

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**



Bakalářská práce

**Sloučeniny síry v acidifikovaných půdách povodí šumavských jezer.**

*Anna Chytková*

Vedoucí práce: RNDr. Jiří Kaňa, Ph.D.

České Budějovice, duben 2012

Chytková A., (2012). Sloučeniny síry v acidifikovaných půdách povodí šumavských jezer.

**[Sulfur compounds in acidified soils of the watershed of the Bohemian Forest's lakes. Bc. Thesis, in Czech.] 27 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.**

**Anotace:**

Tato práce představuje návrh projektu studia transformace síranů a rozsahu jejich uvolňování z acidifikovaných půd povodí Plešného a Čertova jezera.

**Annotation:**

This Bachelor Thesis represents a project proposal focused on studying of sulfate transformation in soils and the size of sulfate release in the acidified watershed of Plesne and Certovo lakes.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 25. dubna 2012

.....  
Anna Chytková

**Abstrakt:**

Během acidifikačního období se v půdách povodí šumavských jezer uložilo významné množství síranů. Sínaný jsou z půd postupně uvolňovány a zotavování povodí z acidifikace zaostává za poklesem emisí. Bylo zjištěno, že síranová síra ( $\text{SO}_4\text{-S}$ ) v půdách šumavských jezer tvoří pouze 3.4% celkového zásobníku síry, což nevysvětluje relativně velké vyluhování síranů posledních let. Tento nepoměr může být vysvětlen tím, že zásobník  $\text{SO}_4\text{-S}$  je doplňován z půdních procesů zásobníku organické síry. Významné procento síranů může být vedle adsorpce půdními koloidy zadržováno prostřednictvím organického cyklu síry, skrze imobilizaci půdními mikroorganismy. Mikrobiální imobilizace pravděpodobně nepředstavuje dlouhodobý zásobník síry, přesto je ale studium mikrobiální transformace síry významné pro pochopení mechanismu retence síranů v povodí šumavských jezer. Projekt navrhuje v povodí Plešného a Čertova jezera stanovit současné síranové sorpční vlastnosti půd a míru adsorpce a mikrobiální imobilizace síranů v půdách metodou radioizotopového značení tracerem  $^{35}\text{S}$ .

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce RNDr. Jiřímu Kaňovi, Ph.D., za odbornou pomoc, trpělivost a ochotu. Také děkuji své rodině a přátelům za dlouhodobou podporu.

# Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Literární rešerše.....</b>	<b>2</b>
2.1. Acidifikace.....	2
2.1.1. Acidifikace půd.....	4
2.2. Situace na Šumavě.....	4
2.2.1. Povodí šumavských ledovcových jezer.....	5
2.3. Síra v životním prostředí.....	7
2.3.1. Sloučeniny síry v půdách.....	8
2.4. Retence síranů v půdách.....	9
2.4.1. Adsorpce a desorpce síranů.....	9
2.4.2. Mikrobiální přeměny síranů.....	10
2.5. Stanovení síry v půdách.....	13
2.5.1. Analytické metody stanovení síry.....	13
2.5.2. Izotopy síry a izotopové metody pro sledování přeměn forem síry.....	14
2.6. Shrnutí rešerše (v kontextu s navrhovaným projektem).....	16
<b>3. Projekt.....</b>	<b>18</b>
3.1. Cíle projektu.....	18
3.2. Hypotézy.....	18
3.3. Návrh projektu.....	18
3.3.1. Podpůrná data využitelná v rámci projektu.....	18
3.3.2. Odběr vzorků.....	19
3.3.3. Laboratorní analýzy.....	20
3.3.4. Časový plán projektu.....	22
3.3.5. Finanční náklady.....	22
3.3.6. Očekávané výstupy projektu.....	23
<b>4. Literatura.....</b>	<b>24</b>

# 1. Úvod

V minulém století byla povodí šumavských jezer vystavena kyselým atmosférickým depozicím, které způsobily acidifikaci půd, vod a řadu dalších ekologických změn (Kopáček & Veselý, 2005). I přes výrazný pokles kyselých depozic se povodí jezer nezačala z acidifikace okamžitě zotavovat. Během acidifikačního období se v půdách povodí uložilo významné množství síranů, které jsou nyní postupně uvolňovány. To je jedním z důvodů, proč rychlost zotavování ekosystému zaostává za rychlostí poklesu emisí (Kopáček et al., 2001).

Retence síranů v půdách byla tradičně považována za proces, který se děje prostřednictvím adsorpce síranů (Johnson, 1984; Johnson et al., 1979). Některé studie naznačují, že významnou složkou retence síranů je také mikrobiální imobilizace (Alewell, 2001; Strickland & Fitzgerald 1984; Novák et al., 2000; Novák et al., 2005; Swank et al., 1984). Houle et al. (2001) se naopak domnívají, že prostřednictvím organického cyklu k dlouhodobé akumulaci síry nedochází. Je však zjevné, že se sírany pocházející z antropogenních zdrojů stávají součástí organického cyklu zásobníku síry (Alewell, 2001; Houle et al., 2001; Fuller et al., 1985; Strickland et al. 1987; Strickland & Fitzgerald 1984; Novák et al., 2000; Novák et al., 2005; Swank et al., 1984, Watwood & Fitzgerald, 1988).

Cílem této bakalářské práce proto je shromáždění informací o této problematice a návrh projektu, který umožní posoudit mikrobiální transformace síry a rozsah uvolňování síranů v půdách povodí šumavských jezer.

## 2. Literární rešerše

### 2.1. Acidifikace

Acidifikace je proces, při kterém dochází k okyselování životního prostředí zvýšením koncentrace vodíkových iontů ( $H^+$ ) v prostředí (Brady & Weil, 2002). Je to přírodní proces, ale díky okyselujícím sloučeninám z antropogenních zdrojů se významně urychluje (Hruška & Kopáček, 2005). Těmito okyselujícími sloučeninami jsou zejména oxid siřičitý ( $SO_2$ ), oxidy dusíku ( $NO_x$ ) a amoniak ( $NH_3$ ) (Brady & Weil, 2002). Chemickými a fotochemickými reakcemi z oxidů síry a oxidů dusíku v atmosféře vznikají kyseliny - kyselina sírová ( $H_2SO_4$ ) a kyselina dusičná ( $HNO_3$ ). V reakci těchto kyselin s amoniakem vznikají soli - síran amonný ( $(NH_4)_2SO_4$ ) a dusičnan amonný ( $NH_4 NO_3$ ) (Hruška & Kopáček, 2005).

#### Kyselé depozice

Termín kyselé depozice označuje všechny způsoby, kterými jsou okyselující sloučeniny transportovány z atmosféry na zemský povrch (Prechtel et al., 2001). Rozlišujeme mokrou a suchou depozici. Depozice, které se dostávají na zemský povrch prostřednictvím srážek, nazýváme mokré depozice. Depozice, které se dostávají na zemský povrch prostřednictvím plynů a aerosolů, nazýváme suché depozice. Depozice se mohou zachytit na povrchu vegetace a být poté deštěm vymyty do půdy, pak mluvíme o tzv. podkorunové depozici. Podíl suché depozice vzhledem k celkové depozici je vyšší v zalesněných územích (Novák et al., 2000). Okyselující sloučeniny mohou být v atmosféře transportovány na velké vzdálenosti (Hruška & Kopáček, 2005). Nejvyšší spád suchých depozic bývá v blízkosti emisních zdrojů, s rostoucí vzdáleností se zvyšuje podíl mokré depozice. Úroveň kyselého spadu se snižuje se vzdáleností od emisních zdrojů (Kopáček & Veselý, 2005).

#### Zdroje $SO_2$ , $NO_x$ a $NH_3$

Přírodním zdrojem  $SO_2$  je sopečná činnost a oxidace sulfanu ( $H_2S$ ), který vzniká při mikrobiálním rozkladu organické hmoty v půdách a sedimentech. Největšími antropogenními zdroji  $SO_2$  jsou spalování fosilních paliv a průmyslová výroba zpracovávající síru a siřné rudy (Hruška & Kopáček, 2005).

Přírodním zdrojem  $NO_x$  jsou mikrobiální pochody v půdách, lesní požáry a elektrické výboje v atmosféře. Největším antropogenním zdrojem  $NO_x$  jsou spalovací procesy, při nich dochází k oxidaci vzdušného dusíku při vysokých teplotách (Hruška & Kopáček, 2005).

Hlavním přírodním zdrojem  $\text{NH}_3$  v atmosféře jsou procesy rozkladu organických dusíkatých látek. Většina antropogenních emisí pochází ze zemědělské činnosti, především z chovu skotu. Dalšími antropogenními zdroji  $\text{NH}_3$  jsou hnojení půd dusíkatými hnojivami, odpadními vodami a kaly, dále průmyslová výroba  $\text{NH}_3$ , spalování biomasy a fosilních paliv (Brady & Weil, 2002).

