

# **Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

## **Zemědělská fakulta**

Studijní program: N4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Agroekologie

Katedra: Katedra krajinného managementu

Vedoucí katedry: doc. Ing. Pavel Ondr, CSc.

Diplomová práce

# **Fotochemická transformace organicky vázaného dusíku v přírodních vodách**

Vedoucí práce: Ing. Petr Porcal, Ph.D

Konzultant: Ing. Jan Procházka, Ph.D

Autor: Bc. Iva Tomková

České Budějovice, 2013

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Iva TOMKOVÁ**  
Osobní číslo: **Z11625**  
Studijní program: **N4101 Zemědělské inženýrství**  
Studijní obor: **Agroekologie**  
Název tématu: **Fotochemická transformace organicky vázaného dusíku v přírodních vodách.**  
Zadávací katedra: **Katedra krajinného managementu**

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat literární rešerši problematiky fotochemické transformace organicky vázaného dusíku v přírodních vodách.
2. Provést modelové experimenty sledující kinetiku fotochemické degradace organicky vázaného dusíku.
3. Sledovat sezónní dynamiku organicky vázaného dusíku v přítoku do Plesného jezera.
4. Vyhodnocení získaných výsledků a diskuse potenciálního vlivu fotochemické přeměny organicky vázaného dusíku na vodní ekosystémy.


Rozsah grafických prací: 10 stran  
Rozsah pracovní zprávy: 40 stran textu  
Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická  
Seznam odborné literatury:

Pitter P. 1999, Hydrochemie, Vydavatelství VŠCHT, Praha, pp. 568  
Vähätalo A. V., Järvinen M. (2007): Photochemically produced bioavailable nitrogen from biologically recalcitrant dissolved organic matter stimulates production of a nitrogen-limited microbial food web in the Baltic Sea. *Limnol. Oceanogr.* 52(1), 132-143  
Sulzberger B., Durisch-Kaiser E. (2009): Chemical characterization of dissolved organic matter (DOM): A prerequisite for understanding UV-induced changes of DOM absorption properties and bioavailability. *Aquat. Sci.* 71, 104-12602  
Helbling E. W., Zagarese H. (Eds.): UV effects in aquatic organisms and ecosystems. The Royal Society of Chemistry 2003, Cambridge

Vedoucí diplomové práce: Ing. Petr Porcal, Ph.D.  
Katedra krajinného managementu  
Konzultant diplomové práce: Ing. Jan Procházka, Ph.D.  
Katedra krajinného managementu  
Datum zadání diplomové práce: 8. března 2012  
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2013

  
prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.  
děkan

L.S.

  
prof. Ing. Tomáš Kvítek, CSc.  
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 11. dubna 2012

Tomková I., 2013, Fotochemická transformace organicky vázaného dusíku v přírodních vodách [Photochemical transformation of organic nitrogen in natural waters], pp. 56, Faculty of Agriculture

### **Anotace**

Diplomová práce se zabývá fotochemickými přeměnami dusíku vázaného v organických sloučeninách v přítoku Plešného jezera. Práce zahrnuje sledování kinetiky fotochemických reakcí a sezónní dynamiku organicky vázaného dusíku.

Klíčová slova: Fotochemie, organický uhlík, organický dusík

### **Anotation**

This thesis assesses the possible photochemical transformations of nitrogen fixed in organic compounds. The aim of this study was to monitor the kinetics and seasonal trends in photochemical degradation of dissolved organic matter and nitrogen in the first order stream.

Keywords: Photochemistry, organic carbon, organic nitrogen

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že svoji diplomovou 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 diplomové práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích 26. dubna 2013

.....  
Bc. Iva Tomková

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu práce Ing. Petrovi Porcalovi, Ph.D, za odbornou pomoc, ochotu, trpělivost a čas strávený vedením práce. Poděkování patří i konzultantovi práce Ing. Janu Procházkovi, Ph.D, za jeho ochotu. Dále bych chtěla poděkovat celé své rodině, že mě podporovali po celou dobu studia a především při psaní diplomové práce. Další dík patří mým kamarádům, kteří mi byli vždy oporou.

## Obsah

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část .....	9
2.1. Organické látky v přírodních vodách.....	9
2.1.1. Barevné rozpuštěné organické látky .....	9
2.1.2. Organicky vázaný dusík.....	11
2.2. Fotochemie.....	11
2.2.1 Spektrum slunečního záření .....	11
2.2.2. Absorpce světla .....	14
2.2.3. Fotochemické reakce.....	15
2.3. Fotochemická transformace DOM.....	17
2.4. Fotochemická transformace organicky vázaného dusíku .....	19
2.5. Vliv fotochemických přeměn na ekosystém .....	20
3. Cíle práce .....	22
4. Materiál a metody .....	23
4.1. Popis studovaného místa.....	23
4.2. Odběr vzorků.....	23
4.3 Fotochemický experiment.....	24
4.4 Analýzy .....	25
4.4.1. Měření pH .....	25
4.4.2. Měření absorbance .....	25
4.4.3. Stanovení DOC .....	25
4.4.4. Stanovení organického dusíku .....	27
4.4.5. Stanovení amoniaku .....	29
4.5 Obsah CDOM .....	31
5. Výsledky .....	33
5.1. Průběh chemických parametrů během hydrologického roku 2011.....	33
5.1.1. Obsah CDOM .....	33
5.1.2. Koncentrace DOC .....	33
5.1.3. Hodnoty pH.....	34
5.1.4 Koncentrace DON .....	34
5.2. Fotochemický experiment a průběh změn .....	35
5.2.1. Změna absorbance.....	35

