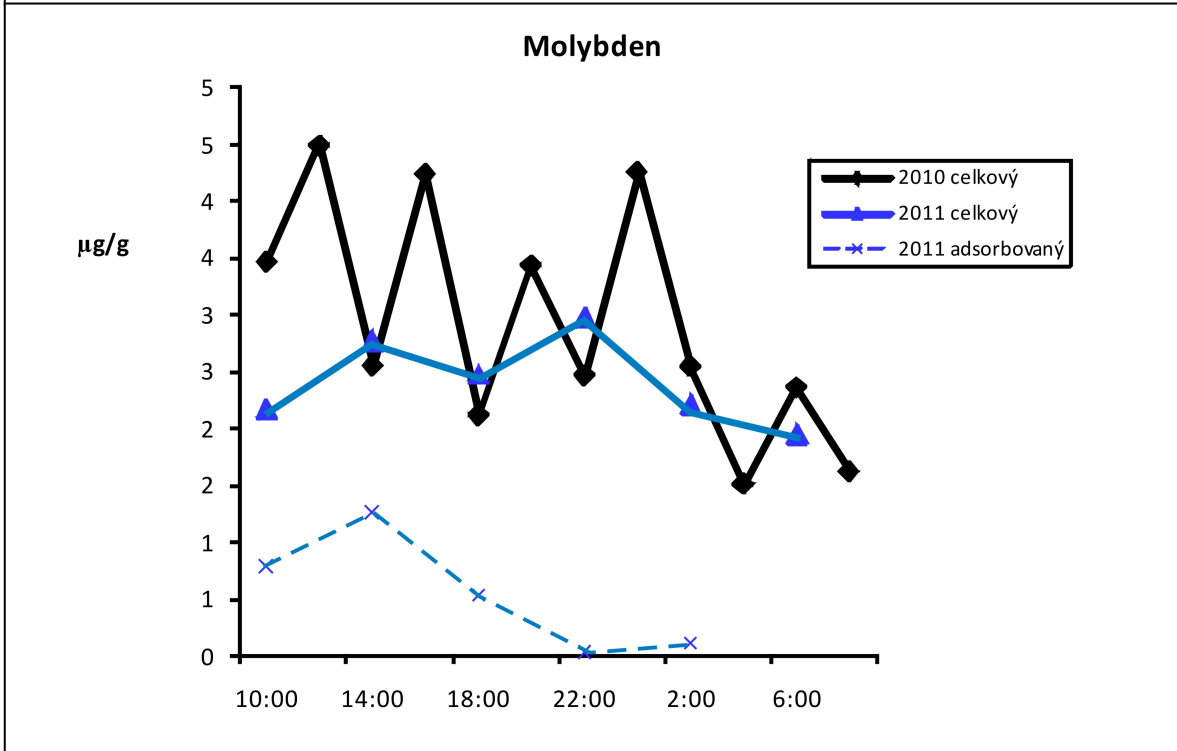
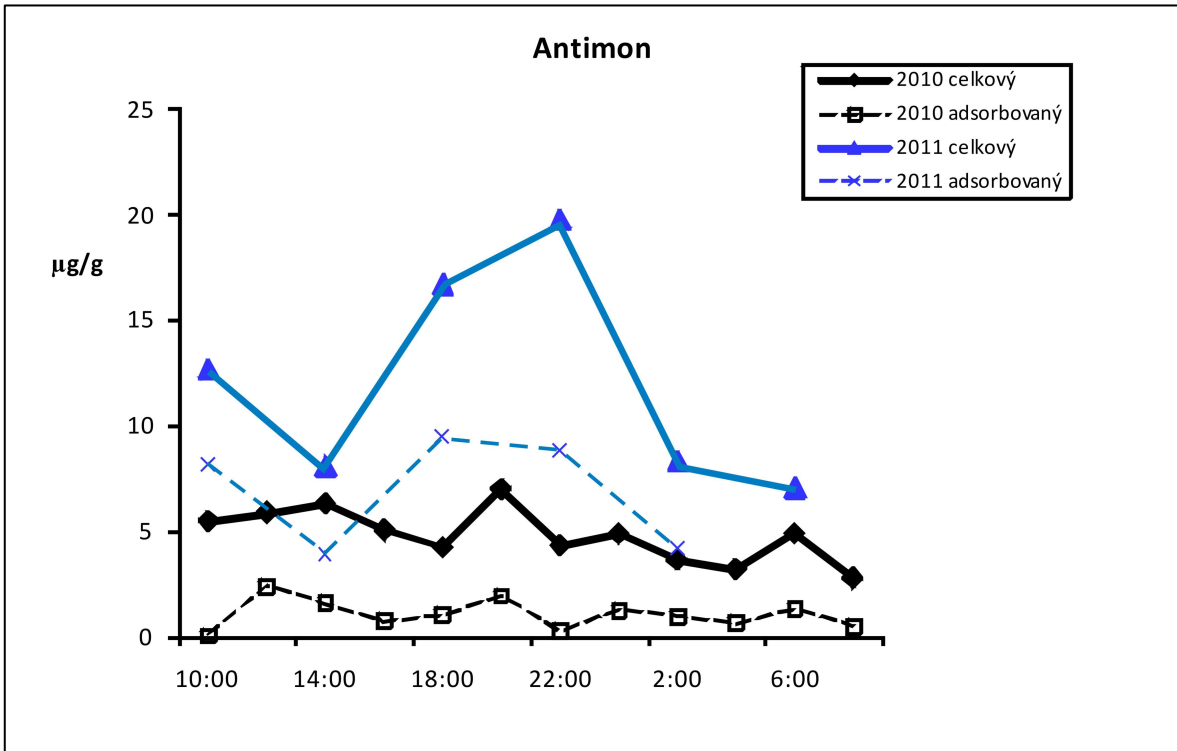
Obr. 20. *Achnanthes*, *Coelastrrella*. 1 cm odpovídá přibližně 6 μm .

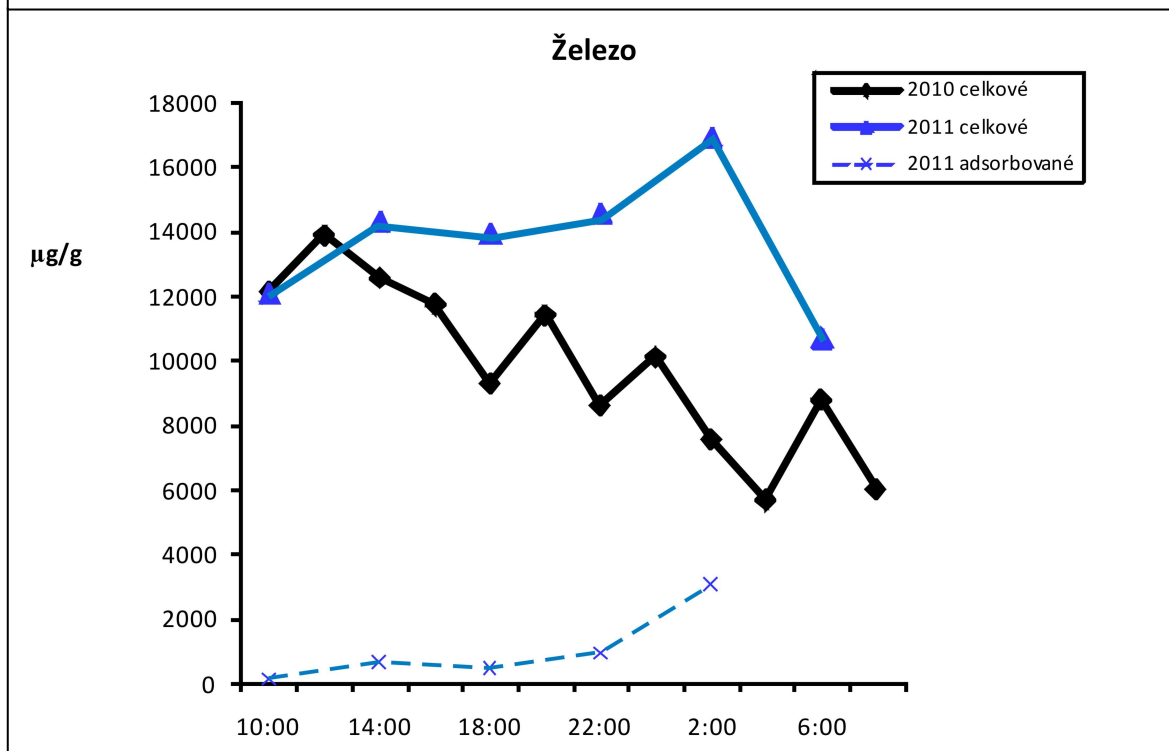
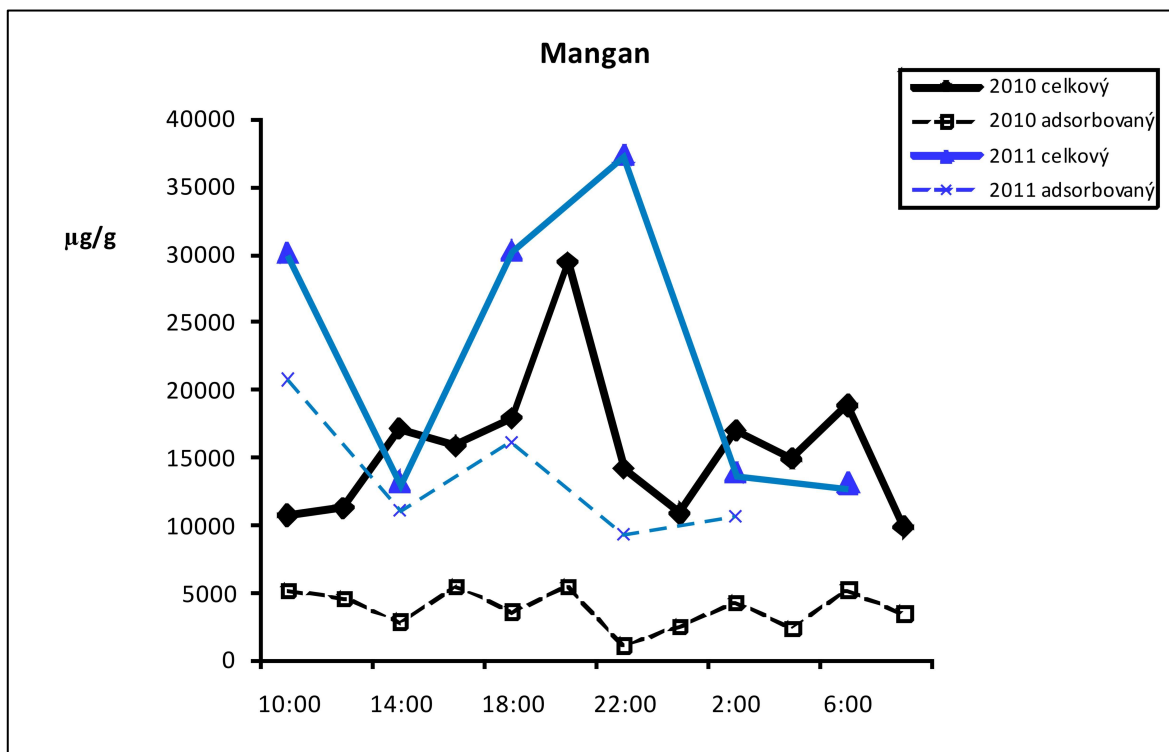
Na základě analýz přírodního biofilmu se prokázalo, že sušina obsahuje výrazně zvýšené koncentrace Mn (až 3,7 mg/g) a Fe (až 1,7 mg/g) a mírně zvýšené koncentrace As (až 850 µg/g), Sb (až 20 µg/g) a Mo (až 4,5 µg/g) (obr. 21). Dokonce i u prvků, jejichž rozpuštěné koncentrace byly pod mezí detekce (Zn a Cd), došlo k výrazné akumulaci v sušině biofilmu (až 250 µg/g Zn, až 2 µg/g Cd) (obr. 21). Při srovnání adsorbovaného obsahu výše zmíněných prvků v biofilmu a jejich rozpuštěných koncentrací lze konstatovat, že vazba kationtů Mn, Fe a Zn do biofilmu je mnohem úspěšnější než vazba oxyaniontů As, Sb a Mo. Zatímco celkové koncentrace kationtů kovů v sušině jsou vyšší o 5 – 6 řádů než jejich rozpuštěné koncentrace ve vodě, koncentrace aniontů As, Mo a Sb jsou vyšší přibližně jen 3 řády.