### Emise $\text{SO}_2$ , $\text{NO}_x$ a $\text{NH}_3$

Na území dřívějšího Československa byly v roce 1850 (před průmyslovou revolucí) antropogenní emise  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_x$  a  $\text{NH}_3$  menší než 10, 5 a 33  $\text{mmol m}^{-2} \text{r}^{-1}$ . Do roku 1950 se zvolna zvyšovaly, mezi lety 1950-1980 dosáhly nejvyšších hodnot - 380, 180 a 80  $\text{mmol m}^{-2} \text{r}^{-1}$ . Díky politickým a ekonomickým změnám v 90. letech emise  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_x$  a  $\text{NH}_3$  výrazně poklesly, v roce 2000 byly o 87%, 51% a 44% nižší než v roce 1985. Tyto změny zahrnovaly restrukturalizaci průmyslu a zemědělství, kontrolu emisí síry, změnu používaných paliv a optimalizaci spalovacích procesů stacionárních zdrojů  $\text{NO}_x$  (Kopáček & Veselý, 2005).

### Ochrana ovzduší

Nástrojem pro snižování kyselých depozic jsou některé legislativní předpisy. Základním právním předpisem o ochraně ovzduší je zákon č. 86/2002 Sb., o ochraně ovzduší. Ten je doplněn řadou prováděcích předpisů ve formě nařízení vlády nebo vyhlášek MŽP. Řada povinností v oblasti ochrany ovzduší má základ v předpisech Evropské unie, zejména ve směrnici. Nejdůležitější je rámcová směrnice č. 96/62/EC o hodnocení a řízení kvality ovzduší. Dalším důležitým předpisem je směrnice o národních emisních stropcích č. 2001/81/ES (odkaz 1).

V roce 1979 byla sjednána Úmluva o dálkovém znečišťování ovzduší přesahujícím hranice států. Smluvní omezování znečišťování ovzduší je realizováno prostřednictvím protokolů. Dosud bylo přijato 8 protokolů. Česká republika je smluvní stranou všech osmi protokolů k úmluvě. Emisí síry se přímo týkají tři protokoly. V roce 1987 vstoupil v platnost 1. protokol o síře, který ustanovil cíl snížit emise síry nejméně o 30 %. V roce 1998 byl v Aarhusu přijat 2. protokol o síře, který dále rozvíjí nástroje na redukci emisí síry. V roce 1999 byl přijat Protokol pro omezení acidifikace, eutrofizace a tvorby přízemního ozonu, tzv. Göteborgský protokol. Göteborgský protokol stanovuje emisní stropy pro rok 2010 pro polutanty síru,  $\text{NO}_x$ , těkavé organické látky a  $\text{NH}_3$  (odkaz 2).

### **2.1.1. Acidifikace půd**

#### Přírozená acidifikace půd

K přírozené acidifikaci půd dochází v důsledku akumulace organické hmoty. Organická hmota vytváří komplexy s bazickými kationty, čímž usnadňuje jejich vyplavování. Navíc obsahuje řadu kyselých funkčních skupin, které jsou zdrojem vodíkových iontů (Brady & Weil, 2002). Acidifikaci půd dále způsobují vodíkové ionty anorganických a organických kyselin. Příkladem anorganické kyseliny je kyselina uhličitá, která vzniká rozpouštěním oxidu uhličitého z půdního vzduchu v půdní vodě. Organické kyseliny vznikají skrze metabolismus mikroorganismů. Vodíkové ionty se do půdního prostředí uvolňují také při oxidačních reakcích. Například při oxidaci síry a oxidaci redukovaných minerálů (např. pyritu). K oxidaci síry běžně dochází při dekompozici rostlin, kdy jsou organické skupiny (-SH) přeměňovány na kyselinu sírovou. Dále jsou zdrojem vodíkových iontů kyseliny ve srážkách vzniklé z přirozeně se vyskytujících plynů. Posledním příkladem přirozeného zdroje vodíkových iontů jsou rostliny, které mohou při přijímání kationtů kořeny vyrovnávat povrchový náboj uvolňováním vodíkových iontů (Brady & Weil, 2002).

#### Antropogenní acidifikace půd

Antropogenní acidifikace půd je způsobována především kyselými depozicemi a hnojením chemickými dusíkatými hnojivy, kaly a hnojem. Hnojiva na bázi  $\text{NH}_3$ , například síranu amonného, jsou oxidována mikroorganismy za vzniku silných anorganických kyselin. Dále splaškové kaly a hnůj mohou způsobit pokles pH v půdách oxidací dusíku a díky anorganickým kyselinám, které vznikají při dekompozici (Brady & Weil, 2002).

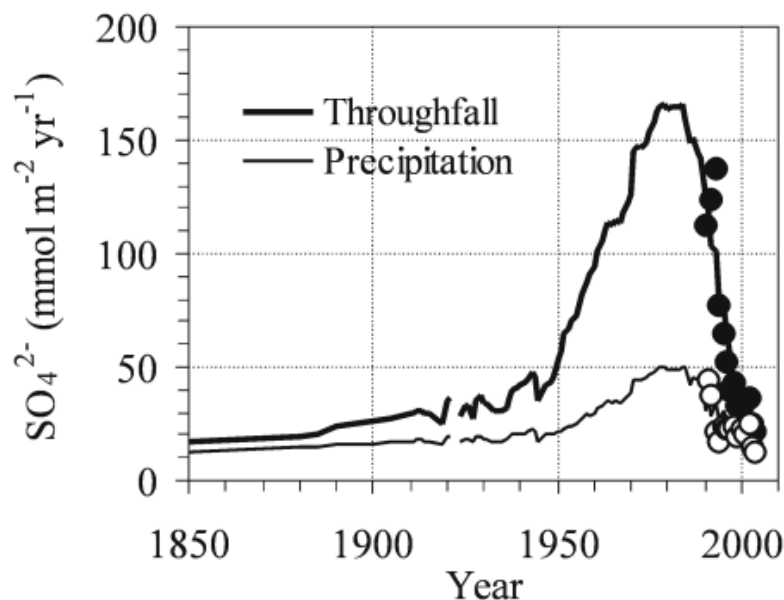
V důsledku acidifikace půd dochází k mobilizaci iontového hliníku ( $\text{Al}^{3+}$ ), protonů ( $\text{H}^+$ ), železa a manganu (Prechtel et al., 2001).  $\text{H}^+$  a  $\text{Al}^{3+}$  z půdního roztoku nahrazují bazické kationty vázané na půdních koloidech (Driscoll et al., 2003). Uvolněné bazické kationty mohou být spolu s doprovodnými anionty kyselých depozic vyluhovány. V důsledku uvolnění bazických kationtů dochází k vyčerpání zásobníků vápníku, hořčíku, draslíku a sodíku. Obnova zásoby bazických kationtů a zvýšení bazické saturace v půdách je velmi pomalý proces (Driscoll et al., 2003).

## **2.2. Situace na Šumavě**

Kyselá depozice v minulém století acidifikovaly prakticky všechny horské oblasti České republiky (Hruška & Majer, 1996). Šumava se zařadila mezi nejvíce acidifikované jezerní oblasti na světě (Kopáček & Vrba, 2006). Na okyselení se významně podílely



sloučeniny síry (Kopáček & Veselý, 2005). Historický trend depozic  $\text{SO}_4^{2-}$  na Šumavě je zobrazen na Obr. 1.



**Obr. 1:** Historické trendy depozic  $\text{SO}_4^{2-}$  na Šumavě. Rekonstrukce (linky) byla založena na emisních trendech Střední Evropy a depozice  $\text{SO}_4^{2-}$  (body) byly měřeny na území Černého a Čertova jezera (Kopáček & Vrba, 2006).

### 2.2.1. Povodí šumavských ledovcových jezer

Před asi 10 tisíci lety se nacházelo na svazích pohoří Šumavy několik ledovců. Po jejich odtátí se ledovcové kary zaplnily vodou a vznikla jezera. Na Šumavě je celkem osm ledovcových jezer. Na území České republiky leží jezera Černé, Čertovo, Plešné, Prášilské a Laka. Jsou to jediná jezera ledovcového původu v České republice. Na území Spolkové republiky Německo leží jezera Roklanské, Velké Javorské a Malé Javorské (Vrba et al., 2000).

Jezera se nacházejí ve vrcholových partiích Šumavy v nadmořské výšce kolem 1000 m n.m. Podloží povodí je tvořeno metamorfovanými a krystalickými horninami (svory, granity, křemenci, rulami) (Kopáček a Vrba, 2006). Povodí jsou svazitá, pokrývají je tenká kyselá litozem, podzoly a kambisoly (Kopáček et al., 2002a). Na většině území roste vegetace, především smrkové lesy (Kopáček a Vrba, 2006).

Šumavská jezera a jejich povodí mohla acidifikaci odolávat jen omezeně. Citlivá ke kyselé depozici jsou díky své extrémní klimatické poloze, kyselému podloží, malé moci pŕůd v povodích a smrkovým monokulturám (Hruška & Majer, 1996). Jezera navíc leží blízko

významných evropských emisních center (Vrba et al., 2000) a velmi je zasáhl dálkový transport polutantů (Kopáček et al., 2001).

Vědecká pozornost je věnována šumavským jezerům už desítky let, ale systematický ekologický výzkum celého ekosystému povodí-jezero začal až v roce 1990. Pro podrobné studium byla vybrána jezera Plešné (PL), Čertovo (CT) a Černé (CN).

#### Povodí Plešného jezera

Plešné jezero leží v nadmořské výšce 1090 m n.m. Povodí se rozkládá na ploše 67 ha. Na většině území roste smrkový les. Povodí jezera má žulové podloží a je pokryto ~0,2 m hlubokou litozemí (38%), ~0,45 m hlubokými podzoly (29%) nebo rezivou půdou (spododystrickými kambisoly) (27%). Zbytek povodí zaujímají holé skály (5%) a mokřady (~1%). Půdy jsou písčité (obsah písku je ~75%) s nízkým obsahem jílu (~2%).

