

## Metody odběru vzorků, terénní analytické metody

### Úvod:

Správné odebrání vzorků v terénu je prvním úkolem při analytice vod. Pro odběry vzorků jsou standardně používány různé druhy odběrových zařízení (tzv. odběráky, samplery), přesný typ se volí podle druhu lokality, hloubky odběru, objemu vzorku a také podle následně zamýšlené analytické metody. Specifická odběrová zařízení jsou používána pro vzorkování sedimentů a podzemní vody, pro jejich výběr platí podobná pravidla.

Nejjednodušší odebrání vzorků je hladinový odběr. Ten se může provádět, kromě prostého nabrání do nádoby, také za pomoci teleskopické tyče spojené s odběrovou nádobou. To hlavně v případě, že potřebujeme zvýšit dosah od břehu, nebo např. z ochozu aktivační nádrže čistírny odpadních vod. U stojatých vod (jezera, rybníky, studny, apod.) většinou potřebujeme odběrák schopný odebrat vzorek z větší hloubky. Hlubkový vzorek je také možno odebrat pomocí potápěčské techniky (odběrová nádoba musí v takovém případě odolávat stlačení v důsledku vyššího tlaku v hloubce). Nádoby potápěč zanesou do požadované hloubky zavřenou, otevřením ji naplní a opět zavře, tímto způsobem je možno odebrat i několik vzorků najednou, je ale nutné dávat pozor na kontaminaci vzorku zvržením sedimentu při pohybu potápěče. Nejčastěji používané odběráky pracují na principu dálkově ovladatelné „pasti“. Jedná se o nádoby, které se do hloubky spouštějí otevřené a po impulzu (trhnutí lankem, úder závaží, převrácení, apod.) se zavřou a vzorek je vytažen k hladině. Nejjednodušším zařízením tohoto typu je tzv. Hrbáčkova láhev, dnes je asi nejčastěji používán Friedingerův nebo Van Dornův odběrák (**Obr.1**). Tato zařízení jsou někdy používána také při vzorkování tekoucích vod (velké, hluboké řeky). Podle typu odběráku je možné analyzovat nejen fyzikálně chemické parametry vody, ale např. u Van Dorna také kvantitativně hodnotit planktonní společenstva.



**Obr.1:** Friedingerův (a) a Van Dornův (b) odběrák. Použití Friedingerova odběráku v terénu (c). (foto E. Tošenovský a P. Hekera)

Zařízení na odběr sedimentu, zahrnují široké spektrum přístrojů od nejjednodušších „drapaků“ (které doslova „vykousnou“ vzorek ze dna), přes různé složité jádrové sondy (ty umožňují i hloubkovou analýzu sedimentu), až po metody freeze-coringu (namrazení a následné vytržení sedimentu ze dna). Odběr intersticiální vody je většinou prováděn pomocí stálých sond (perforovaných trubek), které se natlučou do určené hloubky dna a následně je do nich buď umístěna automatická sonda s datalogerem pro kontinuální měření, nebo je vzorek pravidelně odebrán a analyzován. V hlubších vodách je opět možné využití potápěčů, vybavených speciálním odběrovým zařízením, pracujícím na principu podtlaku.

Ať použijeme jakoukoliv metodu a zařízení, musíme vždy pamatovat na reprezentativnost vzorkování. Vzorek vody odebraný k rozboru musí reprezentovat jakost vody v místě odběru. Typ vzorku (prostý či směsný), druh (jednorázový či řadový), místo (např. název obce, levý či pravý břeh vodního toku, GPS souřadnice) a bod odběru (např. střed proudnice, hloubka), včetně četnosti a časové i prostorové návaznosti odběru, se řídí účelem rozboru a místními podmínkami. Množství vzorku je dáno rozsahem požadovaného rozboru. Vzorkovací místa by měla být vybírána pokud možno náhodně, zároveň by měla být vyloučena místa zjevně problematická (poblíž přítoků do jezer, výpustí kanalizace u řek, apod.), pokud nás zrovna tato nezajímají. Vzorek by měl být vždy odebrán v několika opakováních (kvůli statistické významnosti minimálně ve třech), případně ve výsledku

odebrán jako směsný z několika dílčích vzorků. Pokud vzorkujeme větší vodní plochy, je dobré jednotlivé odběry provést na různých místech. Pro objektivní posouzení sledovaných parametrů a stanovení např. průměrných podmínek nádrží nebo toků je bezpodmínečně nutné také časové opakování (řadový vzorek). Většina sledovaných pozadřových parametrů povrchových vod (pH, teplota, TOC a mnoho dalších) vykazuje výrazné sezónní, ale i diurnální výkyvy. Proto by vzorkování mělo probíhat např. v přibližně stejnou denní dobu a minimálně čtyřikrát ročně (jaro, léto, podzim, zima) aby výsledné průměrné hodnoty mohly být považovány za reprezentativní (konečná frekvence odběrů závisí vždy na konkrétních podmínkách a tom co chceme zjistit).