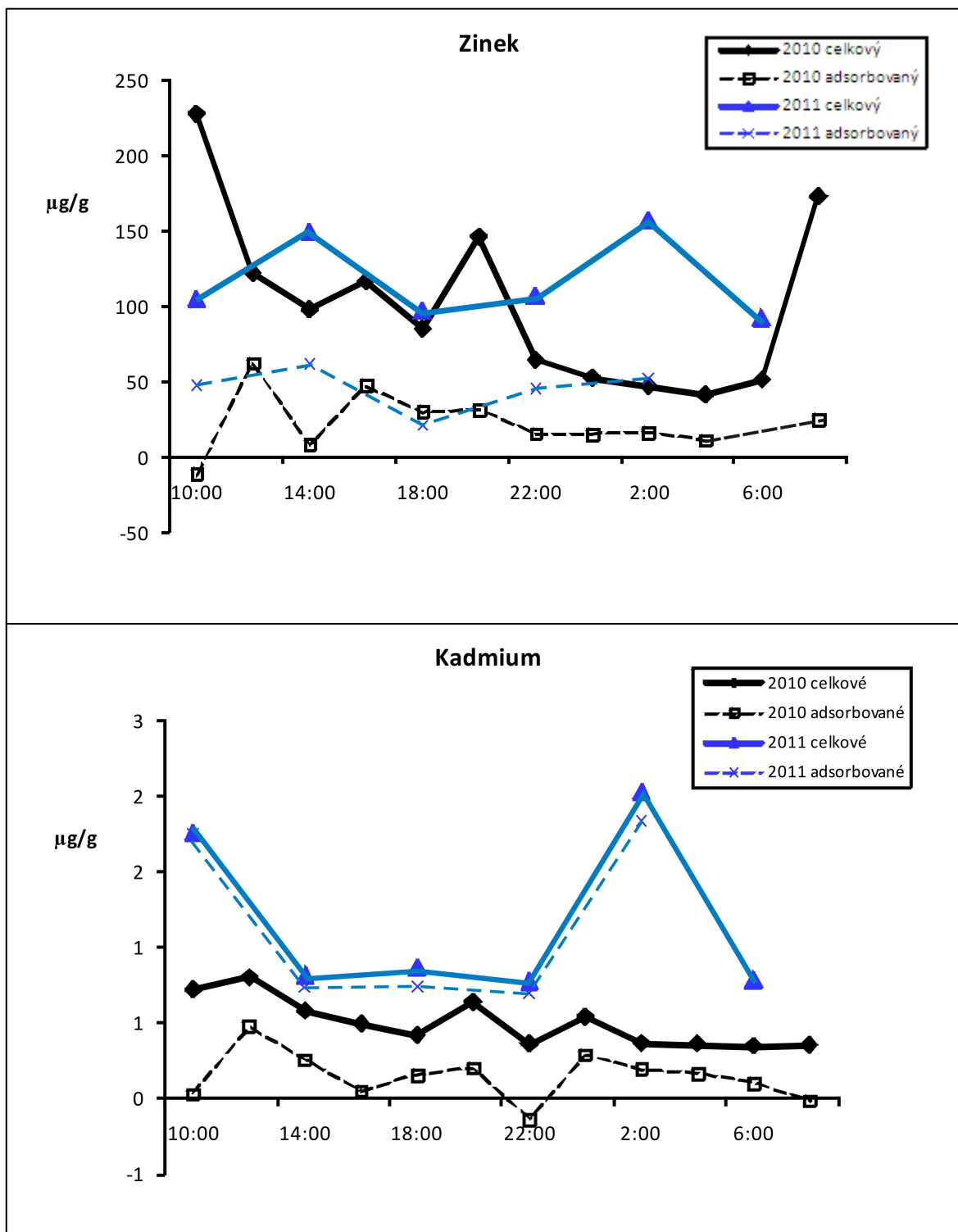
Množství adsorbované frakce prvků v biofilmu bylo obvykle velmi nízké a dosahovalo maximálně 50% z celkového obsahu v biofilmu. Záporné hodnoty u adsorbovaných koncentrací (např. Fe a Mo v roce 2010) jsou způsobené tím, že analyzovaná koncentrace rozloženého biofilmu byla nižší než koncentrace v biofilmu po extrakci EDTA, které uvolňuje adsorbovanou frakci prvku. Záporné hodnoty tedy ukazují na zanedbatelné množství adsorbované frakce a na relativně vysokou chybu stanovení, která byla na základě duplikovaných vzorků stanovena na maximálně 30%.

Během dvacetičtyřhodin se prokazatelně měnily celkové i adsorbované koncentrace As, Mo, Sb, Mn, Fe a Cd a Zn (obr. 21). Z těchto nepravidelných změn však nelze odvodit nějaké trendy, které by byly společné pro skupiny prvků.





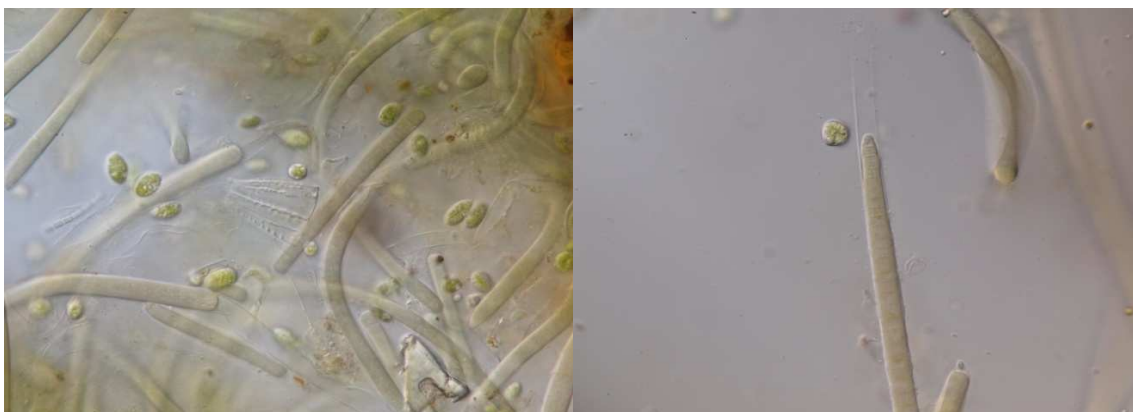




Obr. 21. As, Mo, Sb, Mn, Fe aCd, Zn adsorbované na přírodní biofilm, celkové i adsorbované obsahy.