#### Povodí Čertova jezera

Čertovo jezero leží v nadmořské výšce 1030 m n.m. Povodí se rozkládá na ploše 87,5 ha. Na většině území roste smrkový les. Podloží je tvořeno převážně biotiticko - muskovitickými svory. Dominantními půdními typy jsou ~0,5 m hluboké rezivé půdy (58%), podzoly (21%) a ~0,2 m hluboká litozemě (17%). Zbytek povodí zaujímají mokřady (~3%) a holé skály (1%). Půdy jsou písčité (obsah písku je 48%) s nízkým obsahem jílu (1%).

#### Povodí Černého jezera

Černé jezero leží v nadmořské výšce 1008 m n.m. Povodí se rozkládá na ploše 129 ha. Na většině území roste smrkový les, řídce rostou buky. Podloží je tvořeno převážně biotiticko - muskovitickými svory. Dominantními půdními typy jsou rezivé půdy a podzoly. Půdy jsou písčité (obsah písku je 81%) s nízkým obsahem jílu (4%). Je považováno za nejvíce acidifikované šumavské jezero (Kopáček a Vrba, 2006).

#### Půdy povodí šumavských jezer

Půdy povodí jezer mají relativně nízkou síranovou sorpční kapacitu. Je to proto, že ledovcové kary mají extrémně malou mocnost půd a jejich podloží je kyselé. Schopnost zadržovat sírany, retenční schopnost půd, byla v průběhu acidifikačního období překročena. (Hruška & Majer, 1996). Kaňa & Kopáček (2005) zkoumali síranové ( $\text{SO}_4\text{-S}$ ) sorpční vlastnosti půd v povodí PL, CT a CN jezera. Zjistili, že desorpce  $\text{SO}_4\text{-S}$  je vyšší v horizontu A než v nižších horizontech. Sorpční maxima  $\text{SO}_4\text{-S}$  v půdách povodí se pohybovala mezi 1.5–11.7  $\text{mmol kg}^{-1}$ , nejvyšší sorpce byla v horizontu A a nejnižší v horizontu E.

Bylo zjištěno, že  $\text{SO}_4\text{-S}$  v půdách těchto jezer tvoří pouze 3.4% celkového obsahu síry, což nevysvětluje relativně velké vyluhování síranů posledních let. Tento nepoměr může být vysvětlen tím, že zásobník  $\text{SO}_4\text{-S}$  je doplňován z půdních procesů zásobníku organické síry (Kaňa & Kopáček, 2005). Významnou složkou retence síranů by proto vedle adsorpce síranů mohla být mikrobiální imobilizace (Alewell, 2001; Strickland & Fitzgerald 1984; Novák et al., 2000; Novák et al., 2005; Swank et al., 1984).

V důsledku acidifikace došlo také ke snížení bazické saturace půd (Kopáček et al., 2001). Saturace bází je v současné době významně nižší v porovnání s modelovanými předacidifikačními hodnotami (Majer et al., 2003). Ve větší míře se rozpouštěl hliník a stopové prvky (Kopáček et al., 2001).

### Vody šumavských jezer

V jezerech se úměrně se zvyšováním koncentrace síranů zvyšovalo množství bazických kationtů a  $\text{Al}^{3+}$  vyluhovaných z půd (Hruška et al., 2009). Před acidifikačním obdobím měla jezera téměř neutrální pH. Například v Černém jezeře bylo v roce 1936 naměřeno pH 6,3–7,0 (měřeného při hladině). V průběhu acidifikačního období pH v Čertově jezeře kleslo až k hodnotě 4,2–4,5 (měřeného při hladině). Okyselení vod vyhubilo ryby a velmi snížilo diverzitu a početnost organismů bentosu a zooplanktonu (Hruška & Kopáček, 2005). Změnila se barva jezer, v důsledku okyselení a z něho vyplývající ztráty organických látek se jezera stala průhledná a čistá (Vrba et al., 2000). Jezera mají v současnosti vyčerpaný uhličitanový pufrací systém nebo je jejich kyselinová neutralizační kapacita nízká (Kopáček et al., 2002b).

## **2.3. Síra v životním prostředí**

Síra je nekovový chemický prvek, hojně zastoupený v přírodě. Je esenciální pro všechny formy života (Brady & Weil, 2002). Nachází se v aminokyselinách methioninu, cysteinu a cystinu, vitamínech biotinu, thiaminu a B1 a mnoha dalších biomolekulách (Stevenson & Cole, 1999).

Síra se v přírodě vyskytuje nejčastěji ve formě sloučenin. Ve sloučeninách existuje nejméně v pěti oxidačních stupních (-2 až +6). Síra je proto velmi reaktivní, účastní se mnoha oxidačně – redukčních procesů a podstupuje mnoho chemických reakcí a biologických přeměn (Stevenson & Cole, 1999).

Hlavními zásobníky síry jsou litosféra ( $24,3 \times 10^{18}$  kg) a hydrosféra ( $1,3 \times 10^{18}$  kg). Značné množství síry se nachází také v půdách ( $2,6 \times 10^{14}$  kg). Menšími zásobníky jsou atmosféra ( $4,8 \times 10^9$  kg) a terestrická vegetace ( $7,6 \times 10^{12}$  kg) (Stevenson & Cole, 1999).

Síra v půdách může pocházet ze tří zdrojů. Je uvolňována zvětráváním minerálů, např. pyritu. Je obsažena také v pískovcích, vápencích, břidlicích a sádrovcích. Dalším zdrojem síry je dekompozice organické hmoty a atmosférická depozice (Stevenson & Cole, 1999).

Síra v půdách je důležitá pro výživu rostlin, které ji přijímají kořenovým systémem především ve formě síranů (Mitáš, 2011). Dále jsou sírany v půdách důležité pro některé rody sulfát-redukujících bakterií, které za anaerobních podmínek využívají sírany (a jiné formy anorganické síry) jako akceptor elektronů při disimilační redukci (Stevenson & Cole, 1999).

### **2.3.1. Sloučeniny síry v půdách**

Sloučeniny síry můžeme rozdělit na organické a anorganické. Tyto jednotlivé zásobníky síry ale nejsou izolované. Dochází k dynamickým přeměnám mezi organickými a anorganickými formami síry. Přeměny se uskutečňují prostřednictvím mobilizace, mineralizace, imobilizace a oxidačních a redukčních procesů (Scherer, 2009).

#### Organická síra

Většinu půdního rezervoáru síry tvoří organická síra (Watwood & Fitzgerald, 1988). Organická síra se vyskytuje ve vazbě s uhlíkem C-S a v esterech C-O-SO<sub>3</sub>. Jsou známé i jiné organické formy, ale jejich význam je malý (Stevenson & Cole, 1999). Většina organické síry v půdách je přítomna mimo živé buňky jako extracelulární organická hmota (Strickland et al., 1987). Sloučeniny C-S jsou nejčetnější (Strickland & Fitzgerald, 1987). Vyskytují se v aminokyselinách, například v esenciálních aminokyselinách cysteinu, cystinu a methioninu. Také v kofaktorech biotinu a thiaminu, v koenzymu A, v FeS proteinech a v lipové kyselině (Stevenson & Cole, 1999). Většina C-S sloučenin pochází z opadu a rostlinné hmoty. Jejich množství se snižuje s hloubkou půdního profilu (Strickland & Fitzgerald, 1987). Sloučeniny C-O-SO<sub>3</sub> v půdách pocházejí především z mikrobiální biomasy. Jejich množství se zvyšuje s hloubkou půdního profilu (Strickland & Fitzgerald, 1987). Je možné, že C-O-S sloučeniny jsou tvořeny coby zásobní produkt, když je koncentrace síranů v roztoku vysoká. Následně mohou být užity, když množství síranů v roztoku poklesne nebo když se zvýší dostupnost uhlíku, což může indukovat větší mikrobiální potřebu síry (McGill & Cole, 1981).

## Anorganická síra

Anorganická síra existuje v půdě v různých oxidačních stavech. V půdách jsou přítomny sírany, sulfidy, siřičitany, thiosírany a elementární S (Stevenson & Cole, 1999). Elementární síra a sulfidy jsou vzácnější, protože jsou většinou rychle oxidovány na sírany. Sírany jsou nejběžnější sloučeninou anorganického zásobníku síry (Swank et al., 1984).

## **2.4. Retence síranů v půdách**

### **2.4.1. Adsorpce a desorpce síranů**

Sírany mohou být zadrženy adsorpcí. Adsorpce síranů je řízena jejich koncentrací, pH a typem jiných aniontů přítomných v roztoku. Do značné míry je ovlivňována charakterem koloidních povrchů (Harward & Reisenauer, 1966). Adsorpce síranů stoupá se snižujícím se pH, maximální adsorpce nastává kolem pH 4 (Nodvin et al., 1986). Většina adsorbovaných síranů je přítomna v nižších půdních horizontech (Swank et al., 1984).