Dalším důležitým okamžikem při odběru v terénu je uskladnění vzorku až do okamžiku konečné analýzy-rozboru. Je samozřejmostí, že uchovávací nádoby (stejně jako odběrové) musí být čisté a nesmí vzorek kontaminovat. V praxi je dobré nádobu vzorkem nejdřív několikrát vypláchnout, i když jsme přesvědčeni o její čistotě. Typ uchovávací nádoby opět musí odpovídat zamýšlené analýze (např. tmavá x světlá láhev, sklo x plast, odolnost při zamrazení, apod.). Pro většinu vzorků vyhovují polypropylenové vzorkovnice, velmi dobrý materiál je potravinářský plast z něhož se vyrábějí např. plastové lahve na mléko.

Při uskladňování vzorků dbáme především na teplotu (některé typy analýz jako analýza chlorofylu *a*, nebo TOC může vyžadovat hluboké zamrazení až na  $-70^{\circ}\text{C}$ ) a délku skladování. Vždy je dobré mít přímo při odběru vzorků k dispozici malou terénní chladničku pro dočasné uložení vzorků, která se případně dá i připojit do 12V zdířky automobilu, nebo alespoň izolační tašku, která krátkodobě zabrání přehřátí vzorků. U některých analýz je možná fixace (konzervace) vzorku podle standardizovaných postupů. Úkolem konzervace je zabránit změnám hodnot ukazatelů vody v odebraném vzorku v časovém intervalu mezi jeho odběrem a zahájením analýzy. V dnešní době konzervaci vzorku chápeme ale především jako chemický způsob úpravy odebraného vzorku, tedy přidání vhodné chemické látky. Způsob konzervace (tzn. úprava vzorku přísadkou cizí složky) (**Tab.č.1**) nezáleží jen na složce, která je konzervována, ale i na analytické metodě, kterou bude složka stanovována. Neexistuje obecně platný předpis pro konzervaci vzorků vody ve všech ukazatelích a je tedy nutné z hlediska jednotlivých ukazatelů (popř. skupin ukazatelů) vzorky konzervovat různými způsoby. V praxi je tedy nutné používat všech způsobů úpravy odebraného vzorku. Konzervovaný roztok je nutné analyzovat co nejdříve po odběru (**Tab.č.2**). Ukazatele vzorku vody, které nelze uchovat beze změny, je nutno stanovit ihned na místě odběru.

**Tab.č.1:** Způsob konzervace vzorku vody (Horáková et al. 1986)

Stanovovaná složka	Způsob konzervace
pH, formy $\text{CO}_2$ , konduktivita, veškeré rozpuštěné a nerozpuštěné látky, $\text{BSK}_5$ , ropné látky	nelze konzervovat
rozpuštěný kyslík, veškerý dusík	způsob konzervace je součástí analytického stanovení
fenoly, kyanidy	alkalizací vzorku tj. přísadkou $\text{NaOH}$ na $\text{pH} 11$ okyselením vzorku tj. na $\text{pH}$ vzorku se přidává:
stříbro, arzen, hliník, vápník, chrom, kadmium, měď, železo, hořčík, mangan, nikl, olovo, vanad, zinek	- 5ml koncentrované $\text{HNO}_3$
hliník, arzen, barium, vápník, hořčík, $\text{SO}_4^{2-}$	- 5 ml koncentrované $\text{HCl}$
$\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ , organický dusík, kadmium	- 1 ml koncentrované $\text{H}_2\text{SO}_4$
CHSK	- 2 ml koncentrované $\text{H}_2\text{SO}_4$
$\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{Cl}^-$ a $\text{SO}_4^{2-}$ , organický dusík, tenzidy	prísadkou 3ml $\text{CHCl}_3$ na $\text{pH}$ vzorku (pouze může-li dojít ke změně koncentrace složky mikrobiologickým rozkladem)
$\text{H}_2\text{S}$ , $\text{S}^{2-}$	do zvláštní vzorkovnice s přísadkou octanu zinečnatého nebo kademnatého

**Tab.č.2:** Doporučený časový interval mezi zahájením rozboru a odběrem vzorku u různých ukazatelů vody v nekonzervovaném vzorku (Horáková et al. 1986)