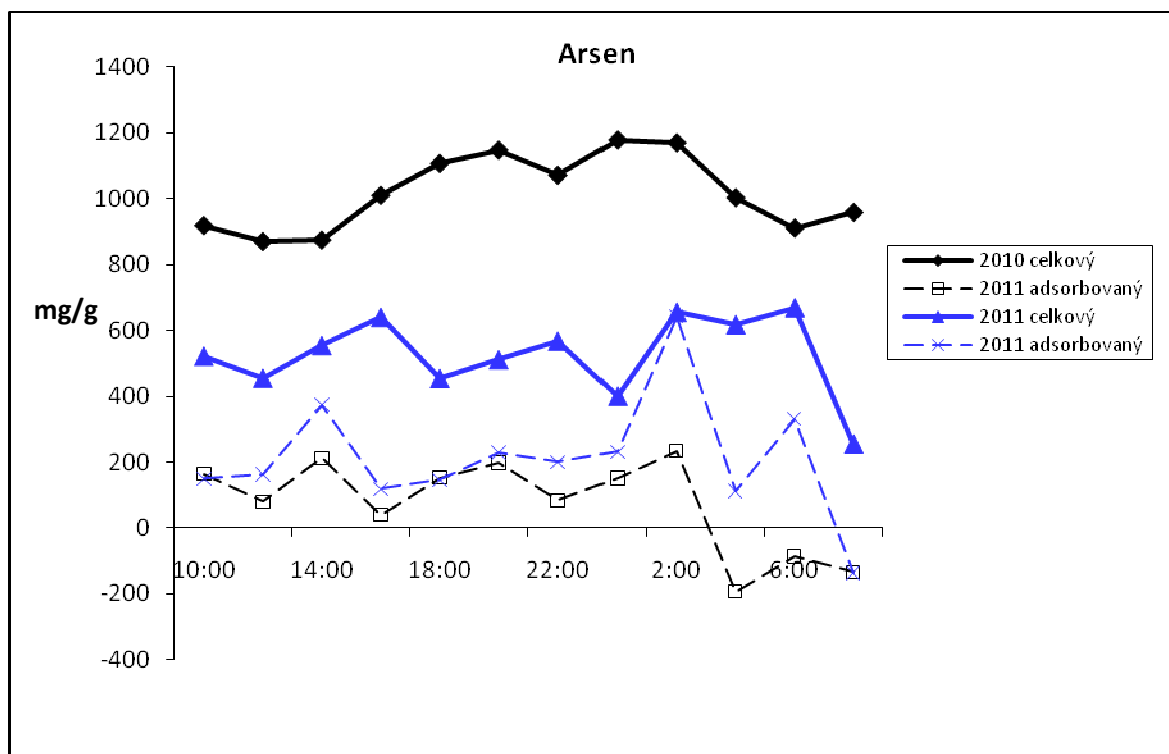
6.2.3 Umělý biofilm

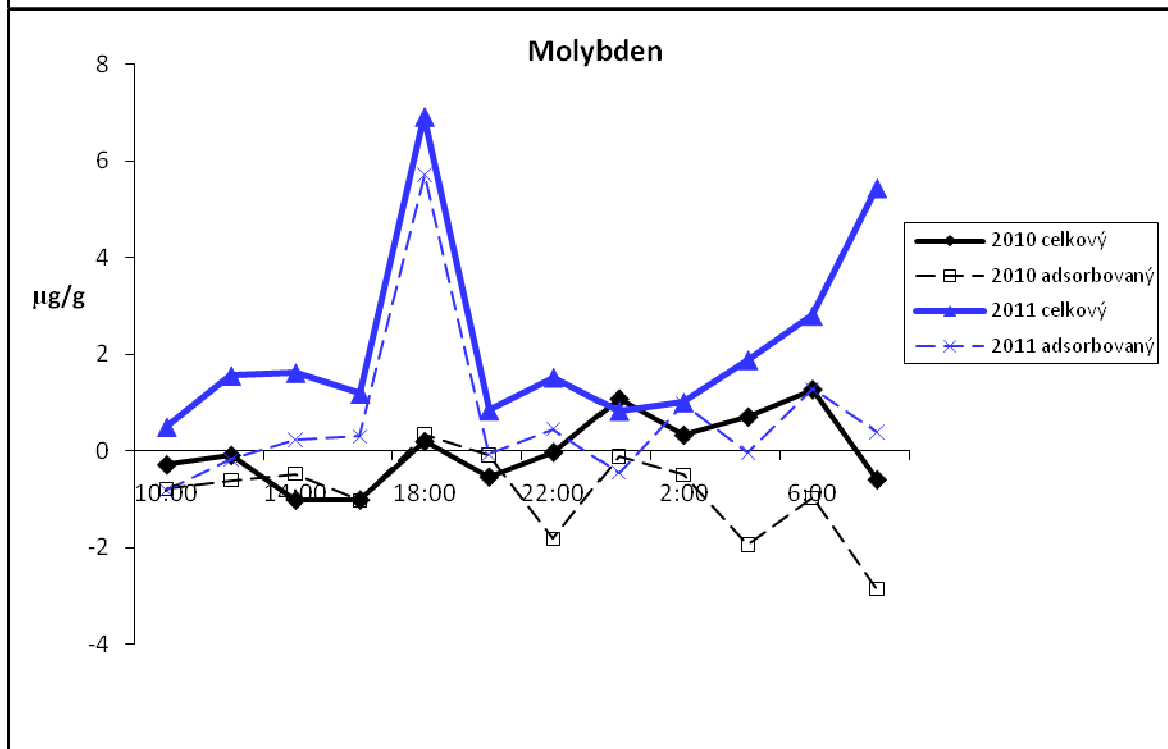
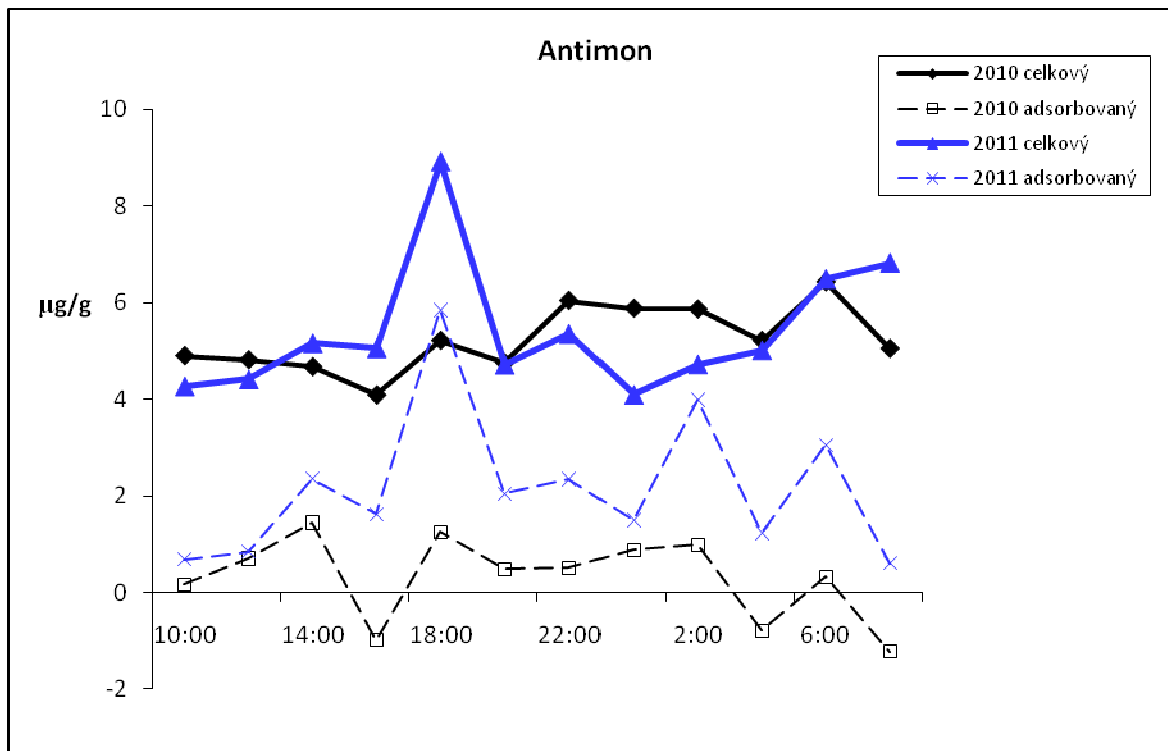
Umělý biofilm se skládá především ze zelených řas (*Coelastrella*), dále z rozsivek (*Planothidium*, *Nitzschia*, *Gomphonema*, *Achnanthes*, *Navicula*, *Meridion*) a sinic (*Aphanocapsa*, *Phormidium*, *Leptolyngbya*; obr. 22).

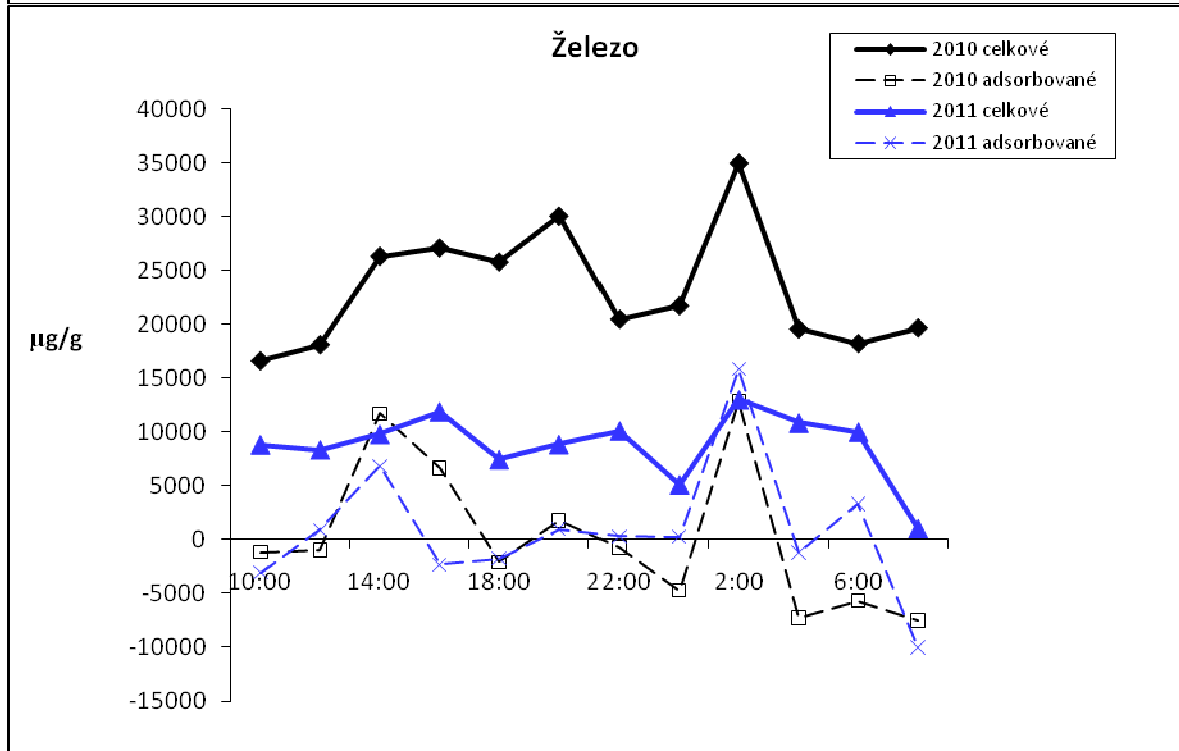
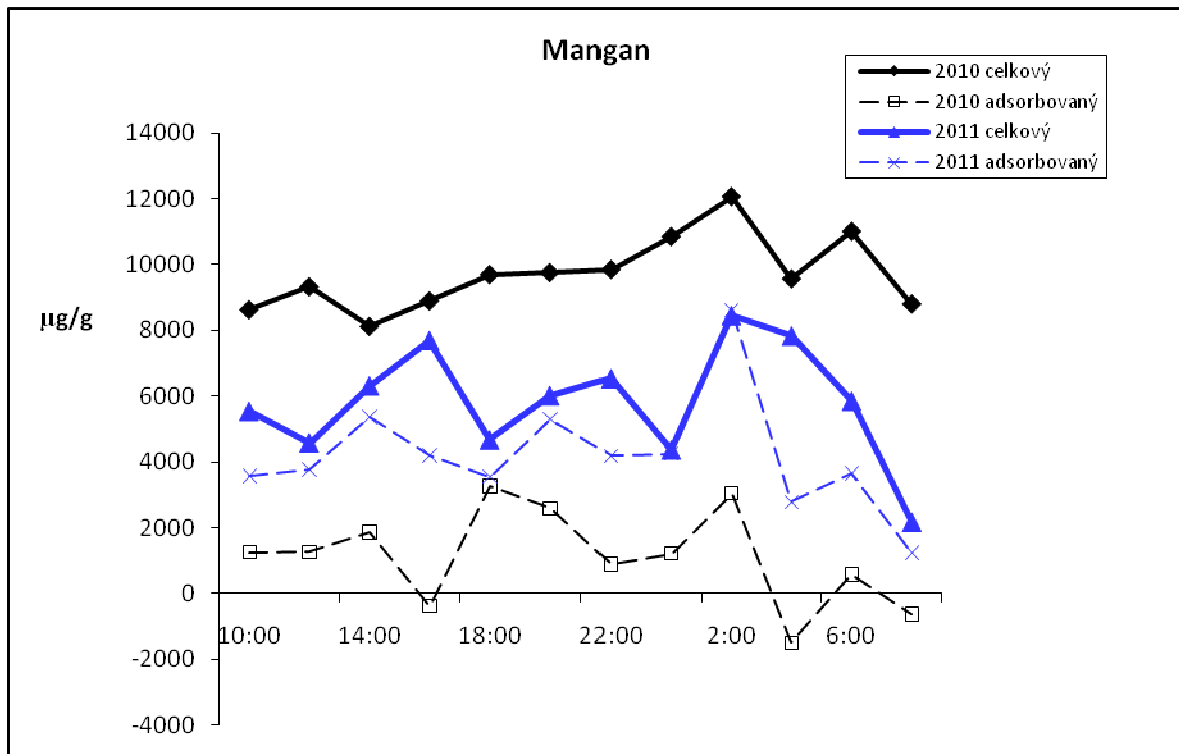