Adsorpci síranů rozlišujeme nespecifickou a specifickou. K nespecifické adsorpci síranů dochází na kladných nábojích povrchů koloidů. Sírany jsou drženy pouze elektrostatickými silami, uvnitř dvojité difuzní vrstvy (Johnson & Cole, 1977). Nespecificky mohou být sírany adsorbovány na površích organické hmoty a jílových minerálech a především sesquioxidech – jílových minerálech tvořených oxidy železa a hliníku. Povrchy sesquoxidů jsou amfoterické, mohou mít pozitivní, negativní i nulový náboj, jenž závisí na pH. Funkční skupiny, které se účastní nespecifické adsorpce síranů, jsou hydroxy-skupiny, karboxy-skupiny, fenol-skupiny a amino-skupiny (Brady & Weil, 2002).

Při specifické adsorpci anionty vstupují do koordinace s oxidy kovů. Síranové anionty se váží v elektrické dvojvrstvě k oxidu kovu nahrazením molekuly vody  $-OH_2^+$  či hydroxilu  $-OH^0$  (Brady & Weil, 2002). Někdy se specifické adsorpci říká výměna ligandů (Johnson & Cole, 1977). Nejvíce se specifická adsorpce uplatňuje v půdách s vysokým obsahem sesquoxidů (Fuller et al., 1985). Přírůstek specificky adsorbovaných aniontů má za následek mobilizaci nespecificky adsorbovaných aniontů, protože specifická adsorpce aniontů zvyšuje permanentní negativní náboj povrchu koloidu. Později také způsobuje zvýšení kationtové výměnné kapacity a větší sílu retence kationtů (Johnson & Cole, 1977).

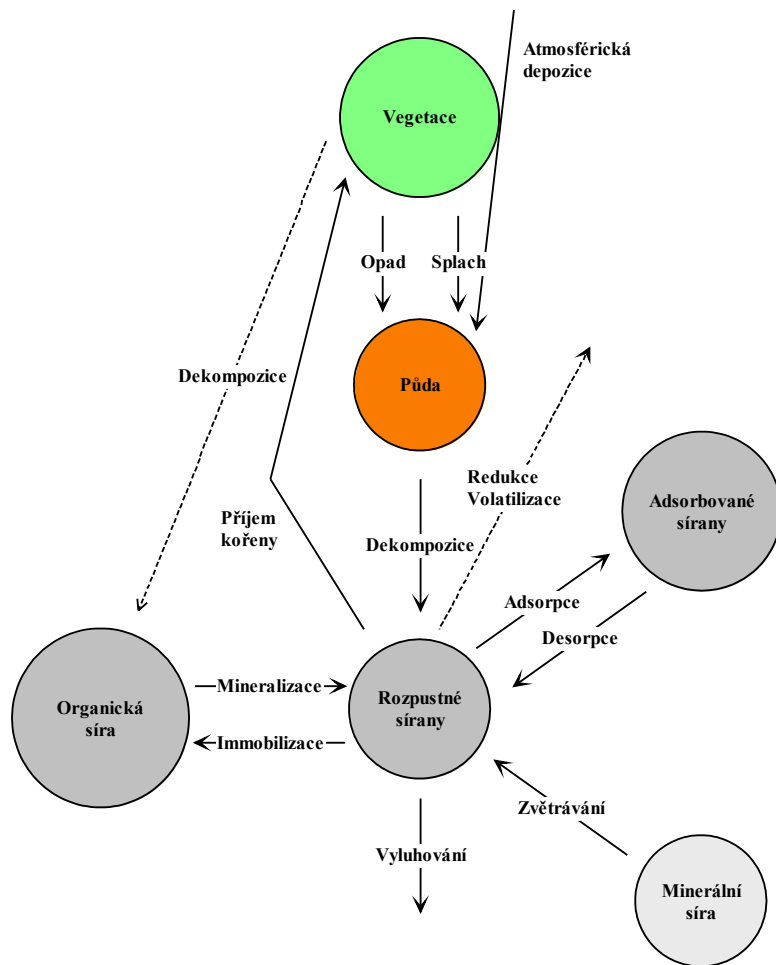
Při nízké koncentraci jsou sírany adsorbovány na pozitivních nábojích vytěsněním  $-OH_2^+$  nebo  $-OH^0$ . Pokud jejich koncentrace vzrůstá, začínají se sírany adsorbovat na neutrální koloidy vytěsněním  $-OH^0$ . Výsledný negativní náboj může být neutralizován tím, že

adsorbovaný síran vytěsni další hydroxyl nebo molekulu vody a vytvoří šestičtený kruh (Rajan, 1978).

Opačným procesem než adsorpce je desorpce. Sorpce a desorpce dosahuje v půdním systému rovnováhy během několika minut (Rajan, 1978). Desorpce síranů je abiotický proces regulovaný koncentračním gradientem a vazebnými partnery síranů (Reuss & Johnson, 1986). Adsorbované sírany mohou být desorbovány zvýšením pH půdního roztoku (Nodvin et al., 1986) nebo nahrazením jiným iontem s větší nebo stejnou afinitou (Johnson & Cole, 1977). Kompletní desorpci můžeme očekávat pouze pokud jsou všechny sírany nespecificky adsorbovány (Reuss & Johnson, 1986). Desorbované sírany poté mohou být díky mikrobiální aktivitě imobilizovány v nerozpustné formy (Strickland et al., 1984).

#### **2.4.2. Mikrobiální přeměny síranů**

Mikrobiální přeměny síranů závisí na parametrech ovlivňujících fyziologii mikroorganismů – na teplotě, vodním režimu, dostupnosti organických substrátů atd. (Prechtel et al., 2001). Dále jsou mikrobiální transformace síranů v půdách ovlivněny jejich koncentrací (Swank et al., 1984). Mikrobiální transformace síranů probíhá obvykle rychleji v horizontu A (Strickland et al., 1987). Celková transformace ale může být ve skutečnosti větší v nižších horizontech než horizontu A kvůli většímu celkovému množství půdy v těchto horizontech (Strickland et al., 1987). Cyklus síry v lesním ekosystému je zobrazen na Obr. 2.



**Obr. 2.:** Schéma cyklu síry v lesním ekosystému (upraveno podle Johnson, 1984).

### Imobilizace

Při imobilizaci jsou sírany přeměňovány prostřednictvím metabolismu mikroorganismů na organické formy síry (Swank et al., 1984), C-S a C-O-S sloučeniny (Watwood et al., 1988).

Imobilizace se účastní jak aerobní, tak anaerobní mikroorganismy (Watwood et al., 1988). Podíl síry v mikrobiální biomase tvoří pouze 2 až 3% z celkového obsahu organické síry (Stevenson & Cole, 1999). Díky krátkému životu mikroorganismů je mikrobiální síra rychle uvolněna (Randlett et al., 1992). Organické sloučeniny síry poté mohou být polymerizovány na větší nerozpustné organické sloučeniny (Strickland et al., 1987) kovalentním navázáním k organické hmotě (Watwood et al., 1988, Strickland et al., 1987).

Rychlost imobilizace klesá s hloubkou půdního profilu. Většina imobilizované síry je ale přítomna v nižších půdních horizontech, díky většímu objemu půdy (Swank et al., 1984).

Některé studie potvrzují sezónní závislost mikrobiální imobilizace síry. Strickland et al. (1987) zjistili, že nejvíce síranů je imobilizováno během jara. Podle Randlett et al. (1992) můžeme nejvyšší rychlosti imobilizace očekávat na jaře a na podzim, kdy mají mikroorganismy dostatek uhlíku a vlhkosti a půdní teplota je příznivá pro jejich metabolismus. Swank et al. (1984) došli k podobnému závěru, prokázali, že imobilizace je nejvyšší v období srpen–září, naopak nejnižší během pozdního jara a zimy. Některé studie ale vliv ročního období na imobilizaci síranů neprokázaly (Watwood et al., 1988; Randlett et al., 1992).

### Mineralizace

Mineralizací se rozumí proces uvolňování živin při mikrobiálním rozkladu organických látek, při kterém se prvky obsažené v organické hmotě uvolňují a vracejí zpět do koloběhu látek v půdě (Brady & Weil, 2002). Vysokomolekulární organické sloučeniny síry jsou přeměněny na nízkomolekulární organické sloučeniny síry nebo anorganické sírany (Strickland et al., 1984). Děje se tak depolymerizací nebo odtržením síranových skupin (Swank et al., 1984).

Mineralizace C-S sloučenin je přímo závislá na mikrobiální aktivitě, sulfátové estery mohou být hydrolyzovány extracelulárními enzymy. Mikroorganismy využívají C-S sloučeniny jako zdroj energie, uhlíku, síra je uvolňována jako vedlejší produkt oxidace uhlíku na oxid uhličitý. Sulfátové estery mikroorganismy využívají jako zdroj síry (McGill & Cole, 1981).

Strickland & Fitzgerald (1987) zjistili, že mineralizace je nejvyšší v létě. Obsah esterů je nejvyšší a stoupá obsah volných a adsorbovaných síranů.

### Oxidace a redukce

Půdní mikroorganismy také zprostředkovávají oxidaci a redukci sloučenin síry. Kompletně mineralizované sloučeniny síry mohou být transformovány na  $\text{SO}_4^{2-}$  nebo  $\text{H}_2\text{S}$  (Brady & Weil, 2002).