Stanovovaný ukazatel	Stanovení má být provedeno
teplota, pH, Cl <sub>2</sub>	ihned při odběru
chuť, pach, formy CO <sub>2</sub> ,	ihned, nebo zcela naplněnou vzorkovnicí chránit před teplem a stanovit v den odběru
barva, NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , organický dusík	ihned, nebo ochladit na teplotu 3°C – 4°C a stanovit v den odběru
konduktivita, PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , mangan, vápník, hořčík, křemík, zákal, fenoly, CHSK, veškerý dusík, veškeré rozpuštěné a nerozpuštěné látky	do 24 hodin po odběru
BSK <sub>5</sub>	do 24 hodin po odběru, ale vyloučit změny teploty během skladování
Cl <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	do 48 hodin po odběru (u vzorků vod u nichž nemůže dojít ke změnám koncentrací)
sodík, draslík, fluor	libovolně

Přímo v terénu můžeme měřit většinu parametrů kolorimetricky, pokud vlastníme přenosný kolorimetr a odpovídající sady reagensů. Kolorimetrie je poměrně nenáročná metoda, která je založená na využití standardizovaných kitů (reagensů), které podle obsahu sledovaného parametru způsobují specifické zabarvení vzorku. Ten je následně analyzován ve spektrofotometru (kolorimetru) při dané vlnové délce. Z naměřené absorbance je vypočítána koncentrace sledovaného parametru ve vzorku. Dnes je kolorimetrická analýza využívána především ve vodárenské praxi, kde je výhodou nenáročnost a rychlost stanovení. Přenosné kolorimetry jsou snadno použitelné i v terénních podmínkách. Ty kvalitnější navíc disponují větším množstvím kalibračních křivek a použitelných vlnových délek, takže při použití standardních kitů dokáží zastat funkci malé terénní laboratoře (**Obr.2**). Pomocí jednoho přístroje je tak možné stanovovat až desítky různých parametrů. Nevýhodou těchto metod je poněkud nižší přesnost měření (navíc často silně ovlivněná vnějšími podmínkami, především teplotou) a také vyšší cena spotřebních reagensů (jeden vzorek vychází podle typu analýzy přibližně na 20 – 100 Kč).



**Obr.2:** Kolorimetr DR 890 (fa. HACH LANGE) navržený pro použití v terénu, tento typ má v paměti standardně uloženo 90 metod stanovení (katalog fy. HACH LANGE 2009) [www.hach-lange.cz](http://www.hach-lange.cz)

DR 890 v praktickém  
textilním kufříku  
s popruhem přes rameno

Velmi jednoduše se v terénu stanovuje transparence (průhlednost) vody, metodou tzv. Secchiho disku. Secchiho disk (**Obr.3**) je většinou plastová deska dané velikosti, na které jsou kontrastně (černá-bílá) odlišeny čtyři sektory. Desku spouštíme ze člunu nebo plošiny do hloubky a sledujeme kdy dojde ke zmizení černobílých sektorů (kdy už nejsme schopni poznat rozdíl mezi černou a bílou). Vzdálenost si na spouštěcím lanku označíme a změříme. Daná vzdálenost v metrech nebo centimetrech je pak hodnotou transparence vody (pro uvedený průměr Secchiho disku). Celé měření je dobré několikrát zopakovat a také je důležité si uvědomit, že tento způsob měření je vysoce subjektivní (tzn. že by sérii porovnávaných měření měl provádět vždy jen jeden člověk).



**Obr.3:** Secchiho disk  
(foto E. Tošenovský)

S transparentí je silně korelovan zákal vody. Ten se kromě jednoduché „čtecí zkoušky“ (zjišťujeme přes jak velký sloupec vody je čitelné písmo), stanovuje také pomocí speciálních přístrojů, tzv. turbidimetrů, které se vyrábí jak v laboratorním, tak přenosném terénním provedení.

Rychlost proudění je parametr stanovovaný převážně v tekoucích vodách. Jeho stanovení je důležité nejen při hodnocení průtoků, ale také např. u posuzování mikrohabitátů pro zoobentos v rámci říčního systému. Rychlost proudu se uvádí v m/s a k jeho měření se používají tzv. flowmetry, pracující buď na principu otáčivé vrtulky, nebo ty modernější na základě elektromagnetického měření (**Obr.4**).



**Obr.4:** Přístroj na měření rychlosti proudu – flowmetr s elektromagnetickým čidlem (a). Čidlo musí být při měření ponořeno kolmo k proudnici (b).  
(foto E. Tošenovský a M. Černý)

Běžně se v terénní analytice stanovují fyzikálně-chemické parametry vody jako pH, konduktivita, oxidačně-redukční potenciál (zkráceně redox potenciál, nebo ORP), obsah kyslíku a teplota. Tato měření provádíme speciálními přístroji s připojenou sondou (s jednou nebo více elektrodami, senzory) na různě dlouhém kabelu, které většinou pracují na principu měření elektrochemického napětí na membráně. Protože většina měřených parametrů je závislá na teplotě, jsou přístroje často vybaveny buď přímo teplotním čidlem umožňujícím automatickou teplotní kompenzaci, nebo alespoň nabízejí možnost manuálního nastavení teplotní kompenzace (zde musíme před měřením zadat teplotu vody ručně). Pro terénní práci jsou určeny přístroje v přenosném kapesním, případně tužkovém provedení (tyto mají většinou také částečně vodotěsné provedení),