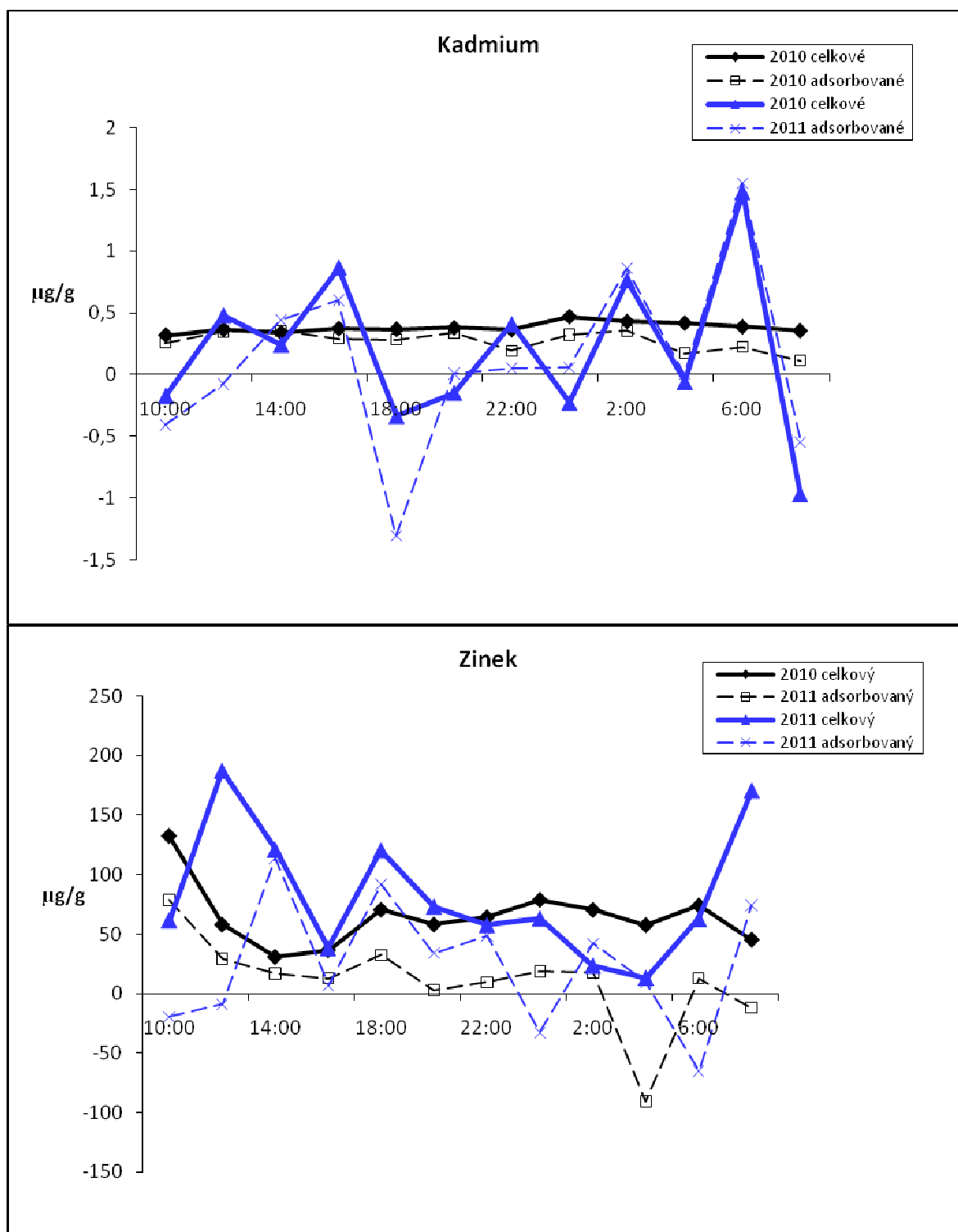
Obr. 22. *Meridion, Phormidium*. 1 cm odpovídá přibližně 6 μm .

Podobně jako na biofilm přírodní i na biofilm uměle připravený se vázaly prvky a to opět i v případě, že jejich koncentrace v potoční vodě byly relativně nízké (zejména Zn, obr. 23). Hodnoty celkového obsahu prvků v biofilmu jsou opět mnohem vyšší než adsorbované frakce, které jsou často záporné a velmi kolísají. V největším množství byl zjištěn Mn (až 12 mg/g) a Fe (až 25 mg/g); koncentrace ostatních sledovaných prvků byly výrazně nižší (až 1200 $\mu\text{g/g}$ As, až 9 $\mu\text{g/g}$ Sb, až 7 $\mu\text{g/g}$ Mo, až 1,5 $\mu\text{g/g}$ Cd, až 200 $\mu\text{g/g}$ Zn). V porovnání s rozpuštěnými koncentracemi došlo k nejvyšší akumulaci u Mn, Zn, a Fe (o více jak 5 řádů), zatímco koncentrace As, Mo a Sb se podobně jako u přírodního biofilmu oproti rozpuštěným koncentracím zvýšily mnohem méně (přibližně o 3 řády). Koncentrace prvků v umělém i přírodním biofilmu během dne kolísaly; nejvyšších koncentrací bylo dosaženo obvykle v noci, nečastěji okolo 2 h, a minimálních hodnot dopoledne (obr. 21, 23). Na uměle připravený biofilm se většina prvků vázala lépe (vyšší koncentrace As, Mn, Zn, Sb, Fe než v přírodním biofilmu). To ukazuje na vysokou sorpční schopnost biofilmu a rychlou kinetiku vazby prvků (umělý biofilm byl ve vodě jen 3 dny).





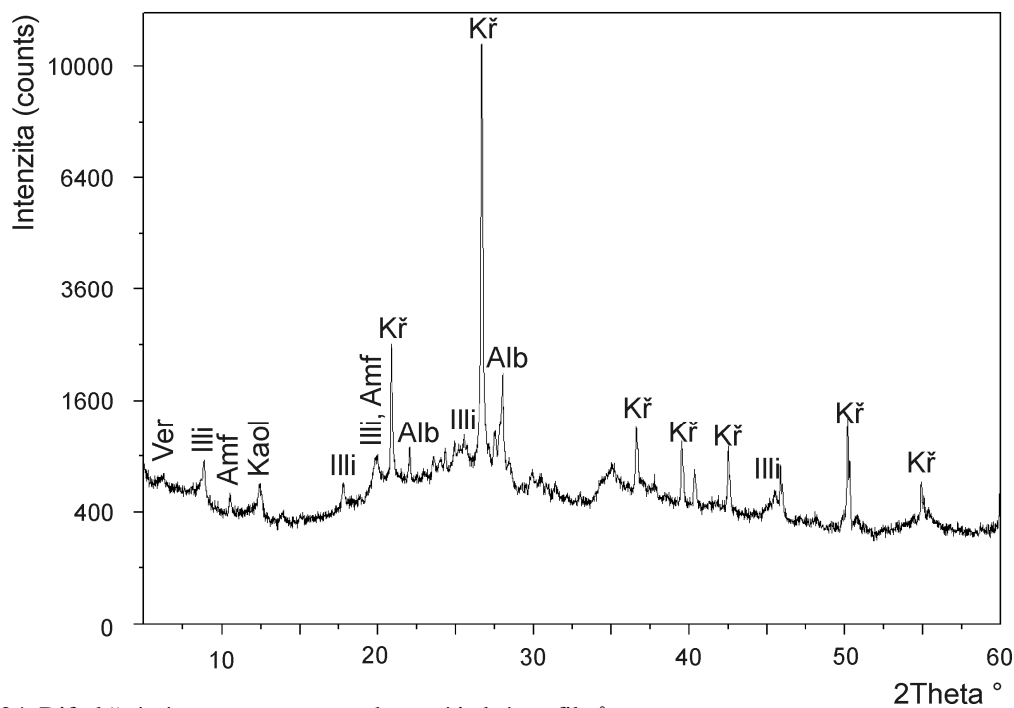




Obr. 23. As, Mo, Sb, Mn, Fe a Cd, Zn adsorbované na umělý biofilm, celkové i adsorbované obsahy.

6.2.4 RTG suspenze

RTG suspenzí které se zachytily na filtru (0,45 μm) během obou monitorovacích experimentů ukazují na stejné fázové složení. Obsahují nejhojněji křemen (< 50 %), dále illit či muskovit, albit, kaolinit a méně vermikulit a amfibol (obr 24.). Tyto fáze představují potenciální nositele prvků v suspenzi. Rozdíl mezi celkovým a rozpuštěným obsahem může být tedy spojen s vazbou daného prvku na některou z těchto fází.



Obr. 24. Difrakční záznam suspenze zachycené jedním z filtrů.

7. DISKUSE

7.1 Filtrační experiment

Koncentrace analyzovaných prvků, především velkých kationtů, filtrovaných přes filtry různé pórovitosti se výrazně nemění. To znamená, že (1) prvky jsou přítomné v rozpuštěné formě s.s. a (2) ve vodě se nevyskytují koloidy železa, fytolity nebo suspendované jílové minerály ($<0,45 \mu\text{m}$), na které by se tyto prvky mohly vázat.

Ve frakci 1 – 10 kDa mírně poklesly koncentrace As, Mo, Sb a DOC, které spolu navzájem korelují, což by mohlo ukazovat na možné společné vázání těchto prvků na velmi malé koloidy nebo jejich účast v půdních biochemických procesech prostřednictvím nízkomolekulární organické hmoty, pravděpodobně fulvokyseliny (Bauer a Blodau 2009, Hilal a kol. 2007).

7.2 Voda

Je zřejmé, že k pravidelným změnám rozpuštěných koncentrací As a některých dalších stopových prvků v potoční vodě na Mokrsku během dne dochází, což potvrzuje hlavní hypotézu této práce (Kapitola 1.). Je ale obtížné rozlišit, který z procesů je příčinou těchto změn nebo jakou měrou se na nich podílí. Pravděpodobně jde o kombinaci vlivu ředění vlivem dešťových srážek a adsorpčních procesů (způsobených pH a nebo teplotou; Lambing a kol. 1999), protože koncentrace prvků se měnila v závislosti na pH, teplotě i na průtoku (resp. pravidelný průběh daný adsorpcí narušují procesy mísení během dešťových přívalů). Je však jisté, že předpoklad Drahoty a kol. (2011), že změny koncentrací oxyaniontů As, Mo a Sb jsou způsobeny redoxními reakcemi Mn (Kapitola 4.4.3), během denních cyklů neplatí, neboť As (a ostatní stopové prvky) s Mn nekoreluje. Výsledky z denních měření se liší od výsledků z monitoringu ročního (Drahoty a kol. 2011) také v méně výrazných změnách koncentrací během dne než během roku. Lze se tedy domnívat, že procesy ovlivňující cykly prvků během dne a roku se v mnohém liší.

Na základě korelace mezi rozpuštěnými koncentracemi prvků a fyzikálně chemickými parametry toku lze prvky rozdělit do dvou skupin:

1) prvky, jejichž rozpuštěné koncentrace korelují s průtokem - pozitivně: celkové koncentrace Mn, Fe a kationů stopových prvků, rozpuštěné koncentrace K, DOC, Cu; negativně: rozpuštěné koncentrace As, Mo, Sb \pm SO₄, Ca, Mg, Na, Si, HCO₃,

2) prvky pozitivně korelující s pH (nebo teplotou) - As, Mo, Sb, SO₄, negativně pouze K a Cu.

DO závislost na některém z prvků (nebo fyzikálních parametrů) nevykazuje. Prvky které nevykazují žádný trend diskutovány nejsou.