Některé rody bakterií, například *Desulfovibrio* a *Desulfotomaculum*, za anaerobních podmínek využívají sírany ve svém metabolismu jako akceptor elektronů a redukují je na  $\text{H}_2\text{S}$  (Stevenson & Cole, 1999). Srážkové události mohou v půdách vyvolat anaerobní podmínky a tak i disimilační redukci síry a její uvolnění ve formě  $\text{H}_2\text{S}$  (Novák et al., 2001). Aerobní metabolismus je ale v horských půdách dominantním procesem (Alewell & Novák, 2001).



Různé skupiny mikroorganismů zprostředkovávají oxidaci redukováných anorganických a organických sloučenin síry. Oxidaci za aerobních podmínek zprostředkovávají např. chemoautotrofické bakterie (např. *Achromatium*, *Thiobacillus*), které oxidují  $H_2S$  přes elementární síru až na kyselinu sírovou, uvolněnou energii využívají k redukci oxidu uhličitého. Za anaerobních podmínek oxidaci sloučenin síry zprostředkovávají fototrofické zelené bakterie (oxidují  $H_2S$  na elementární síru) a fototrofické purpurové bakterie (oxidují  $H_2S$  až na kyselinu sírovou) (Stevenson & Cole, 1999).

## 2.5. Stanovení síry v půdách

### 2.5.1. Analytické metody stanovení síry

#### Celkový obsah síry

Pro stanovení celkového obsahu síry je třeba převést sloučeniny síry na jednotnou formu. Užívá se oxidace na síranů (méně redukce na sulfidy). Existuje řada technik pro oxidaci síry v půdních vzorcích na sírany. Nejužívanější technikou je tavení s uhličitánem sodným ( $Na_2CO_3$ ) a oxidačním činidlem. Dalšími technikami je vyluhování minerálními kyselinami, mokrá oxidace za alkalických podmínek bromnanem sodným ( $NaOBr$ ), oxidace indukčním spalováním. Při oxidaci indukčním spalováním se vzorek zahřívá v prostoru indukční pece, kterou proudí kyslík. Při reakci síry s kyslíkem vzniká  $SO_2$ . Užívanou technikou pro oxidaci síry je také rentgenová fluorescence XRF (X-ray fluorescence) (Tabatabai, 1992).

Sírany lze stanovit například gravimetricky jako  $BaSO_4$ , turbidimetricky nebo pomocí iontové chromatografie. Často se užívá Johnsonova - Nishitova kolorimetrická metoda. V této metodě se sírany redukují na  $H_2S$  směsí obsahující  $HI$ ,  $HCOOH$  a  $H_3PO_4$ .  $H_2S$  je poté vystaven kyselému roztoku.

p-aminodimethylanilinu za přítomnosti železitých iontů. Reakcí vzniká metylenová modř, intenzita se stanovuje kolorimetricky (Tabatabai, 1992).

#### Stanovení rozpustných a adsorbovaných síranů

Při stanovování rozpustných síranů je anorganická síra obvykle extrahována roztokem soli obsahujícím např.  $CaCl_2$ ,  $LiCl$  či  $NaCl$ . Voda je k extrakci užívána méně (Tabatabai, 1992).

Pro extrakci rozpustných a adsorbovaných síranů se užívají činidla jako  $NaHCO_3$ , suspenze  $CaCO_3$ , neutrální a kyselý octan amonný  $NH_4OAc$  (Tabatabai, 1992).

Adsorbované sírany mohou být vytěsněny anionty, které mají větší sílu adsorpce. Nejčastěji se užívá  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$  a  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Extrahované sírany lze stanovit řadou metod, podobně jako oxidované sírany při stanovování celkového obsahu síry (Tabatabai, 1992).

### Sorpční izotermy

Pro zjištění míry adsorpce či desorpce síranů se používá měření sorpčních izoterm. Adsorpce je popisována funkční závislostí adsorbovaného množství na koncentraci, sorpčními izotermami, pokud proces probíhá za konstantní teploty. Za podmínek rovnováhy je množství adsorbovaných síranů funkcí jejich koncentrace v roztoku. Koncentrační závislost adsorbovaných síranů lze vyjádřit několika matematickými rovnicemi, nejčastěji se užívá Langmuirova a Freundlichova rovnice (Bartovská & Šišková, 2005).

Freundlichovu izotermu popisuje rovnice:

$$X = bc^q$$

$X$  představuje množství adsorbovaných síranů,  $c$  je rovnovážná koncentrace síranů,  $b$  a  $q$  jsou empirické konstanty (Bartovská & Šišková, 2005).

Langmuirovu izotermu popisuje rovnice:

$$X = \frac{cX_{\max}k}{1 + ck}$$

$X$  představuje množství adsorbovaných síranů,  $X_{\max}$  je sorpční maximum,  $c$  je rovnovážná koncentrace síranů,  $k$  je rovnovážná konstanta (Bartovská & Šišková, 2005).

### **2.5.2. Izotopy síry a izotopové metody pro sledování přeměn forem síry**

Izotopy jsou nuklidy téhož chemického prvku, liší se počtem neutronů v atomovém jádru. Mezi izotopy jednoho prvku jsou pouze fyzikální rozdíly. Síra má čtyři stabilní izotopy:  $^{32}\text{S}$ ,  $^{34}\text{S}$ ,  $^{33}\text{S}$ ,  $^{36}\text{S}$  a řadu radioaktivních izotopů, například  $^{35}\text{S}$  (Stevenson & Cole, 1999).

Izotopická skladba půd je řízena izotopovým složením zdrojů (například atmosférickou depozicí, zvětrávanými minerály, mineralizací organických látek) a izotopovou frakcionací mikroorganismy během transformací síry (Mitchell et al., 2001). Adsorpce a desorpce síranů a zvětrávání minerálů obsahujících síru izotopy síry nefrakcionují (Van Stemvoort et al., 1990).

Izotopové metody umožňují zkoumat cyklus síry (Thode, 1991). Nejvíce se používají metody využívající radioaktivní izotop  $^{35}\text{S}$  jako značkovací substance, tzv. tracer a metody analyzující stabilní izotop  $^{34}\text{S}$ , který se přirozeně vyskytuje v přírodě. Také izotop  $^{34}\text{S}$  je možné užít jako tracer.

#### Použití izotopu $^{35}\text{S}$

Nejužívanější metodou zkoumající mikrobiální transformace sloučenin síry je radioizotopová metoda  $^{35}\text{S}$  (Alewell & Novák, 2000). Tato metoda umožňuje analyzovat adsorpci síranů, tvorbu organické síry (Fitzgerald et al., 1983) a mineralizaci organické síry (Strickland et al., 1984).

Výhodou této metody je, že oproti metodám užívajícím jako tracer izotop  $^{34}\text{S}$  není příliš nákladná (Blair & Till, 2003). Nevýhodou naopak je, že je možné ji užít pouze v laboratoři, protože izotop  $^{35}\text{S}$  má krátký poločas rozpadu (Alewell & Novák, 2000).

Izotop  $^{35}\text{S}$  je jako tracer vstříknut do půdního vzorku a po určité době inkubace je monitorován (Alewell & Novák, 2000). Izotop  $^{35}\text{S}$  se stanovuje adsorpční chromatografií LSC (liquid-solid chromatography). Jde o kapalinovou chromatografii ve fázi pevná látka – kapalina (Bártovská & Šišková, 2005).

#### Použití izotopu $^{34}\text{S}$

Izotopové hodnoty izotopu mají speciální značení -  $\delta$  zápis. Hodnoty  $\delta$  označují rozdíl měření vzhledem ke standardům v průběhu analýzy.

$$\delta^H X = [(R_{\text{VZOREK}} / R_{\text{STANDARD}} - 1)] * 1000$$

$\delta$  hodnota je specifická pro konkrétní prvek (v našem případě S), index  $H$  udává množství těžkého izotopu prvku ( $^{34}\text{S}$ ),  $R$  je stabilní izotopové složení (Fry, 2006; Thode, 1991).

Stabilní izotopové složení je udáváno jako poměr  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$  vzhledem ke standardu Vienna Canyon Diablo Troilite (CDT) FeS, jehož hodnota je 22,22 (Fry, 2006; Thode, 1991).

Vzorky s vyššími hodnotami  $\delta$  jsou relativně obohaceny těžkým izotopem. Vzorky s nižšími hodnotami  $\delta$  jsou relativně obohaceny lehčím izotopem (Fry, 2006).

Analýza stabilních izotopů síry  $^{34}\text{S}$  se užívá pro studium biogeochemického cyklu síry (Alewell & Novák, 2000). Může být užita k identifikaci přírodních a antropogenních zdrojů síry, pokud je izotopické rozlišení mezi nimi dost velké (Fry, 2006). Umožňuje studovat procesy transportu síry (Van Stempvoort et al., 1992; Mayer et al., 1993). Také umožňuje rozlišit poměr organické a anorganické síry v půdách a indikovat, zda uvolněná síra byla

sorbována či organicky cyklena. Izotop  $^{34}\text{S}$  je podobně jako izotop  $^{35}\text{S}$  možné použít jako tracer (Novák et al., 2001).

Výhodou metody je, že stabilní izotop zůstává v systému nezměněn (pokud nedojde k ztrátě vymytím, vytěkáním nebo není mikrobiálně přeměněn). Nevýhodou metody je její vyšší nákladnost (Blair & Till, 2003). Elementární  $^{34}\text{S}$  je komerčně dostupný, na sírany je ho třeba převést reakcí s  $\text{HNO}_3$  v tavícím bloku (Blair & Till, 2003).