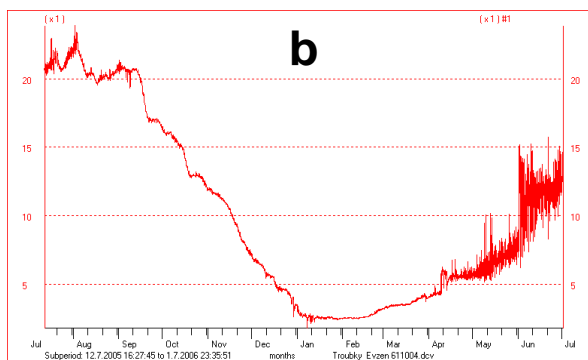
**Obr.5:** Terénní multimetr YSI ProPlus. Tento přístroj umožňuje různou kombinaci měřených parametrů (teplota, konduktivita, pH, ORP, rozpuštěný kyslík, amoniak, dusičnany, chloridy).  
(katalog fy. Flow-Group 2009)  
[www.flow-group.com](http://www.flow-group.com)

pro laboratorní účely jsou používány větší stolní a laboratorní přístroje. V případě dražších multimetrických přístrojů (umožňujících měření několika parametrů najednou) nám přístroj někdy zobrazuje i další parametry jako je salinita, rH, apod., které automaticky přepočítává z naměřených hodnot standardních parametrů (u salinity např. přepočtem ze zjištěných hodnot konduktivity). Některé lepší sondy také mohou být vybaveny barometrickým čidlem, zaznamenávajícím hloubku měření, nebo vlastní paměť kalibračních a naměřených hodnot. V poslední době se objevují přístroje schopné měřit i takové parametry jako je obsah dusičnanů, amoniaku nebo chloridů (**Obr.5**). Senzory (tzv. iontově specifické elektrody- ISE) pro tyto parametry jsou sice dražší (cca. 8 tis. Kč), ale možnost okamžitého změření zase výrazně snižuje časové i finanční náklady na analýzy. Velkou výhodou, kterou už dnes nabízí většina výrobců, je komunikace přístroje přes sériové nebo USB rozhraní s osobním počítačem. U



přístrojů vybavených pamětí máme díky tomu možnost „datalogingu“ naměřených hodnot a jejich následné stažení do počítače. Bez ohledu na typ přístroje nebo výrobce vyžadují všechny přístroje pro elektrochemická měření víceméně pravidelnou údržbu, především sond a elektrod (např. výměnu membrány a elektrolytu, zásobního roztoku KCl u pH elektrod, apod.). Přesnost měření je také (bez ohledu na marketingová prohlášení výrobců) více nebo méně závislá na vnějších podmínkách, především teplotě. Před samotným měřením je většinou vždy nutné provést kalibraci (jedno- nebo vícebodovou) přístroje pomocí standardních roztoků. Dnes nabízené přístroje firem jako je WTW, HANNA, Eutech, HACH, Greisinger, Gryf a další, se od sebe výrazně liší nejen cenou, ale i komfortem a přesností měření, odolností v terénu, provedením paměti, složitostí údržby, teplotní kompenzací, apod. Většinou platí, že dražší přístroje nabízejí přesnější měření a menší náklady na údržbu než přístroje levnější. Podle obecně dostupných referencí jsou za nejlepší (ale většinou také nejdražší) považovány elektrochemické měřicí přístroje firem WTW a HACH, naproti tomu přístroje Gryf a Greisinger, představují spíše ekonomické řešení. Asi nejlepším kompromisem mezi kvalitou a cenou jsou pak přístroje amerického výrobce HANNA. Při výběru je ale vždy rozhodující dobře zhodnotit to co od přístroje očekáváme, jaké bude jeho využití, jak budeme schopni zajistit údržbu a potom vlastní specifikace konkrétního typu bez ohledu na značku výrobce (ta je spíše obecným vodítkem a zárukou kvality).