Jednoznačně se ukázalo, že As, Mo, Sb se chovají zcela stejně a vytvářejí nejvýraznější pravidelný průběh změn rozpuštěných koncentrací během dne s maximy odpoledne a minimy brzy ráno. Nejvyšší a nejnižší hodnoty pro As v těchto denních časech korespondují se zjištěními např. Nimick a kol. (2003, 2011). Denní cykly pro Mo a Sb dosud nebyly popsány (Nimick a kol. 2011), a proto jsou významným příspěvkem k poznání geochemie obou prvků ve vodách. Cykly As jsou v porovnání s Mo a Sb nejméně výrazné, nicméně v obou případech 24-hodinových experimentů docházelo k pravidelným změnám rozpuštěného As, zatímco změny rozpuštěné koncentrace kationtů kovů byly zcela nevýrazné. Toto zjištění je v rozporu se zjištěním Nimick a kol. (2003), kteří popisovali velké změny v koncentraci zejména u kationtů kovů a malé u As.

Vliv pH a teploty

Z fyzikálně-chemických parametrů měřených během dvou monitorovacích experimentů s pravidelnými denními cykly korespondují změny teploty vody, DO a částečně pH, neplatí to ale pro průtok a vodivost, což je v souladu s prací Nimicka a kol. (2003). Hodnoty pH i DO korespondují s teplotou, což potvrzuje těsnou závislost mezi těmito proměnnými a také fakt, že jsou obě řízené stejným procesem, kterým je sluneční záření (Nimick a kol. 2003, 2011). Vzhledem k tomu, že průběh DO nekoresponduje s žádným z biologických procesů, fotosyntéza a respirace v potoku na Mokrsku nebyla během denních monitorovacích experimentů výrazná (viz. Kapitola 3.1) jak jsme očekávali a jak je obvykle popisováno v řadách prací, např. Loperfido a kol. (2009), Nimick a kol. (2011), a většina hlavních procesů je řízena abioticky.

Rozpuštěné koncentrace As a dalších prvků se během dne měnily, což může být vysvětleno pH a/nebo teplotně závislou cyklickou adsorpcí iontů na biologický a/nebo mineralogický substrát v korytě potoka (Kuwabara a Fuller 2003; Gammons a kol. 2007; Barringer a kol. 2008; Nimick 2011). Korelace rozpuštěných koncentrací prvků s pH a teplotou byly podobně kvalitní, s pH nevýznamně lepší, proto je těžké rozlišit, zda je adsorpce způsobená teplotně nebo vlivem pH. Přesto lze na základě porovnání parametrů pH a teploty v experimentech z obou let hypotetizovat, že větší roli hraje teplotně závislá sorpce, neboť změny koncentrace As a teploty byly v obou experimentech podobné, zatímco změny pH v roce 2011 byly minimální. Změny koncentrací prvků mohou být způsobeny také cyklickým srážením a rozpouštěním pevných fází (Kuwabara a Fuller 2003; Gammons a kol. 2007), ale protože oxyanionty na první pohled dobře korelují s pH (a teplotou), je pravděpodobné, že ony změny jsou způsobené spíše sorpčními procesy.

Vliv ředění

Snížení koncentrací při zvýšeném průtoku vykazuje většina analyzovaných prvků (As, Mo, Sb \pm SO₄, Ca, Mg, Na, Si, HCO₃). Důvodem je ředění potoční vody méně mineralizovanou vodou atmosférických srážek. U některých prvků je však patrná pozitivní korelace (K, DOC, Cu), tedy zvýšené obsahy se zvýšeným průtokem. Jde zřejmě o další zdroj vody s odlišným chemickým složením. Může se jednat o splach z okolí koryta (organická hmota vymytá během srážek z okolí s navázanou Cu, viz. odstavec níže; Lambing a kol. 1999) nebo vytlačení přípovrchové vody z hyporheické zóny do povrchové vody potoka způsobené zvýšenou hladinou podzemní vody (Brick a Moore 1996). To vede ke zvýšení koncentrací DOC a K jen při velkém průtoku.

Pozitivní korelace Cu s DOC by mohla pomoci vysvětlit dobře známá afinita Cu k DOC (Cabaniss a Shuman 1998). Komplexace mědi s organickými sloučeninami by mohla potvrzovat tvrzení, že DOC ovlivňuje mobilizaci mědi (Zhao a kol. 2007, Clemente a kol. 2008). Vzrůst koncentrace Cu s průtokem během přívalových srážek zaznamenali i Meylan a kol. (2003), podle kterých je tento vzrůst Cu způsobený resuspenzí sedimentů obsahujících tyto kovy a uvolňujících je do vody. Rozpuštěná koncentrace Cu během přívalových dešťů vzrosla asi třikrát stejně jako v práci Meylan a kol. (2003).

Arsen se podobně jako Cu může vázat na organický substrát (Bauer a Blodau 2009), jak bylo zjištěno v iniciálním filtračním experimentu (viz. Kapitola 7.1), a tedy spolu s DOC, Cu a průtokem by mělo při dešti docházet k zvýšení jeho koncentrace (ať už příčinou splachu nebo vytlačení z hyporheické zóny). K tomu však nedochází, a je proto možné, že na koncentraci As má větší vliv ředění než přínos As pomocí DOC nebo jde případně i o splach organické hmoty, která As není schopna vázat.

Vazba oxyaniontů na materiál v suspenzi nebyla prokázána. Je tedy pravděpodobné, že vliv přívalových dešťů na mobilizaci Mo, Sb a zejména As vlivem fluvialní eroze na této lokalitě bude minimální. Tyto výsledky jsou v souladu se zjištěním, že hlavními potenciálními sorbenty v suspenzi jsou jílové minerály (viz. Kapitola 6.2.4) a vazba As na jílové minerály na této lokalitě je zanedbatelná (Drahota a kol., 2009, Filippi a kol., 2007).

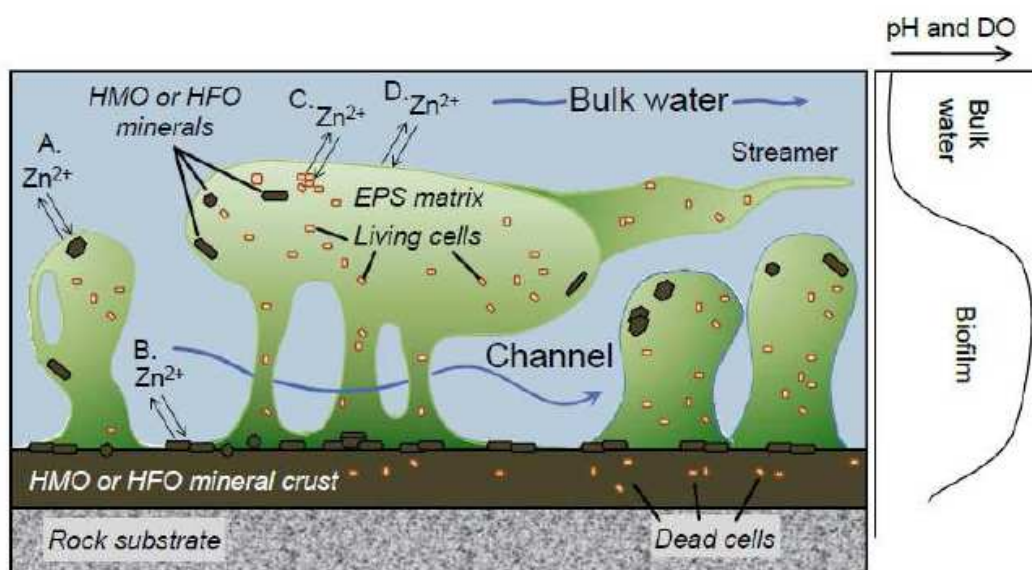
Speciace As

Vzhledem k tomu, že metoda stanovení Asspecií nebyla v roce 2010 příliš přesná, výsledky z tohoto roku nelze diskutovat. Z analýz v následujícím roce, které odhalily jen velmi malé množství As(III) (méně než 1%), vyplývá, že v roce 2010 mohlo dojít k nadhodnocení hodnot As(III). Tato skutečnost je také v rozporu s výsledky Drahoty a kol. (2009) a musí být dále prověřena zda se jedná o analytické chyby, či zda nedochází ke změnám speciace As během roku.

7.3 Adsorpce na biofilm

Studii zabývajících se adsorpcí prvků na biofilm (perifyton) nebylo provedeno mnoho. Známá je adsorpce Cd (např. Dong a kol. 2003), Ni (Beck a kol. 2011), Pb (např. Nelson a kol. 1999), Co a Zn (např. Meylan a kol. 2003), Hg (Cheng a kol. 2008). Naše práce potvrdila již dříve známou adsorpci Mn, Zn, Cd, Fe na biofilm a nově odhalila možnou adsorpci As, Sb a \pm Mo na tento rozšířený substrát ve fluviálním prostředí.

Pravděpodobně ale nejde jen o prostou adsorpci a vazbu prvků na povrch a dovnitř buněčných struktur, ale také o adsorpci a koprecipitaci prvků na (biogenní) oxyhydroxidy Mn a snad i Fe, které vznikají na povrchu biofilmu (obr. 25; Grey a kol. 2001; Dong a kol. 2003; Haack a Warren 2003; Meylan a kol. 2003; Nimick a kol. 2011). Kromě řady studií to potvrzuje i velké množství adsorbovaného Mn a Fe na umělý i přírodní biofilm v této práci. Protože se adsorbovaný Mn a Fe vázal na přírodní i umělý biofilm v podobné míře, vznikají tyto hydratované oxidy zřejmě v obou typech biofilmu. Výskyt biogenních Mn oxyhydroxidů s malým množstvím As \pm Cu, Zn v potočném sedimentu na Mokrsku byl potvrzen prací Drahoty a kol. (2011). Adsorpční schopnosti MOH jsou výrazně lepší než vlastnosti povrchů jiných fází (včetně biofilmu; Dong a kol. 2003), především díky velkému specifickému povrchu a širokému rozpětí pH_{ZPC} (Nelson 1999, Gray a kol. 2001). Adsorpce na tyto oxidy bývá dokonce efektivnější při malých koncentracích sorbentu (Dong a kol. 2003).



Obr. 25. Diagram zobrazující jednobuněčné organismy, minerální sraženiny a krusty obsahující MOH, FOH, exopolysacharidovou matrix (EPS), mrtvé buňky a horninový substrát. Velká písmena naznačují výměnu kationtů mezi vodou a A. minerální hmotou uvnitř biofilmu, B. minerální krustou pod povrchem biofilmu, C. povrchem nebo vnitřkem živých jednobuněčných organismů (řasy a bakterie) a D. povrchem EPS. Graf vpravo ukazuje relativní změnu pH a koncentrace DO v potoční vodě během dne (v noci by tato křivka měla opačný průběh; převzato z: Nimick a kol. 2011).

Adsorpce prvků na oba druhy biofilmu v obou letech byla velmi podobná. Nejúspěšnější byla vazba kationtů kovů (Mn, Fe, Zn), zatímco oxyanionty As, Mo a Sb se vázaly v menší míře. Adsorbovaná a celková množství těchto prvků v biofilmu se v průběhu dne měnila, ale nelze potvrdit pravidelný trend pro jeden prvek ani skupinu prvků. Adsorpce na umělý biofilm byla obvykle efektivnější než na přírodní biofilm, přestože byl v potoční vodě vystaven kratší dobu. Efektivnější adsorpci prvků na umělý biofilm než na přírodní objevili také Behra a kol. (2002); podle této práce může adsorpce prvků na biofilm záviset na jeho stáří. Meylan a kol. (2003) k tomu dodávají, že adsorpce na biofilm závisí také na složení komunity organismů nebo na jeho tloušťce.