Izotop  $^{34}\text{S}$  může být jako tracer dodán do vzorku a poté je monitorován. Pro detekci izotopu  $^{34}\text{S}$  se užívá hmotnostní spektrometrie (Blair & Till, 2003). Před detekcí je třeba sloučeniny síry převést na plynnou sloučeninu vhodnou k analýze hmotnostním spektrometrem. Většinou se užívá  $\text{SO}_2$ .  $\text{SO}_2$  je v současnosti získáván především dvěma způsoby. Buď je síra ve vzorcích převedena na  $\text{BaSO}_4$ , poté na  $\text{Ag}_2\text{S}$  a sulfidy jsou poté oxidovány za vysoké teploty v reakci s donorem kyslíku, například  $\text{V}_2\text{O}_5$ . Nebo je síra ve vzorcích převedena na  $\text{BaSO}_4$  a poté ve vysokoteplotní reakci na  $\text{SO}_2$ . Druhá metoda je výhodná, protože není nutné předtím  $\text{BaSO}_4$  převádět na  $\text{Ag}_2\text{S}$  (Rees & Holt, 1991). V řadě studií (např. Alewell & Novák, 2001, Mayer et al., 1993; Novák et al., 2000.) vzorky pro detekci hmotnostním spektrometrem upravují metodou Yanagisawa a Sakai (1983), při které reaguje směs  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{V}_2\text{O}_5$  a  $\text{SiO}_2$  v poměru 1:10:10 za teploty  $900^\circ\text{C}$ .

## 2.6. Shrnutí rešerše (v kontextu s navrhovaným projektem)

Povodí šumavských jezer bylo v minulém století acidifikováno okyselujícími sloučeninami z antropogenních zdrojů. Vedle sloučenin dusíku se na acidifikaci významně podílely sírany. Povodí mohla acidifikaci odolávat pouze omezeně, kvůli extrémní klimatické poloze, kyselému podloží, malé mocnosti půd, porostu smrkových monokultur. Během acidifikačního období se v půdách povodí uložilo významné množství síranů, ty jsou postupně uvolňovány, a proto rychlost zotavování ekosystému zaostává za rychlostí poklesu emisí.

Pro podrobné studium ekosystémů šumavských jezer byla na začátku devadesátých let vybrána povodí Plešného, Čertova a Černého jezera. Bylo zjištěno, že sírany v půdách těchto povodí tvoří pouze 3.4% celkového obsahu síry, což nevysvětluje relativně velké vyluhování síranů posledních let. Tento nepoměr může být vysvětlen tím, že zásobník síranů je doplňován z půdních procesů zásobníku organické síry.

Z teoretické části práce vyplývá, že významné procento síranů může být vedle adsorpce půdními koloidy zadržováno v organickém cyklu síry, skrze imobilizaci půdními mikroorganismy. Mikrobiální imobilizace pravděpodobně nepředstavuje dlouhodobý

zásobník síry, přesto je ale studium mikrobiální transformace síry důležité pro pochopení mechanismu retence síranů v povodí šumavských jezer.

Projekt navrhuje stanovení současných síranových sorpčních vlastností půd povodí Plešného a Čertova jezera. Vlastnosti budou stanovovány pomocí desorpčních a sorpčních izoterem dle Alewell (1998). Získané výsledky budou porovnány s hodnotami stanovenými v půdních vzorcích odebraných v květnu 2000. Dále projekt navrhuje studium adsorpce a mikrobiální imobilizace síranů v půdách a vliv sezóny na retenci síranů radioizotopovou metodou izotopu  $^{35}\text{S}$  dle Randlett et al. (1992). V porovnání s jinými radioizotopovými metodami (užívající izotop  $^{34}\text{S}$ ) se tato metoda jeví pro naše potřeby nejvhodnější - především díky své malé časové a finanční náročnosti.

## 3. Projekt

### 3.1. Cíle projektu

Navrhnout vhodný postup pro posouzení transformace  $\text{SO}_4\text{-S}$  a rozsahu jejich uvolňování z půd povodí šumavských jezer.

### 3.2. Hypotézy

Významné procento síranů může být vedle adsorpce půdními koloidy zadržováno v organickém cyklu síry, skrze imobilizaci půdními mikroorganismy.

### 3.3. Návrh projektu

#### 3.3.1. Podpůrná data využitelná v rámci projektu

Pro účely projektu budou využity výsledky  $\text{SO}_4\text{-S}$  sorpčních vlastností půd v povodí PL a CT. Chemické charakteristiky půdních vzorků jsou uvedeny v Tab. 1.

**Tab. 1:** Chemické charakteristiky půdních vzorků z povodí Plešného (PL) a Čertova (CT) jezera. S, celkový obsah síry;  $\text{SO}_4\text{-S}$ , vodou extrahovatelné sírany;  $X_{\max}$ , maximální adsorpční kapacita  $\text{SO}_4\text{-S}$ . Nestanovené, n; mix, směsné vzorky; buk, bukový les

	$\text{SO}_4\text{-S}$	$X_{\max}$
	mmol.kg	
PL-A	0.32	n
PL-Ae	0.18	n
PL-Bsv	0.10	n
PL-A (buk)	1.36	n
PL-AB1 (buk)	0.26	n
PL-AB2 (buk)	0.24	n
CT-A (mix)	0.68	5.2
CT-Ae (mix)	0.48	3.7
CT-E (mix)	0.24	3.1
CT-B (mix)	0.50	3.3
CT-C (mix)	0.38	2.4

### 3.3.2. Odběr vzorků

#### Odběr vzorků pro stanovení SO<sub>4</sub>-S sorpčních vlastností (vzorky A)

Vzorky budou odebrány v povodí PL a CT jezera v místech dřívějších odběrů (viz. Obr. 1, Obr. 2) z vyhloubených jam o velikosti 0,25m<sup>2</sup> (50 x 50 cm). Vzorky budou uloženy do polyetylenových sáčků a dopraveny do laboratoře, kde budou homogenizovány prosetím přes síto s průměrem ok <5 mm. Budou vytvořeny směsné vzorky. V povodí PL jezera budou vzorky připraveny smísením stejného množství půd z půdních horizontů a) rezivých půd: A, Ae, Bsv (PL9, PL10, PL11) a b) půd bukového lesa: A, AB1 a AB2 (PL13, PL14). V povodí CT budou směsné vzorky připraveny podobně jako v povodí PL jezera, smísením stejných horizontů podzolových (CT1,CT3,CT4,CT7) a rezivých půd (CT2, CT5, CT6, CT8).

#### Odběr vzorků pro radioznačení <sup>35</sup>S a analýzu forem síry (vzorky B)

Vzorky budou odebrány na třech místech v povodí PL a CT jezera (PL9, PL11, PL14, CT1, CT4, CT8) v červnu, srpnu a říjnu. Na každém místě budou vždy odebrány 4 vzorky: 2 vzorky z horizontu A (svrchních 5 cm) a 2 vzorky z horizontu B (svrchních 5 cm). Jedna sada vzorků bude užita k radioizotopové značení izotopem <sup>35</sup>S, vzorky budou odebírány Kopeckého válečky. Druhá sada vzorků bude užita pro stanovení forem síry, vzorky budou odebírány pomocí půdního vrtáku (Edelmanův dvoudílný vrták) a uloženy do polyetylenových sáčků. Digitálním teploměrem bude změřena teplota míst odběrů. Vzorky budou uloženy ve 2°C a dopraveny do laboratoře, kde budou skladovány ve 2°C, nejvýše ale několik dní.

### 3.3.3. Laboratorní metody

#### Stanovení SO<sub>4</sub>-S sorpčních vlastností (vzorky A)

Pro měření SO<sub>4</sub>-S desorpčních izoterem budou vlhké vzorky protřepány s destilovanou vodou v osmi krocích. V prvních třech krocích v poměru 1:1, v dalších krocích 1:4. Extrakty budou centrifugovány (~1000 g po dobu 15 minut) a filtrovány přes filtr ze skelných vláken (Macherey-Nagel, 0,4 μm). Koncentrace SO<sub>4</sub>-S v každém extraktu bude zjištěna pomocí iontové chromatografie (Thermo Separation Products, USA). Celkové množství uvolněných SO<sub>4</sub>-S bude představovat celkové množství SO<sub>4</sub>-S uvolněných ve všech krocích a bude přepočítáno na suchou hmotnost vzorku (v 105 °C).

Pro měření SO<sub>4</sub>-S sorpčních izoterem budou použity stejné vzorky. Vzorky budou protřepány v šesti po sobě jdoucích krocích se zvyšujícími se koncentracemi síranů (až do koncentrace 1000 μmol.l<sup>-1</sup>) ve 25 °C (18 hodin každý). Množství sorbovaných SO<sub>4</sub>-S bude stanoveno jako rozdíl mezi původní a rovnovážnou koncentrací SO<sub>4</sub>-S v roztoku. Výsledné hodnoty budou použity k výpočtu SO<sub>4</sub>-S sorpčního maxima. Bude užita rovnice Langmuirovy izotermy.