Pokud nás zajímá kontinuální měření určitého parametru, bývá nejlepším řešením využití automatických „datalogerů“. Tyto přístroje jsou dnes k dostání v různých provedeních, včetně dlouhodobě vodotěsných a tlakuodolných sond, které vydrží i extrémní podmínky např. ledovcových jezer (**Obr.6a**). Většinou se jedná o různé velké přístroje uzavřené v pouzdrech, které mohou mít i vyvedený kabel, přes který se pohodlně připojí k počítači (bez nutnosti vytažení samotné sondy). Tyto sondy kontinuálně měří daný parametr automaticky podle předem nastaveného programu (ten se většinou zadává přes počítačový software na začátku sledování). Podle frekvence naplánovaných měření (která se může pohybovat v řádech sekund až týdnů), délky jednotlivých měření a okolních podmínek (především teploty) se výdrž baterií u většiny typů pohybuje od několika měsíců po dva až tři roky. V praxi to znamená, že můžeme dataloger naprogramovat a nechat na lokalitě třeba rok a potom jen stáhnout naměřená data, která nám příkládaný software většinou přímo převede do grafických výstupů. Tímto způsobem velmi elegantně získáme přesná data, která by jsme například přímým měřením přístroji nebyli schopni v této frekvenci zjistit (**Obr.6b**). Automatické datalogery se používají především pro měření teploty, pH, fotosynteticky aktivního záření (PHAR), a některých dalších parametrů, přičemž dražší přístroje umožňují měření i několika parametrů najednou. Cena přístrojů se podle výrobce a typu pohybuje v řádech několika tisíc až desítek tisíc Kč.



**Obr.6:** Automatické teplotní datalogery „MINIKIN“ (**a**). Ukázka výstupu z ročního měření teploty na nádrži Troubky (**b**).

## Definice parametrů

### Kyselost vody (pH)

pH vody je parametr, vyjadřující zastoupení  $H^+$  iontů (jedná se o záporný dekadický logaritmus koncentrace (přesněji aktivity) vodíkových iontů). V přírodních vodách je acidobazická rovnováha určena převážně formami kys. uhličitě ( $H_2CO_3$ ) (ve vodě v rozsahu pH 4,5-8,3 je zpravidla určitá koncentrace kys. uhličitě ( $H_2CO_3$ ) a hydrogenuhličitanů ( $HCO_3^-$ )). pH se udává na stupnici 0-14, přičemž u povrchových vod se pohybuje nejčastěji mezi 4-9. Hodnota pH se měří různými metodami počínaje jednoduchými způsoby pomocí indikátorových papírků a konče složitějšími elektrometrickými metodami. Zhruba je možno rozlišit dvě skupiny metod měření pH, kolorimetrické a elektrometrické. U kolorimetrických metod se pracuje s indikátory, které se různě barví při různém pH. Přesnost těchto metod je omezená, takže vyhovují pouze pro terénní měření. Elektrometrická metoda je založena na měření elektromotorické síly elektrochemického článku, který je tvořen vzorkem, skleněnou a srovnávací elektrodou. Tato metoda dosahuje hodnot směrodatné odchylky  $\Delta pH$  ve výši 0,05 popř. nižší. Má-li vzorek nízkou iontovou sílu, tj. jeho elektrická vodivost je menší než 5 mS/m, jsou zapotřebí zvláštní postupy a speciální analytické zařízení. V praxi se pH nejčastěji měří tzv. pHmetry, které fungují na principu potenciometrického měření se skleněnou měrnou elektrodou a kalomelovou, případně argentchloridovou referenční elektrodou. Podle typu mohou být vybaveny manuální nebo automatickou teplotní kompenzací. Elektrody u běžných pHmetrů vyžadují skladování v 3M KCl roztoku, případně nasucho pokud nejsou delší dobu používány (minimálně 24 hodin před měřením by ale měly být namočený do roztoku), při nehorším je možno krátkodobě použít i vodovodní vodu (nikdy ne destilovanou, došlo by k vymytí iontů zásobního elektrolytu a výraznému zkrácení životnosti elektrody!). Při dobré údržbě vydrží standardní pH elektrody cca. jeden rok (podle toho jak moc jsou používány), většina výrobců doporučuje výměnu elektrody každého půl roku, po této době může být problém přístroj zkaliťovat a měření může být nemožné. Některé elektrody jsou vyráběny jako plnitelné, zde údržba spočívá ve výměně elektrolytu. U lepších přístrojů můžeme provést před každým měřením zhodnocení stavu elektrody. U pHmetrů musíme před samotným měřením provést kalibraci (standardně dvoubodovou, u některých typů třibodovou) na standardní pufr (nejčastěji pH 4, 7, případně 10). PH elektrody jsou základní součástí sond většiny multimetrických přístrojů, zde se kalibrace provádí většinou jen na jeden roztok a je automatizovaná (přístroj automaticky rozpoznává kalibrační roztok a uživatel provede jen schválení po proběhlé kalibraci). Měření pH povrchových vod spadá pod normu Jakost vod - Stanovení pH (ČSN ISO 10523).