Nejlépe se adsorboval Mn, naopak k adsorpci Mo a v případě přírodního biofilmu a také Fe takřka nedošlo, což je v případě Fe překvapivé, vzhledem k tomu, že má podobné vlastnosti jako Mn. Ve velkém množství se adsorboval také As, který se během dne měnil až o 44%. Tato hodnota je podobná změně jako v práci Gammons a kol. (2007). Zinek byl adsorbován v relativně velkém množství ve srovnání s tím, že ve vodě nebyl vůbec detekován. Pokud se přihlídně k rozpuštěným koncentracím prvků, také Sb vstupuje do biofilmu podobně efektivně jako As a Mo. Jiný vztah mezi rozpuštěným obsahem prvku ve vodě a jeho adsorbovaným množstvím však popsat nelze. K tomuto zjištění dospěli i Meylan a kol. (2003).

Denní cykly adsorbovaných prvků na biofilm výrazné nejsou, ale minimálních a maximálních obsahů v umělém a přírodním biofilmu dosahují přibližně v podobných denních dobách. Není však patrné, že by tyto extrémy kopírovaly extrémy rozpuštěných koncentrací, přestože Meylan a kol. (2003) něco podobného zaznamenali. Beck a kol. (2009) pomocí mikroelektrod změřili pH na povrchu a uvnitř biofilmu a potvrdili, že pH (i koncentrace DO) v biofilmu koreluje s denními změnami pH vody tak, že pH v biofilmu je nejnižší v noci a nejvyšší okolo poledne – tzn., že v noci by mělo docházet především k adsorpci kationtů a naopak. S tímto zjištěním částečně korespondují naše výsledky, kdy As, Sb, Mn vykazují opačný "trend" (maxima kolem 20. hodiny) než Zn. V cyklech se mění i množství MOH na/v biofilmu, kdy odpoledne dochází k redukčnímu rozpouštění MOH a naopak k jejich znovutvoření v brzkých ranních časech, kdy nedochází k fotosyntéze (Haack a Warren 2003; Beck a kol. 2009). Toto je v souladu s našimi výsledky z biofilmu, ale ke vzrůstu rozpuštěného Mn ve vodě odpoledne nedošlo.

8. ZÁVĚR

V rámci této práce byly v letech 2010 a 2011 provedeny dva dvacetičtyřhodinové odběrové experimenty, které měly za cíl prověřit, zda dochází v povrchové vodě na lokalitě Mokrsko k denním změnám rozpuštěných koncentrací prvků, případně také speciací arsenu. Tomuto experimentu předcházel experiment filtrační, který potvrdil, že většina prvků se ve vodě vyskytuje v rozpuštěné formě, ačkoliv některé prvky (As, Mo, Sb) mohou být vázané na velmi malé koloidy organické hmoty.

Výsledkem této diplomové práce je zjištění, že ke změnám rozpuštěných koncentrací dochází především u arsenu, molybdenu a antimonu ve více méně pravidelných cyklech. Změny ve speciaci arsenu během dne nebyly pozorovány. Nejvyšších koncentrací tyto prvky pravidelně dosahují v odpoledních hodinách a nejnižších v brzkých ranních hodinách. Jejich koncentrace se měnily o 15 - 31%. Příčinou těchto změn je kombinace geochemických, biologických a fyzikálních procesů, které ovlivňují zejména přerozdělení stopových prvků mezi rozpuštěnou a pevnou fází. Konkrétně se jedná o proces ředění během přívalových dešťů a sorpční procesy řízené pravděpodobně změnami teploty. Vliv biologických procesů na tyto změny byl minimální.

V rámci těchto jednodenních experimentů byly odebírány také vzorky přírodního a uměle vykultivovaného biofilmu. Výsledky nepotrdily ani nevyvrátily, že by biofilm byl hlavní příčinou změn koncentrací prvků. Je ovšem pravděpodobné, že se tato adsorpce odehrává spolu se srážením biogenních oxidů manganu.

Pokud je nám známo, tato práce nově popisuje pravidelné změny rozpuštěné koncentrace Mo a Sb v potoční vodě a také odhaluje vazbu těchto prvků spolu s As na biofilm, který může hrát významnou roli.

9. CITOVANÁ LITERATURA

- Anderson M.A., Malotky D.T., 1979. The adsorption of protolyzable anions on hydrous oxides at the isoelectric pH. *J. Colloid. Interface Sci.*, 72: 413-427.
- Aposhian H.V., Gurzau E.S., Le X.C., Gurzau A., Healy S.M., Lu X., Ma M., Yip L., Zakharyan R.A., Maiorino R.M., Dart R.C., Tircus M.G., Gonzalez-Ramirez D., Morgan D.L., Avram D., Aposhian M.M., 2000. Occurrence of monomethylarsonous acid (MMA III) in urine of humans exposed to inorganic arsenic. *Chem. Res. Toxicol.*, 13: 693-697.
- Barringer J.L., Wilson T.P., Szabo Z., Bonin J.L., Fischer J.M., Smith N.P., 2008. Diurnal variations in, and influences on, concentrations of particulate and dissolved arsenic and metals in the mildly alkaline Walkill River, New Jersey, USA. *Environ. Geol.*, 53: 1183-1199.
- Bauer M., Blodau Ch., 2009. Arsenic distribution in the dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 73: 529-542.
- Beck A.J., Janssen F., Polerecky L., Herlory O., De Beer D., 2009. Phototropic biofilm activity and dynamics of diurnal Cd cycling in a freshwater stream. *Environ. Sci. Technol.*, 43: 7245-7251.
- Beck A.J., Janssen F., de Beer D., 2011. The influence of phototropic benthic biofilms on Cd, Cu, Ni, and Pb transport in permeable sediments. *Biogeochemistry*, 102: 167-181.
- Bednar A.J., Garbarino J.R., Ranville J.J., Wildeman T.R., 2002. Preserving the distribution of inorganic arsenic species in groundwater and acid mine drainage samples. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 2213-2218.
- Behra R., Landwehrjohann R., Vogel K., Wagner B., Sigg L., 2002. Copper and zinc content of periphyton from two rivers as a function of dissolved metal concentration. *Aquat. Sci.*, 64: 300-306.
- Belzile N., Tessier A., 1990. Interactions between arsenic and iron oxyhydroxides in lacustrine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 54: 103-109.
- Benoit G., 1994. Clean technique measurement of Pb, Ag, and Cd in freshwater: a redefinition of metal pollution. *Environ. Sci. Technol.* 28: 1987-1991.
- Bissen M., Frimmel F. H., 2003. Arsenic – a Review. Part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 1: 9–18.
- Bond B.J., Jones J.A., Moore G., Phillips N., Post D., McDonnell J.J., 2002. The zone of vegetation influence on baseflow revealed by diel patterns of streamflow and vegetation water use in a headwater basin. *Hydrol. Process.*, 16: 1671-1677.
- Brick C.M., Moore J.N., 1996. Diel variations in the upper Clark Fork River, Montana. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 1953-1960.
- Burguera M., Burguera J. L., 1997. Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental and biological samples. *Talanta*, 44:1581- 1604.
- Buschmann J., Berg M., 2009. Impact of sulfate reduction on the scale of arsenic contamination in groundwater of the Mekong, Bengal and Red River deltas. *Appl. Geochem.*, 24: 1278 -1286.
- Cabaniss S.E., Shuman M.S., 1988. Copper binding by dissolved organic matter: 1. Suwannee River fulvic acid equilibria. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 52: 185-193.
- Caine N., 1992. Modulation of the diurnal streamflow response by the seasonal snowcover of an alpine basin. *J. Hydrol.*, 137: 245-260.

- Carbonell G., Martinez-Pereda J., Tarazona J., 1998. Mobilization of essential metals during and after short-term lethal cadmium exposure in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol. Environ. Restor.*, 1: 85-91.
- Carter D.E., Aposhian H.V., Gandolfi A.J., 2003. The metabolism of inorganic arsenic oxides, gallium arsenide, and arsine: a toxicochemical review. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 193: 309-334.
- Cicerone D.S., Stewart A.J., Roh Y., 1999. Diel cycles in calcite production and dissolution in an eutrophic basin. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2169-2177.
- Clark R.J.H., 1999. Raman microscopy: sensitive probe of pigments on manuscripts, paintings and other artefacts. *J. Mol. Struct.*, 480-481: 15-20.
- Clemente R., Dickinson N.M., Lepp W.N., 2008. Mobility of metals and metalloids in a multi-element contaminated soil 20 years after cessation of the pollution source activity. *Environ. Pollut.*, 155: 254-261.
- Cliff D.C., Morávek P., 1995. The Mokrsko gold deposit, Central Bohemia, Czech Republic. In: Pašava J., Kříbek B., Žák K. (eds) *Mineral deposits*. Balkema, Rotterdam, str. 105-108.
- Constantz J., Thomas C.L., Zellweger G., 1994. Influence of diurnal variations in stream temperature on streamflow loss and groundwater recharge. *Water Resour. Res.*, 30: 3253-3264.
- Cullen W.R., Reimer K.J., 1989. Arsenic speciation in the environment. *Chem. Rev.*, 89: 713-764.
- Czarnecki G.L., Baker D.H., 1982. Roxarsone toxicity in the chick as influenced by dietary cysteine and copper and by experimental infection with *Eimeria acervulina*. *Poult. Sci.*, 61: 516-523.
- Czikowsky M.J., Fitzjarrald D.R., 2004. Evidence of seasonal changes in evapotranspiration in eastern U.S. hydrological records. *J. Hydrometeorol.*, 5: 974-988.
- Dong D., Hua X., Li Y., Zhang J., Yan D., 2003. Cd adsorption properties of components in different freshwater surface coatings: The important role of ferromanganese oxides. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 4106-4112.
- Dowling, C. B., Poreda R. J., Basu A. R., Peters S. L., Aggarwal P. K., 2002. Geochemical study of arsenic release mechanisms in the Bengal Basin groundwater. *Water Resour. Res.*, 38: 1173-1190.
- Duker A.A., Carranza E.J.M., Hale M., 2005. Arsenic geochemistry and health. *Environ. Int.*, 31: 631-641.
- Drahota P., Pertold Z., 2005. Weathering of As-rich rocks in the Celina-Mokrsko gold district, Bohemian massif. In: Öhlander B. (ed.) *Securing the Future 2005*. Volume I. International Conference on Mining and the Environment, Skellefteå, str. 242-251.
- Drahota P., Pačes T., Pertold Z., Mihaljevič M., Skřivan P., 2006. Weathering and erosion fluxes of arsenic in watershed mass budgets. *Sci. Total Environ.*, 372:306-316.
- Drahota P., 2008. *Geochemical model of arsenic at the Mokrsko gold deposit*. Disertační práce, Ústav geologie, mineralogie a nerostných surovin PřF UK, Praha, str. 10.
- Drahota P., Filippi M., 2009. Secondary arsenic minerals in the environment: A review. *Environ. Int.*, 35, 1243-1255.
- Drahota P., Rohovec J., Filippi M., Mihaljevič M., Rychlovský P., Červený V., Pertold Z., 2009. Mineralogical and geochemical controls of arsenic speciation and mobility under different redox conditions in soil, sediment and water at the Mokrsko-West gold deposit, Czech Republic. *Sci. Total Environ.*, 407: 3372-3384.