#### Chemické analýzy (vzorky B)

Při každém odběru budou spojeny vzorky stejných horizontů jednoho povodí a vzorky budou homogenizovány. Pro analýzy budou odebrány 3 dílčí vzorky z každého homogenizovaného vzorku. Bude se stanovovat celkový obsah síry, vodou a H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> extrahovatelné SO<sub>4</sub>-S a obsah síry v mikrobiální biomase.

Vodou a H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> extrahovatelné SO<sub>4</sub>-S budou stanoveny extrakcí deionizovanou vodou a 0,016 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, v poměru 1:5. Vzorky budou 1 hodinu třepány. SO<sub>4</sub>-S ve vodních a H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> extraktech budou stanoveny gravimetricky jako BaSO<sub>4</sub> ve srážecí reakci s BaCl<sub>2</sub>.

Usušené dílčí vzorky budou analyzovány na celkový obsah síry. Vzorky budou mineralizovány HNO<sub>3</sub> a HClO<sub>4</sub> po dobu 4 hodin. Poté budou zředěny na objem 50 ml a bude stanoven celkový obsah síry metodou atomové emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem ICP – AES (ICP spektrometr Prodigy).

Pro stanovení obsahu síry v mikrobiální biomase budou dílčí vzorky (20g) fumigovány chloroformem ve vakuové sušičce 18 hodin. Jiné dílčí vzorky budou sloužit jako kontrolní vzorky, budou pokryty Parafilmem<sup>TM</sup> a uloženy v pokojové teplotě. Poté bude do kontrolních i fumigovaných vzorků přidáno 0,5 g čerstvé půdy a vzorky budou uloženy v pokojové teplotě ve tmě po dobu 10 dní. Po jejich uplynutí budou vzorky extrahovány 0,016



M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ . 30 ml vzniklé suspenze bude vypařováno do objemu cca 3 ml, který bude analyzován na celkový obsah síry ICP – AES.

Celkový obsah síry bude dopočítán pomocí odhadu objemové hmotnosti. Obsah organické síry bude vypočítán odečtením součtu vodou a adsorbovaných  $\text{SO}_4\text{-S}$  a obsahu síry v mikrobiální biomase od celkového obsahu síry.

#### Radioizotopové značení izotopem $^{35}\text{S}$ (vzorky B)

Druhá sada vzorků bude (stále v Kopeckého válečcích) radioaktivně označena izotopem  $^{35}\text{S}$  –  $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$  (150 mCi). Tracer bude přidán jednorázovými plastovými stříčkami. Každý vzorek bude poté pokryt Parafilmem<sup>TM</sup> a inkubován po dobu 8 dní za teploty zjištěné na místě odběru. Po inkubaci budou vzorky přemístěny do sáčků a homogenizovány. V dílčích vzorcích se budou stanovovat vodou a  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  extrahovatelné  $^{35}\text{SO}_4\text{-S}$  stejným postupem jako při chemických analýzách, ale vzorky nebudou filtrovány. Bude stanoven obsah  $^{35}\text{S}$  v mikrobiální biomase a celkový obsah  $^{35}\text{S}$ . Aktivita  $^{35}\text{S}$  bude měřena v každé frakci adsorpční chromatografií LCS (Beckman LS 3801). Budou užity scintilační koktejly, k tekutým extraktům bude přidán Scintiverse (PerkinElmer), ke kyselému celkovému  $^{35}\text{S}$  Hionic-Fluor (PerkinElmer).

Obsah  $^{35}\text{S}$  organické síry bude zjištěn odečtením součtu vodou extrahovaných  $^{35}\text{SO}_4\text{-S}$ , adsorbovaných  $^{35}\text{SO}_4\text{-S}$  a  $^{35}\text{S}$  mikrobiální biomasy od celkového obsahu  $^{35}\text{S}$ . Organická  $^{35}\text{S}$  bude představovat  $^{35}\text{S}$ , která byla imobilizována mikroorganismy a následně přeměněna. Imobilizovaná  $^{35}\text{S}$  bude odhadnuta jako součet  $^{35}\text{S}$  mikrobiální biomasy a organické  $^{35}\text{S}$ .

### 3.3.4. Časový plán projektu

Tab. 2: Časový plán projektu

	Květen	Červen	Červenec	Srpen	Září	Říjen	Listopad	Prosinec
Odběr vzorků A pro stanovení SO <sub>4</sub> -S sorpčních vlastností								
Stanovení SO <sub>4</sub> -S sorpčních vlastností								
Odběr vzorků B pro radioizotopové značení <sup>35</sup> S a chemické analýzy								
Radioizotopové značení <sup>35</sup> S a chemické analýzy								
Vyhodnocování výsledků SO <sub>4</sub> -S sorpčních vlastností								
Vyhodnocování výsledků radioizotopového značení <sup>35</sup> S a chemických analýz								
Prezentace výsledků								

### 3.3.5. Finanční náklady

Tab. 3: Finanční náklady (v Kč)

Neinvestiční materiál	1 350 000
Služby	10 000
Cestovní náklady	10 000
Mzdové náklady	150 000
Celkem	1 520 000 Kč

**Neinvestiční materiál:** vybavení pro odběr vzorků (půdní vrták, Kopeckého válečky, síta, PE sáčky, PE folie, digitální teploměr, pracovní rukavice), laboratorní nádobí (stříčky, kádinky aj.), laboratorní materiál (filtrační papír, filtry ze skelných vláken, ochranné rukavice aj.), chemikálie, izotop <sup>35</sup>S (jeden vzorek 150 mCi), materiál pro radioznačení (jednorázové stříkačky a jehly, parafilm), analýza obsahu síry vzorků na odborném pracovišti, izotopová analýza vzorků na odborném pracovišti

**Služby:** pravidelná údržba přístrojů

**Cestovní náklady:** náklady na cesty (odběry vzorků)

**Mzdové náklady:** poloviční úvazek pomocného pracovníka, odměny pro brigádníky za výpomoc při zpracování vzorků

### 3.3.6. Očekávané výstupy projektu

Navrhovaný projekt se zabývá výzkumem půd v povodí Plešného a Čertova jezera.

#### Projekt navrhuje:

- a) Stanovení sorpčních vlastností půd měřením  $\text{SO}_4\text{-S}$  desorpčních a sorpčních izotem.

Dá se očekávat, že adsorpce síranů bude významnější v hlubších minerálních horizontech. Pravděpodobně budou získané hodnoty adsorbovaných síranů nižší než v roce 2000.

Výsledky síranových sorpčních vlastností budou porovnány s výsledky z roku 2000, bude vyčíslen úbytek adsorbovaných síranů za 10 let.

- b) Výzkum adsorpce a mikrobiální imobilizace  $\text{SO}_4\text{-S}$  v půdách metodou radioizotopového značení izotopem  $^{35}\text{S}$ .

Dá se očekávat, že mikrobiální imobilizace bude dominantním zásobníkem síry v horizontech A+E, zatímco adsorpce bude významnějším zásobníkem v horizontu B.

Stanovíme, jaký podíl na retenci síranů má imobilizace adsorpcí a jaký inkorporace do organické hmoty. Zjistíme, zda se mikrobiální imobilizace a adsorpce síranů mění během sezóny.

Očekávaným výstupem je tedy zpřesnění informací o zadržování, uvolňování a přeměnách sloučenin síry v lesních půdách povodí acidifikovaných horských jezer. Získané výsledky spolu s údaji o vstupu síry do povodí srážkami a výstupu z povodí přítoky (potřebné údaje jsou k dispozici v databance HBÚ) navíc umožní zpřesnit bilanci síry v povodích Plešného a Čertova jezera. Všechny tyto informace by měly přispět ke zpřesnění odhadu rychlosti zotavování šumavských jezer z neblahých důsledků acidifikace.

## 4. Literatura

Allewel C., Novák M., (2001). Spotting zones of dissimilatory sulfate reduction in a forested catchment: the 34S-35S approach. *Environmental Pollution* 112: 369–377.

Bartovská L., Šišková M., (2005). Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav [online]. Praha: VŠCHT Praha [cit. 22.4.2012]. Dostupný z [www <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-80-7080-579-X>](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X).

Blair G.J., Till R., (2003). Guidelines for the use of isotopes of sulfur in soil - plant studies [online]. Training course series 20. International atomic energy agency, Vienna [cit. 22.4.2012]. Dostupný z [www <http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TCS-20\\_web.pdf>](http://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/TCS-20_web.pdf).

Brady N.C., Weil R.R., (2002). The nature and properties of soils, thirteenth edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 960.

Driscoll C.T., Driscoll K.M., Mitchell M.J., Raynal D.J., (2003). Effects of acidic deposition on forest and aquatic ecosystems in New York State. *Environmental Pollution* 12:327–336.

Fitzgerald J.W., Ash J.T., Strickland T.C., Swank W.T., (1983). Formation of organic sulfur in forest soils: a biologically mediated process. *Canadian Journal of Forest Research* 13:1077–1082.

Fry B., (2006). *Stable Isotope Ecology*. Springer, New York, 308.

Fuller R.D., David M.B., Driscoll C.T., (1985). Sulfate adsorption relationships in forested spodosols of the northeastern USA. *Soil Science Society of America Journal* 49(4): 1034–1040.

Fuller R.D., Driscoll C.T., Lawrence G.B., Nodvin S.C., (1987). Process regulating sulphate flux after whole-tree harvesting. *Nature* 325(6106): 707–710.