### Vodivost (Konduktivita)

Konduktivita je parametr určující jak dobře vede daný roztok (v našem případě voda) elektrický proud. Voda se stává vodivou vlivem přítomných rozpuštěných látek, jež jsou disociovány v ionty. Konduktivita se udává v jednotkách  $\mu S/cm^{-1}$  a u sladkých povrchových vod dosahuje hodnot od 10 po 1000 (u mořské vody a zasolených vod se pohybuje okolo desítek  $mS/cm^{-1}$ ). Vodivost měříme tzv. konduktometry jejichž elektrody se skládají z katody a anody mezi kterými dochází k měření. Elektrody u konduktometrů nevyžadují téměř žádnou údržbu (v podstatě stačí jen čas od času očistit elektrodu od případných usazenin hadříkem, případně slabým roztokem HCl) a skladujeme je nasucho. Také kalibrace je mnohem jednodušší než u pH, provádí se na standardní roztok o hodnotě 1275  $\mu S/cm^{-1}$  a většinou postačuje přístroj zkaliťovat jen občas (podle vlastních zkušeností zcela postačuje „předsezónní“ kalibrace). Důležité je dobře zvolit typ přístroje pro zamýšlené měření podle dosahovaných hodnot. S výjimkou dražších přístrojů je většina konduktometrů nastavená jen na určitý měřicí rozsah, tzn. že s přístrojem určeným na povrchové sladké vody, nebudeme schopni měřit například mořskou vodu a naopak. Například u jednoduchých tužkových konduktometrů HANNA série DiST nabízí výrobce hned čtyři typy pro použití ve vodách zasolených nebo znečištěných (DiST4), běžných povrchových (DiST3) a pro měření iontově chudých a destilovaných vod (PWT a UPW). Přístroje bývají opět vybaveny automatickou nebo manuální teplotní kompenzací. Vzhledem k tomu, že konduktivita vyjadřuje obsah solí a rozpuštěných látek ve vodě, můžeme ze zjištěných hodnot nejen přepočítat hodnotu salinity v mg/l (což bývá u multimetrických přístrojů prováděno automaticky), ale je pro nás i nejjednodušším prvním ukazatelem případného znečištění vod.

### Oxidačně-redukční potenciál (redox potenciál, nebo ORP)

ORP ve vodách vyjadřuje parametry vodního prostředí z hlediska oxidačních a redukčních procesů. Stanovuje se v jednotkách mV a přístroje určené pro měření ORP většinou umožňují jak zobrazení absolutního, tak relativního redox potenciálu. Redox potenciál se měří jako elektrické napětí inertní elektrody ponořené do roztoku systému proti srovnávací elektrodě se známým potenciálem. ORP ve vodách je důležitý především u sedimentů a intersticiální vody, kde ovlivňuje míru enzymatických a mikrobiálních procesů. Striktně aerobní mikroorganismy dokáží aktivovat jen při kladných hodnotách ORP (oxidační podmínky), naproti tomu striktně anaerobní vyžadují prostředí se zápornými hodnotami ORP (redukční podmínky). Redox potenciál také ovlivňuje rozpustnost nutrientů a především kovových iontů. Stanovení ORP je upraveno technickou normou TNV 75 7367.

### Rozpuštěný kyslík

Obsah rozpuštěného kyslíku je jedním z nejdůležitějších parametrů pro organismy povrchových vod. V terénu se kyslík měří pomocí oximetrů s různě dlouhou hloubkovou sondou. Tyto přístroje většinou umožňují zobrazení jak obsahu rozpuštěného kyslíku v mg/l, tak celkového nasycení v % (přepočítávaného pro zjištěnou teplotu). Vzhledem k tomu, že obsah kyslíku je silně závislý na teplotě a salinitě, jsou oximetry vybaveny i různě přesným teplotním čidlem se zobrazením teploty (což umožňuje jejich použití i jako hloubkového teploměru) a kompenzací salinity. Většina dražších přístrojů umožňuje ukládání hodnot do paměti, což je zvlášť výhodné při sledování stratifikace nádrží. Sondy oximetrů jsou většinou dodávány v robustním provedení pro použití v terénu a zvýšenou odolností například pro použití na čistírnách odpadních vod, rybích farmách, nebo v potravinářském průmyslu. Dnes nabízené oximetry většinou pracují na principu polarografického měření napětí na membráně naplněné elektrolytem. U některých přístrojů jsou nabízeny i galvanické sondy s kontinuální, rychlejší odezvou. Novinkou, která je zatím pouze v nabídce firmy HACH a některých dražších multimetrů, je systém optického měření obsahu kyslíku. Tímto způsobem je zjišťován tzv. luminiscenční rozpuštěný kyslík (LDO). Sondy LDO nemají membránu, ale dvě LED diody (červenou referenční a modrou excitační), které emitují světlo odrážené od molekul kyslíku a zaznamenávané měřicí fotodiódou (**Obr.7**). Čím víc  $O_2$  je přítomno ve vzorku, tím kratší je čas luminiscence červeného světla. Údržba polarografických a galvanických elektrod spočívá v pravidelné výměně membrány a elektrolytu (cca. jednou za půl roku), u optických sond toto odpadá a stačí výměna víčka sondy (doporučovaná jednou ročně). Kalibrace většiny nabízených oximetrů je prováděna jednobodově na vzduch, případně vícebodově na dodávané kalibrační roztoky. U kalibrace na vzduch je podmínkou vlhkostní nasycení vzduchu (minimálně 30%), čehož je v praxi dosahováno uložením sondy do krytky s navlhčenou