- Drahota P., Mihaljevič M., Grygar T., Rohovec J., Pertold Z., 2011. Seasonal variations of Zn, Cu, As and Mo in arsenic-rich stream at the Mokrsko gold deposit, Czech Republic. *Environ. Earth. Sci.*, 62: 429-441.
- Drysdale R., Lucas S., Carthew K., 2003. The influence of diurnal temperatures on the hydrochemistry of a tufa-depositing stream. *Hydrol. Process.*, 17: 3421-3441.
- Dzombak D.A., Morel F.M.M., 1990. *Surface complexation modeling: Hydrous ferric oxide*. Wiley-Interscience, New York, str. 393.
- Fein J.B., Martin A.M., Wightman P.G., 2001. Metal adsorption onto bacterial surfaces: Development of a predictive approach. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65: 4267-4273.
- Fendorf S., Michael H.A., van Geen A., 2010. Spatial and temporal variations of groundwater arsenic in south and southeast Asia. *Science*, 328: 1123.
- Filippi M., Doušová B., Machovič V., 2007. Mineralogical speciation of arsenic in soils above the Mokrsko-west gold deposit, Czech Republic. *Geoderma*, 139: 154-170.
- Francesconi K.A., Kuehnelt D., 2002. Arsenic compounds in the environment. In: Frankenberger W.T., Jr., Macy J.M. (eds.) *Environmental chemistry of arsenic*. Marcel Dekker, New York, str. 51-94.
- Frost R.R., Griffin R.A., 1977. Effect of pH on adsorption of copper zinc and cadmium from landfill leachate by clay minerals. *J. Environ. Sci. Health A.*, 12: 139-156.
- Fukushi K., Sasaki M., Sato T., Yanase N., Amano H., Ikeda H., 2003. A natural attenuation of arsenic in drainage from an abandoned arsenic mine dump. *Appl. Geochem.*, 18: 1267-1278.
- Fuller C.C., Davis J.A., 1989. Influence of coupling of sorption and photosynthetic processes on trace element cycles in natural waters. *Nature*, 340: 52-54.
- Fuller C.C., Davis J.A., Waychunas G.A., 1993. Surface chemistry of ferrihydrite: Part 2. Kinetics of arsenate adsorption and coprecipitation. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 57: 2271-2282.
- Gammons C.H., Nimick D.A., Parker S.R., Cleasby T.E., McCleskey R.B., 2005a. Diel behavior of iron and other heavy metals in a mountain stream with acidic to neutral pH: Fisher Creek, Montana, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 69: 2505-2516.
- Gammons C.H., Wood S.A., Nimick D.A., 2005b. Diel behavior of rare earth elements in a mountain stream with acidic to neutral pH. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 69: 3747-3758.
- Gammons C.H., Grant T.M., Nimick D.A., Parker S.R., DeGrandpre M.D., 2007. Diel changes in water chemistry in a arsenic-rich stream and treatment-pond system. *Sci. Total Environ.*, 384: 433-451.
- Gammons C.H., Nimick D.A., Parker S.R., Snyder, D.M., McCleskey R.B., Amils R., Poulson S.R., 2008. Photoreduction fuels biogeochemical cycling of iron in Spain's acid rivers. *Chem. Geol.*, 252: 202-213.
- Gettar R. T., Garavaglia R.N., Gautier E.A., Batistoni D.A., 2000. Determination of inorganic and organic anionic arsenic species in water by ion chromatography coupled to hydride generation–inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 884: 211–221.
- Ginn B., Fein J.B., 2008. The effect of species diversity on metal adsorption onto bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 72: 3939-3948.
- Ginn B., Fein J.B., 2009. Temperature dependence of Cd and Pb binding onto bacterial cells. *Chem. Geol.*, 259: 99-106.
- Goldberg K., 2002. Competitive adsorption of arsenate and arsenite on oxide and clay minerals. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 66: 413-421.

- Gray B.R., Hill W.R., Steward A.J., 2001. Effects of development time, biomass and ferromanganese oxides on nickel sorption by stream periphyton. *Environ. Pollut.*, 122: 61-71.
- Guillard R.R.L., Lorenzen C.J., 1972. Yellow-green algae with chlorophyllide *c*. *J. Phycol.*, 8: 10-14.
- Gulledge J. H., O'Conner J. T., 1973. Removal of arsenic (V) from water by adsorption on aluminum and ferric hydroxides. *Jour. AWWA*, 65: 548-552.
- Haack E.A., Warren L.A., 2003. Biofilm hydrous manganese oxyhydroxides and metal dynamics in acid rock drainage. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 4138-4147.
- Harvey C.F., Swartz C.H., Badruzzaman A. B. M., Keon-Blute N., Yu W., Ali M. A., Jay J., Beckie R., Niedan R., Brabander D., Oates D.M., Ashfaque K.N., Islam S., Hemond H.F., Ahmed M.F., 2002. Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh. *Science*, 298: 1602 – 1606.
- Hilal N., Al-Abri M., Al-Hinai H., 2007. Characterization and retention of UF membrane using PEG, HS and polyelectrolytes. *Desalination*, 206: 568-578.
- Hill W.R., Bednarek A.T., Larsen I.L., 2000. Cadmium sorption and toxicity in autotrophic biofilms. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 57: 530-537.
- Hingston F.J., Posner A.M., Quirk J.P., 1972. Anion adsorption by goethite and gibbsite I. The role of the proton in determining adsorption envelopes. *J. Soil Sci.*, 23: 177-192.
- Chen C.J., Chiou H.Y., Chiang M.H., Lin L.J., Tai T.Y., 1996. Dose-response relationship between ischemic heart disease mortality and long-term arsenic exposure. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 16: 504-510.
- Cheng J., Zhao W., Liu Y., Wu Ch., Liu C., Wang W., 2008. Adsorption properties and maseous mercury transformation rate of natural biofilm. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 81: 516-520.
- Chowdhury T.R., Basu G.K., Mandal B.K., Biswas B.K., Samanta G., Chowdhury U.K., Chanda C.R., Lodh D., Roy S.L., Saha K.C., Roy S., Kabir S., Quamruzzaman Q., Chakraborti D., 1999. Arsenic poisoning in the Ganges Delta. *Nature*, 401: 545-546.
- Chvátal M., 2005. *Úvod do systematické mineralogie*. Silikátový svaz, Praha, str. 69-70.
- ICDD, 2002. JCPDS PDF-2 database. Newton Square, PA, USA.
- Inskeep W.P., McDermott T.R., Fendorf S., 2002. Arsenic (V)/(III) cycling in soils and natural waters: chemical and microbiological processes. In: Frankenberger W.F., Jr., Macy J.M. (eds.) *Environmental chemistry of arsenic*. Marcel Dekker, New York, str. 183-215.
- Janatka J., Morávek P., 1990. Geochemical exploration in the Jílové belt: Case history of the Čelina deposit, Bohemian Massif, Czechoslovakia. *J. Geochem. Explor.*, 37: 367-384.
- Jarvie H.P., Neal C., Tappin A.D., Burton J.D., Hill L., Neal M., Harrow M., Hopkins R., Watts C., Wickham H., 2000. Riverine inputs of major ions and trace elements to the tidal reaches of the River Tweed, UK. *Sci. Total Environ.*, 251/252: 55-81.
- Ji G., Silver S., 1992b. Reduction of arsenate to arsenite by the ArsC protein of the arsenic resistance operon of *Staphylococcus aureus* plasmid pI258. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 7974-7978.
- Jílek V., 1985. *Mokrsko – geomedicínská studie. Závěrečná zpráva*. MS Geofond (GF P047689), Praha, str. 12-24.
- Jones C.A., Langner H.W., Anderson K., McDermott T.R., Inskeep W.P., 2000. Rates of microbially mediated arsenate reduction and solubilization. *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, 64: 600-608.

- Kaplan L.A., Bott T.L., 1982. Diel fluctuations of DOC generated by algae in a Piedmont stream. *Limnol. Oceanogr.*, 27: 1091-1100.
- Kimball B.A., Runkel R.L., 2009. Spatially detailed quantification of metal loading for decision making: Metal mass loading to American Fork and Mary Ellen Gulch, Utah. *Mine Water Environ.*, 28: 251-317.
- Klein T., Niessner R. Characterization of heavy-metal-containing seepage water colloids by flow FFF, ultrafiltration, ELISA and AAS. *Microchim. Acta*, 129: 47-55.
- Korte N.E., Fernando Q., 1991. *A review of As(III) in groundwater*. Critical Reviews in Environmental Control. CRC Press, Inc., str. 1-39.
- Kuserk F.T., Kaplan L.A., Bott T.L., 1984. In situ measures of dissolved organic carbon flux in a rural stream. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 964-973.
- Kuwabara J.S., Fuller Ch.C., 2003. *Toxic substances in surface waters and sediments – A study to assess the effects of arsenic-contaminated alluvial sediment in Whitewood Creek, South Dakota*. U.S. Geological Survey, Reston, Virginia.
- La Force M.J., Hansel C.M., Fendorf S., 2000. Arsenic speciation, seasonal transformations, and co-distribution with iron in a mine waste-influenced palustrine emergent wetland. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 3937-3943.
- Lambing J.H., Nimick D.A., Cleasby T.E., 1999. *Short-term variation of trace-element concentrations during base flow and rainfall runoff in small basins*. U.S. Geological Survey, str. 267-277.
- Langner H.W., Inskeep W.P., 2000. Kinetics of arsenate reduction in the presence of iron oxide solid phases. *Environ. Sci. Technol.*, 34:3131-3136.
- Loperfido J.V., Just C.L., Schnoor J.L., 2009. High-frequency diel dissolved oxygen stream data modeled for variable temperature and scale. *J. Environ. Eng.*, 135: 1250-1256.
- Lundquist J.D., Cayan D., 2002. Seasonal and spatial patterns in diurnal cycles in streamflow in the Western United States. *J. Hydrometeorol.*, 3: 591-603.
- Macur R.E., Wheeler J.T., Mcdermott T.R., 2001. Microbial populations associated with the reduction and enhanced mobilization of arsenic in mine tailings. *Environ. Sci. Technol.*, 35: 3676-3682.
- Macy J.M., Santini J.M., Pauling B.V., O'Neill A.H., Sly L.I., 2000. Two new arsenate/sulfate-reducing bacteria: mechanisms of arsenate reduction. *Arch. Microbiol.*, 173:49-57.
- Manning B.A., Goldberg S., 1996a. Modeling competitive adsorption of arsenate with phosphate and molybdate on oxide minerals. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60:121-131.
- Manning, B.A., and S. Goldberg. 1996b. Modeling arsenate competitive adsorption on kaolinite, montmorillonite, and illite. *Clays Clay Miner.*, 44:609-623.
- Manning B. A., Goldberg S., 1997. Adsorption and stability of arsenic (III) at the clay mineral-water interface. *Environ Sci Technol.*, 31: 2005-2011.
- Manny B.A., Wetzel R.G., 1973. Diurnal changes in dissolved organic and inorganic carbon and nitrogen in a hardwater stream. *Freshw. Biol.*, 3: 31-43.
- Masscheleyn P.H., Delaune R.D., Patrick W.H. Jr., 1991. Arsenic and selenium chemistry as affected by sediment redox potential and pH. *J. Environ. Qual.*, 20: 522-527
- McArthur J.M., Ravenscroft P., Safiulla S., Thirwall M.F., 2001. Arsenic in groundwater: Testing pollution mechanisms for sedimentary aquifers in Bangladesh. *Water Resour. Res.*, 37: 109-117.