Greenwood N.N., Earnshaw A., (1993). *Chemie prvků, svazek 2*. Informatorium, Praha, 794–1635.

Harward M.E., Reisenauer H.M., (1966). Reaction and movement of inorganic soil sulfur. *Soil Science* 101: 326–335.

Houle D., Carignan R., Ouimet R., (2001). Soil organic sulfur dynamics in a coniferous forest. *Biogeochemistry* 53: 105–124.

Hruška J., Kopáček J., (2005). Kyselý déšť stále s námi – zdroje, mechanismy, účinky, minulost a budoucnost. *Planeta* 12(5).

Hruška J., Majer V., (1996). Retence antropogenní síry v půdách: faktor bránící okyselení šumavských povrchových vod. *Silva Gabreta* 1: 143–149.

Johnson D.W., (1984). Sulfur cycling in Forest. *Biogeochemistry* 1(1): 29–43.

- Johnson D.W., Cole D.W., (1977). Anion mobility in soils: relevance to nutrient transport from terrestrial to aquatic ecosystems. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Corvallis, Oregon, 1–28.
- Johnson D. W., Cole D. W., Gessel S. P., (1979). Acid precipitation and soil sulfate adsorption properties in a tropical and in a temperate forest soil. *Biotropica* 11(1): 38–42.
- Kaňa J., Kopáček J., (2005). Sulphate sorption characteristics of the Bohemian Forest soils. *Silva Gabreta* 11(1): 3–12.
- Kopáček J., Hejzlar J., Kaňa J., Porcal P., (2001). Faktory ovlivňující chemismus šumavských jezer. *Aktuality šumavského výzkumu*, 63–66.
- Kopáček J., Kaňa J., Šantrůčková H., Porcal P., Hejzlar J., Píček T. & Veselý J., (2002a). Physical, chemical, and biochemical characteristics of soils in watersheds of the Bohemian Forest lakes: I. Plešné Lake. *Silva Gabreta* 8: 43–66.
- Kopáček J., Stuchlík E., Veselý J., Schaumburg J., Anderson I.C., Fott J., Hejzlar J., Vrba J., (2002b). Hysteresis in reversal of Central European mountain lakes from atmospheric acidification. *Water, Air, and Soil Pollution* 2: 91–114.
- Kopáček J., Veselý J., (2005). Sulfur and nitrogen emission in the Czech Republic and Slovakia from 1850 till 2000. *Atmospheric Environment* 39: 2179–2188.
- Kopáček J., Vrba J., (2006). Integrated ecological research of catchment-lake ecosystems in the Bohemian Forest (Central Europe), a preface. *Biologia, Bratislava* 61 (20): 363–370.
- Mayer B & Krouse H.R., Fritz P., Prietzel J., Rehfuss K.E., (1993). Evaluation of biogeochemical sulfur transformations in forest soils by chemical and isotope data. In: *Tracers in Hydrology*. Edited by Peters N.E., Hoehn E., Leibundgut Ch., Tase N., Walling D.E. International Association of Hydrological Sciences 215: 65–72.
- McGill W.B., Cole C.V., (1981). Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma* 26: 267–286.
- Mitáš J., (2011). Využití elementární síry pro výživu rostlin. *Bakalářská práce*. Univerzita Pardubice, fakulta chemicko-technologická, katedra anorganické technologie, 41.
- Mitchell M.J., Mayer B., Bailey S.W., Hornbeck J.W., Alewell C., Driscoll C.T., Likens G.E., (2001). Use of stable isotope ratios for evaluating sulfur sources and losses at the Hubbard Brook Experimental Forest. *Water Air Soil Pollution* 130: 75– 86.
- Nodvin S.C., Driscoll C.T., Likens G.E., (1986). The effect of pH on sulfate adsorption by a forest soils. *Soil Science* 142(2): 69–75.
- Novák M., Botrell S.H., Fottova D., Buzek F., Groscheova H., Zak K., (1996). Sulfur isotope signals in forest soils of Central Europe along an air pollution gradient. *Environmental Science & Technology* 12: 3473–3476.
- Novák M., Kirchner J.W., Groscheová H., Havel M., Černý J., Krejčí R., Bůzek F., (2000): Sulfur isotope dynamics in two Central European watersheds affected by high atmospheric deposition of SO<sub>x</sub>. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 64(3): 367–383.

- Novák M., Jačková I., Přečková E., (2001). Temporal trends in the isotope signature of airborne sulfur in Central Europe. *Environmental. Science & Technology* 35: 255–260.
- Novák M., Kirchner J.W., Fottová D., Přečková E., Jacková I.J., Krám P., Hruška J., (2005). Isotopic evidence for processes of sulfur retention/release in 13 forested catchments spanning a strong pollution gradient (Czech Republic, central Europe). *Global Biogeochemical Cycles* 19.
- Prechtel A., Alewell C., Armbruster M., Bittersohl J., Cullen J. M., Evans C. D., Helliwell R., Kopáček J., Marchetto A., Matzner E., Meesenburg H., Moldan F., Moritz K., Veselý J., Wright R. F., (2001). Response of sulphur dynamics in European catchments to decreasing sulphate deposition. *Hydrology and Earth System Sciences* 5(3): 311–326.
- Rajan S.S.S., (1978). Sulfate adsorbed on hydrous alumina, ligands displaced, and changes in surface charge. *Soil Science Society of America Journal* 42(1): 39–44.
- Randlett D.R., Zak D.R., MacDonald N.W., (1992). Sulfate adsorption and microbial immobilization in northern hardwood forests along an atmospheric deposition gradient. *Canadian Journal of Forest Research* 22:1843-1850
- Rees C.E., Holt B.D., (1991). The Isotopic analysis of sulphur and oxygen. In: *Stable isotopes in the assessment of natural and anthropogenic sulphur in the environment*. Edited by Krouse H.R., Grinenko V.A. Scope 43. John Wiley and Sons, 43-64.
- Reuss J.O., Johnson D.W., (1986). *Acid Deposition and the Acidification of Soils and Waters*, first edition. Ecological studies 59. Springer, New York, 119.
- Scherer E.W., (2009). Sulfur in soil, review article. *Journal of Plant Nutrition*. *Soil Science* 172: 326–335.
- Stevenson F.J., Cole M.A., (1999). *Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*, second edition. John Wiley and Sons , 428
- Strickland T.C., Fitzgerald J.W., Swank W.T., (1984). Mobilization of recently formed forest soil organic sulfur. *Canadian Journal of Forest Research* 14: 63–67.
- Strickland T.C., Fitzgerald J.W., Ash J.T., Swank W.T., (1987). Organic sulfur transformations and sulfur pool sizes in soil and litter from a southern Appalachian hardwood forest. *Soil Science* 143:453–458.
- Swank W.T., Fitzgerald J.W., Ash J.T., (1984). Microbial transformation of sulfate in forest soils. *Science* 223: 182–184.
- Swank W.T., Fitzgerald J.W., Strickland T.C., (1984). Transformation of sulfur in forest floor and soil of a forest ecosystem, 137–145.
- Tabatabai M.A., (1992). Appendix: Methods of measurement of sulphur in soils, plant materials and waters. In: *Sulphur cycling on the continents: wetlands, terrestrial ecosystems, and associated water bodies*. Edited by Howarth R.W., Stewart J.W.B., Ivanov M.V. SCOPE 48. John Wiley, Chichester, 307–344.

Thode H.G., (1991). Sulphur isotopes in nature and the environment: an overview. In: Stable isotopes in the assessment of natural and anthropogenic sulphur in the environment. Edited by Krouse H.R., Grinenko V.A. SCOPE 43. John Wiley and Sons, 1–26.

Van Stempvoort D.R. van, Fritz P., Reardon E.J., (1992). Sulfate dynamics in upland forest soils, central and southern Ontario, Canada: stable isotope evidence. *Applied Geochemistry* 7(2): 159–175.

Vrba J., Kopáček J., Fott J., (2000). Long-term limnological research of the Bohemian Forest lakes and their recent status. *Silva Gabreta* 4: 7–28.

Watwood M.E., Fitzgerald J.W., (1988). Sulfur transformations in forest litter and soil: results of laboratory and field incubations. *Soil Science Society of America Journal* 52(5).

Watwood M.E., Fitzgerald J.W., Swank W.T., Blood E.R., (1988). Factors involved in potential sulfur accumulation in litter and soil from a coastal pine forest. *Biogeochemistry* 6: 3–19.

Odkaz 1: Ministerstvo životního prostředí. Legislativa a metodické pokyny [online], c2008–2012 [cit. 22.4.2012]. Dostupný z [www](http://www.mzp.cz/cz/legislativa_metodicke_pokyny_ovzdusi):  
< [http://www.mzp.cz/cz/legislativa\\_metodicke\\_pokyny\\_ovzdusi](http://www.mzp.cz/cz/legislativa_metodicke_pokyny_ovzdusi) >.

Odkaz 2: Ministerstvo životního prostředí. Protokoly přijaté v rámci Úmluvy o dálkovém znečištění ovzduší přesahujícím hranice států [online], c2008–2012 [cit. 22.4.2012]. Dostupný z [www](http://www.mzp.cz/cz/protokoly_clrtap): < [http://www.mzp.cz/cz/protokoly\\_clrtap](http://www.mzp.cz/cz/protokoly_clrtap) >.