**Obr.7:** Princip optického měření rozpuštěného kyslíku (LDO). (převzato z Aplikáční zprávy fy. HACH LANGE)

vatu (v té je sonda i uchovávána, před měřením nesmíme zapomenout krytku sundat!). U optických sond není třeba kalibrovat před každým měřením (pouze při výměně víčka). Stanovení rozpuštěného kyslíku elektrochemickou metodou s membránovou sondou upravuje norma ČSN EN 25814.



**Obr.8:** Terénní elektrochemické měřicí přístroje.

Zleva doprava a shora dolů: **(a)** nejjednodušší tužkové provedení, konduktometr DiST3, pHmetr pHep+ a pHmetr Checker1 (fa. HANNA) ; **(b)** oximetr HI9147 „OxyCheck“ s galvanickou měřící sondou na 10m kabelu (fa. HANNA) ; **(c)** kombinovaný pHmetr/konduktometr/teploměr Gryf463 s terénní vodivostní elektrodou (fa. Gryf) ; **(d)** kombinovaný pHmetr/redox/teploměr GMH3530 s připojenou pH elektrodou a teplotním čidlem (uvedené přístroje jsou součástí vybavení kateder Zoologie a Ekologie a ochrany životního prostředí PřF UP Olomouc ; foto E. Tošenovský)

## Provedení:

Typický postup terénní práce si ukážeme na příkladu vzorkování hluboké, stratifikované nádrže (např. zatopený lom nebo pískovna):

**Potřeby :** gumový člun, olovnička, oximetr, Secchiho disk, pásmo, reflexní páska, hloubková, odběrová láhev (Friedingerův odběrák), vzorkovací láhve (1l), konduktometr, pHmetr, přístroj na měření redox potenciálu, GPS navigační přístroj, fixační epruvety (100 ml), pipeta, chloroform, konc. kyselina dusičná ( $\text{HNO}_3$ ), terénní chladnička na vzorky

**Postup :** Olovničkou ze člunu zafixovaného kotvou zjistíme požadované hloubky (2, 4 a 7m). Na kabelu sondy oximetru a lanku Friedingerova odběráku si páskou označíme jednotlivé hloubky. Provedeme měření teploty, obsahu kyslíku a nasycení kyslíkem v požadovaných hloubkách oximetrem (případně můžeme provést měření teplotní a kyslíkové stratifikace v celém vodním sloupci, cca. po půl metrech hloubky). Výsledky zaznamenáme.

Pomocí Secchiho disku provedeme měření průhlednosti vody. Disk spouštíme pomalu, kolmo do vodního sloupce a sledujeme, kdy již zrakem nebude patrný rozdíl mezi černými a bílými poli disku. V tom okamžiku si označíme vzdálenost na lanku disku reflexní páskou. Měření pro větší přesnost třikrát zopakujeme. Průhlednost pak určíme jako průměr těchto tří měření.

Odebereme vzorky vody ze tří požadovaných hloubek (2, 4 a 7m) hloubkovou, odběrovou lahví (Friedinger) a kohoutem je přelijeme do přepravních lahví. Z každé hloubky potřebujeme 3 l vody (tři litrové přepravní, vzorkovací láhve). Každý vzorek označíme hloubkou a lokalitou odběru.

Jednu láhev (1l) z každého vzorku z určené hloubky (2, 4 a 7m) použijeme pro okamžité stanovení vodivosti, redox potenciálu a pH. Hodnoty stanovíme standardními metodami pomocí uvedených přístrojů. **Pozn.** *pokud máme multimetrický přístroj s dostatečně dlouhou sondou, můžeme tyto parametry změřit přímo spolu s měřením kyslíku.*

Z druhé láhve připravíme do fixačních epruvet (100 ml) vzorky pro pozdější stanovení dusíku, fosfátů a kovů. Na stanovení dusíkatých látek a fosfátů budeme potřebovat 50 ml vzorku na každou analýzu. Vzorek fixujeme 0,3 ml chloroformu na 100 ml vzorku. Na stanovení kovů budeme potřebovat 100 ml vzorku, fixujeme 0,3 ml - 0,5 ml konc. kyseliny dusičné ( $\text{HNO}_3$ ). Epruvety popíšeme a uložíme do terénní chladničky. **Pozn.** *fixaci vzorků můžeme provést také v laboratoři okamžitě po návratu z terénu.*

Zbývající litrovou láhev vzorku použijeme po návratu z terénu pro okamžitou filtraci při stanovení TOC a Chla (viz. **Protokol II.**).