- McKnight D.M., Kimball B.A., Runkel R.L., 2001. pH dependence of iron photoreduction in a rocky mountain stream affected by acid mine drainage. *Hydrol. Process.*, 15: 1979-1992.
- Meylan S., Behra R., Sigg L., 2004. Influence of metal speciation in natural freshwater on bioaccumulation of copper and zinc in periphyton: A microcosm study. *Environ. Sci. Technol.*, 38: 3104-3111.
- Miller W.H., Schipper H.M., Lee J.S., Singer J., Waxman S., 2002. Mechanisms of action of arsenic trioxide. *Cancer Res.*, 62: 3893-3903.
- Mishra B., Boyanov M.I., Bunker B.A., Kelly S.D., Kemner K.M., Nerenberg R., Read-Daily B.L., Fein J.B., 2009. An X-ray absorption spectroscopy study of Cd binding onto bacterial consortia. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 73: 4311-4325.
- Mohapatra D., Mishra D., Chaudhury D.R., Das D.R., 2007. Arsenic adsorption mechanism on clay minerals and its dependence on temperature. *Korean J. Chem. Eng.*, 24: 426-430.
- Morávek P., 1983. Mokrsko – nové ložisko zlatonosných rud ve středním Povltaví. *Geol. průzk.*, 25: 305-308.
- Morávek P., Janatka J., Pertoldová J., Straka E., Ďurišová J., Pudilová M., 1989. The Mokrsko gold deposit – the largest gold deposit in the Bohemian Massif, Czechoslovakia. *Econ. Geol. Mon.*, 6: 252-259.
- Morávek P., 1990. *Závěrečná zpráva a výpočet ložiska Mokrsko-západ*. MS Geofond (GF FZ006324), Praha.
- Morin G., Lecocq D., Juillot F., Calas G., Ildefonse P and eight authors, 2002., EXAFS evidence of sorbed arsenic(V) and pharmacosiderite in a soil overlying the Echassiers geothermal anomaly, Allier, France. *B. Soc. Geol. Fr.*, 173: 281-291.
- Morin G., Calas G., 2006. Arsenic in soils, mine tailings, and former industrial sites. *Elements*, 2: 97-101.
- Nagorski S.A., Moore J.J., McKinnon T.E., Smith D.B., 2003. Scale-dependent temporal variations in stream water geochemistry. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 859-864.
- National Research Council, 1999. *Arsenic in Drinking Water*. National Academy Press, Washington, DC, str. 83-130.
- Nelson Y.M., Lion L.W., Shuler M.L., Ghiorse W.C., 1999. Lead binding to metal oxides and organic phases of natural aquatic biofilms. *Limnol. Oceanog.*, 44: 1715-1729.
- Nimick D.A., 1998. Arsenic hydrogeochemistry in an irrigated river valley: A reevaluation. *Ground Water*, 36: 743-753.
- Nimick D.A., Moore J.N., Dalby C.E., Savka M.W., 1998. The fate of geothermal arsenic in the Madison and Missouri Rivers, Montana and Wyoming. *Water Resour. Res.*, 34: 3051-3067.
- Nimick D.A., Gammons C.H., Cleasby T.E., Madison J.P., Skaar D., Brick C.M., 2003. Diel cycles in dissolved metal concentrations in streams – occurrence and possible causes. *Water Resour. Res.*, 39: 1247-1264.
- Nimick D.A., Cleasby T.E., McCleskey R.B., 2005. Seasonality of diel cycles of dissolved trace metal concentrations in a Rocky Mountain stream. *Environ. Geol.*, 47: 603-614.
- Nimick D.A., Harper D.D., Farag, A.M., Cleasby T.E., MacConnell E., Skaar D., 2007. Influence of in-stream diel concentration cycles of dissolved trace metals on acute toxicity to one-year-old cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 26: 2667-2678.

- Nimick D.A., Gammons, C.H., Parker S.R., 2011. Diel biogeochemical processes and their effect on the aqueous chemistry of streams: A review. *Chem. Geol.*, 283: 3-17.
- Nordstrom D.K., 2002. Worldwide Occurrences of Arsenic in Ground Water. *Science*, 296: 2143-2145.
- Nriagu J.O., 2002. Arsenic poisoning through the ages. In: Frankenberger W.T., Jr., Macy J.M. (eds.) *Environmental Chemistry of Arsenic*. Marcel Dekker, New York, str. 1-26.
- Meylan S., Behra R., Sigg L., 2003. Accumulation of copper and zinc in periphyton in response to dynamic variations of metal speciation in freshwater. *Environ. Sci. Technol.*, 37: 5204-5212.
- O'Day P.A., 2006. Chemistry and mineralogy of arsenic. *Elements*, 2: 77-83.
- Oremland R.S., Stolz J.F., 2003. The ecology of arsenic. *Science*, 300: 939-944.
- Oremland R.S., Stolz J.F., 2005. Arsenic, microbes and contaminated aquifers. *Trends Microbiol.*, 13: 45-49.
- Oscarson D.W., Huang P. M., Liaw W.K., Hammer U.T., 1983. Kinetics of oxidation of arsenite by various manganese dioxides. *Soil Sci. Amer. J.*, 47: 644-648.
- Parker S.R., Gammons C.H., Pedrozo F.L., Wood S.A., 2008. Diel changes in metal concentrations in a geogenically acidic river: Rio Agrio, Argentina. *J. Volc. Geothermal Res.*, 178: 213-223.
- Pitter P., 1999. *Hydrochemie*. 3. přebír. vyd. VŠCHT, Praha, str. 568.
- Poole G.C., Berman C.H., 2001. An ecological perspective on in-stream temperature: Natural heat dynamics and mechanisms of human-caused thermal degradation. *Environ. Manage.*, 27: 787- 802.
- Raven K.P., Jain A., Loeppert R.H., 1998. Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite: Kinetics, equilibrium, and adsorption envelopes. *Environ. Sci. Technol.*, 32: 344-349.
- Roden E.E., Zachara J.M., 1996. Microbial reduction of crystalline iron (III) oxides: Influence of oxide surface area and potential for cell growth. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 1618-1828.
- Rosen B.P., 2002. Biochemistry of arsenic detoxification. *FEBS Lett.*, 529: 86-92.
- Sarmiento A.M., Oliviera V., Gómez-Ariza J.L., Nieto J.M., Sánchez-Rodas D., 2007. Diel cycles of arsenic speciation due to photooxidation in acid mine drainage from the Iberian Pyrite Belt (Sw Spain). *Chemosphere*, 66: 677-683.
- Sunderajan S., Udas A.C., Venkataramani B., 2007. Characterization of arsenic (V) and arsenic (III) in water samples using ammonium molybdate and estimation by graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *J. Hazard. Mater.*, 149: 238-242.
- Spencer R.G.M., Pellerin B.A., Bergamaschi B.A., Downing B.D., Kraus T.E.C., Smart D.R., Dahlgren R.A., Hernes P.J., 2007. Diurnal variability in riverine dissolved organic matter composition determined by in situ optical measurement in the San Joaquin River (California, USA). *Hydrol. Process.*, 21: 3181-3189.
- Sisr L., 2006. *Transformace arsenu v orníční vrstvě půdy v okolí obce Mokrsko po aplikaci fosfátových a organických hnojiv*. Disertační práce, Ústav geologie, mineralogie a nerostných surovin Pff UK, Praha, str. 21.
- Spiro B., Pentecost A., 1991. One day in the life of a stream—A diurnal inorganic carbon mass balance for a travertine-depositing stream (Waterfall Beck, Yorkshire). *Geomicrobiol. J.*, 9: 1- 11.
- Sposito G., 1984. *The surface chemistry of soils*. Oxford University Press, New York, str. 234.

- Stollenwerk K.G., 2003. *Geochemical processes controlling transport of arsenic in groundwater: A review of adsorption*. In: Wekch A.H., Stollenwerk K.G. (eds) *Arsenic in groundwater: Geochemistry and occurrence*, Kluwer Academic Publishers, Boston, str. 67-100.
- Stumm W., Morgan J.J., 1996. *Aquatic chemistry*. 3rd ed. Wiley Interscience, New York.
- Sullivan A.B., Drever J.I., McKnight D.M., 1998. Diel variation in element concentrations, Peru Creek, Summit County, Colorado. *J. Geochem. Explor.*, 64: 141-145.
- Sun X., Doner H.E., 1998. Adsorption and oxidation of arsenite on goethite. *Soil Sci.*, 163: 278-287 .
- Tercier-Waeber M.-L., Hezard T., Masson, M. Schäfer, J., 2009. In situ monitoring of the diurnal cycling of dynamic metal species in a stream under contrasting photobenthic biofilm activity and hydrological conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 43: 7237-7244.
- Trivedi P., Axe L., 2000. Modeling Cd and Zn sorption to hydrous metal oxides. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 2215-2223.
- Vesper D.J., Smilley M.J., 2010. Attenuation and diel cycling of coal-mine drainage constituents in a passive treatment wetland: A case study from Lambert Run, West Virginia, USA. *Appl. Geochem.*, 25: 795-808.
- Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody.
- W1: <http://www.epa.gov/bioindicators/html/periphyton.html>, 8.8.2011
- W2: http://www.bionewsonline.com/n/what_is_biofilm.htm, 8.8. 2011
- W3: <http://maps.google.cz/maps?hl=cs&tab=wl>, 15.7.2011
- Wang S., Mulligan C. N., 2006. Effect of natural organic matter on arsenic release from soils and sediments into groundwater. *Environ. Geochem. Health*, 28: 197–214.
- Whitton B.A., Gale N.L., Wixson B.G., 1981. Chemistry and plant ecology of zinc-rich wastes dominated by blue-green algae. *Hydrobiologia*, 83: 331-341.
- WHO, 2008. *Guidelines for Drinking-water Quality*. Third edition incorporating the first and second addenda. Volume I. World Health Organization, Geneva, str. 186.
- Williams M., 2001. Arsenic in mine wasters: an international study. *Environ. Geol.*, 40: 267-278.
- Wright J.C., Mills I.K., 1967. Productivity studies on the Madison River, Yellowstone National Park. *Limnol. Oceanog.*, 12: 568-577.
- Zhao Y.L., Schulin R., Weng L., Nowack B., 2007. Coupled mobilization of dissolved organic matter and metals (Cu and Zn) in soil columns. *Geochim.Cosmochim. Acta*, 71: 3407-3418.
- Ziegler S.E., Fogel M.L., 2003. Seasonal and diel relationships between the isotopic compositions of dissolved and particulate organic matter in freshwater ecosystems. *Biogeochemistry*, 64: 25-52.
- Zobrist J., Dowdle P.R., Davis J.A., Oremland R.S., 2000. Mobilization of arsenite by dissimilatory reduction of adsorbed arsenate. *Environ. Sci. Technol.*, 34: 4747-4753.