Zaznamenáme datum, čas, teplotu vzduchu, počasí během odběru a měření, lokalitu a přesné místo vzorkování (GPS, nebo slovně).



**Výsledek :** Výsledkem terénního měření a odběru vzorků jsou :

**Naměřené hodnoty teploty [°C], obsahu kyslíku [mg/l] a nasycení kyslíkem [%] v jednotlivých hloubkách (2, 4 a 7 m) a hodnota průhlednosti vody [cm].**

**Naměřené hodnoty konduktivity [ $\mu\text{S/cm}$ ], redox potenciálu [mV] a pH.**

**1 vzorkovací láhev (1 l) se vzorkem vody z každé hloubky (2, 4 a 7 m).**

**1 epruveta (50 ml) vzorku, fixovaného chloroformem, pro pozdější stanovení obsahu dusíkatých látek.**

**1 epruveta (50 ml) vzorku, fixovaného chloroformem, pro pozdější stanovení obsahu fosfátů.**

**1 epruveta (100 ml) vzorku, fixovaného konc. kyselinou dusičnou ( $\text{HNO}_3$ ), pro pozdější stanovení obsahu kovů.**

## **Vyhodnocení výsledků**

Při uvedeném postupu získáme naměřené hodnoty a vzorky připravené pro budoucí rozbory a analýzy. Pro terénní zápis naměřených dat je výhodné používat stále stejnou tabulku (terénní protokol) z níž data přepisujeme do základní databáze (samotné terénní protokoly je ovšem také dobré archivovat, třeba pro případ budoucí kontroly dat). Občas může být výhodné místo psaného záznamu využít např. diktafonu pro audio záznam získaných dat (hlavně v obtížnějších terénních podmínkách, při podhladinovém měření pomocí potápěčské techniky, apod.). Pokud vypočítáváme např. průměrné hodnoty z několika měření, měly by jednotlivá opakování být také zapsána v protokolu. Slovní vyjádření (počasí, místo odběru, apod.) by měla být sjednocená a předem kategoriálně uspořádaná (např. počasí může nabývat hodnot – jasno, polojasno, oblačno, zataženo, déšť), přičemž jednotlivým stavům můžeme přiřadit pro jednoduchost i číselné vyjádření (jasno=1, polojasno=2, oblačno=3, apod.). V protokolu mohou být uvedeny i kolonky parametrů, které se doplňují později podle laboratorních výsledků analýz.

V praxi neexistuje jednotný systém záznamu dat, prakticky každé pracoviště používá vlastní tabulky a databáze. Jako příklad uvádíme terénní protokol o měření, který je používán na Katedře zoologie PřF UP Olomouc.

<b>LOKALITA</b>	
Datum	
Počasi	
Teplota vzduchu	
Teplota vody	
Průhlednost	

		<b>2 m</b>	<b>4 m</b>	<b>7 m</b>
Vodivost ( $\mu\text{S}$ )				
pH				
Redox potenciál				
$\text{NH}_4^+$ ( ABS )				
$\text{NO}_3^-$ ( mg/l )				
$\text{PO}_4^{3-}$ ( mg/l )				
TOC	> 2,7 $\mu\text{m}$			
	0,45–2,7 $\mu\text{m}$			
DOC	< 0,45 $\mu\text{m}$			
Chl a 2,7 $\mu\text{m}$				
Chl a 0,45 $\mu\text{m}$				
Na				
K				
Ca				
Mg				
Fe				
Sr				

Hloubka ( m )	Teplota ( °C )	Kyslík O <sub>2</sub> ( mg / l )	Nasycení ( % )
0			
0,5			
1			
1,5			
2			
2,5			
3			
3,5			
4			
4,5			
5			
5,5			
6			
6,5			
7			
7,5			
8			
8,5			
9			
9,5			
10			

Poznámky:

## Použitá a doporučená literatura:

- Produktový list HACH LANGE „Digitální elektrochemie“, 2009
- Katalogy a informativní zprávy výrobců HACH LANGE, Greissinger, HANNA, Flow-Group
- T. R. E. Southwood & P. A. Henderson (1999): Ecological Methods
- P. A. Henderson (2006): Practical Methods in Ecology
- Horáková M., Lischke P. & Grünwald A. (1986): Chemické a fyzikální metody analýzy vod
- Kalavská D. & Holoubek I. (1989): Analýza vod
- Návod k použití uváděných přístrojů
- [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-006/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/) (Encyklopedie hydrobiologie)
- <http://cs.wikipedia.org/>
- <http://dipin.kent.edu/chlorophyll.htm>

Tento studijní materiál byl vytvořen díky finanční podpoře projektu **FRVŠ/G4/1506/2009** „*Aplikace analytických metod do výuky hydrobiologie*“.