5.2.2. Změna koncentrace DOC .....	39
5.2.3. Změna hodnot pH.....	40
5.2.4. Změny koncentrace DON .....	41
5.3. Změny v průběhu hydrologického roku.....	43
5.3.2. Změny koncentrace DOC.....	43
5.3.3. Změny hodnot pH .....	44
5.3.4 Změna DON .....	45
6. Diskuse.....	48
7. Závěr .....	51
8. Literatura.....	52
Přílohy.....	57

# 1. Úvod

Fotochemické transformace mohou velmi výrazně ovlivňovat vodní ekosystémy. Většina přírodních povrchových vod v České republice obsahuje rozpuštěné organické látky (DOM) a má světle žlutohnědou až hnědou barvu. Barva vody je způsobena huminovými látkami, které absorbují sluneční záření v oblasti UV i viditelného záření. Absorpcí slunečního záření dochází k přeměně DOM, která je vizuálně pozorovatelná jako pokles barvy vody, tzv. photobleaching. Tento proces ovlivňuje průnik záření do vodního sloupce, což může mít vliv na celý vodní ekosystém.

Absorpcí slunečního záření huminovými látkami dochází k přímým i nepřímým fotochemickým změnám, kdy se z vysokomolekulárních rozpuštěných organických látek uvolňují nízkomolekulární organické látky (aminokyseliny, pyruvát), anorganické sloučeniny ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) a tato postupná fotochemická oxidace organických látek vede až k produkci oxidů uhlíku ( $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ). Tyto látky jsou lehce mikrobiálně rozložitelné nebo jsou asimilovány primárními producenty.

Diplomová práce je zaměřena na fotochemické transformace organicky vázaného dusíku v přírodních vodách. Touto problematikou se zabývaly již některé studie v odborné literatuře, ale většina z nich byla prováděna s mořskou vodou a nebo byla prováděna pouze v letním období. Tato práce zkoumá fotochemické transformace rozpuštěných organických látek a organického dusíku ve vzorcích vody z lesního potoka, přítok do Plešného jezera na Šumavě. Tato práce se významně odlišuje od předchozích prací tím, že se zabývá celým hydrologickým rokem 2011.

Cílem této práce bylo vyhodnotit sezónní dynamiku organicky vázaného dusíku ve vodě a zhodnotit potenciální vliv jeho fotochemické přeměny a posoudit možné vlivy na vodní ekosystémy.



## **2. Teoretická část**

### **2.1. Organické látky v přírodních vodách**

Přírodní organické látky tvoří veškerý organický materiál ve vodě, půdě nebo sedimentu vytvořený z aktivit rostlin nebo živočichů v přirozeném prostředí. Za rozpuštěné organické látky (DOM- z angl. dissolved organic matter) je považována ta část organické hmoty, která prochází filtrem o velikosti pórů 0,45  $\mu\text{m}$  (Thurman, 1985, Brezonik a Arnold, 2011). Podíl, který se zachytí na filtru je označován jako partikulovaný organický materiál (POM – z angl. particulate organic matter) (Thurman, 1985). Pro vyjadřování koncentrace DOM se obecně používá koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC – z angl. dissolved organic carbon), jehož množství v DOM závisí na oxidačním stavu a ve většině případů tvoří DOC 30-50 % hmotnostních DOM (Brezonik a Arnold, 2011). Celkový obsah uhlíku (TOC – z angl. total organic carbon) ve vodě je dán součtem rozpuštěného a partikulovaného organického uhlíku (POC – z angl. particulate organic carbon) (Thurman, 1985).

Rozpuštěné organické látky ve vodách představují jednu z největších zásob organického uhlíku v biosféře (Kowalczyk et al., 2003) a reprezentují značnou část celkového organického uhlíku nacházejícího se ve vodních ekosystémech od sladkovodních jezer po otevřenou moře (Osburn et al., 2001). Thurman (1985) uvádí, že v jezerech tvoří většinu DOC (90%) a 10% je tvořeno POC. Celková koncentrace DOM, měřená jako koncentrace DOC, se v řekách a jezerech nachází v rozsahu od 1 do 10  $\text{mg l}^{-1}$ , zatímco sladkovodní mokřady, bažiny a rašeliniště mohou mít koncentraci DOC kolem 10- 60  $\text{mg l}^{-1}$ . Mořské a podzemní vody mají podstatně nižší koncentrace DOC, v rozsahu mezi 0,5 až 0,7  $\text{mg l}^{-1}$  (Thurman, 1985; Osburn a Morris, 2003). Koncentrace POC je obecně desetkrát nižší a v jezerech se pohybuje jen kolem 0,2 - 0,8  $\text{mg l}^{-1}$  (Thurman, 1985).

#### **2.1.1. Barevné rozpuštěné organické látky**

Součástí DOM jsou barevné rozpuštěné organické látky (CDOM z angl. chromophoric or colored dissolved organic matter), které absorbují světlo a jsou zodpovědné za obvykle žluté až hnědé zabarvení vody (Brezonik a Arnold, 2011). CDOM absorbuje kromě viditelného záření i UV záření (Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009; Helms et al., 2008).

Zdroje CDOM ve vodním ekosystému se rozdělují na 2 kategorie, allochtonní a autochtonní. Allochtonní zdroje CDOM představují zdroje uhlíku z jiného než vodního ekosystému, které se do něho dostávají vyplavováním nebo odtokem z půdy. Jedná se o terestrické zdroje organického materiálu a produkty biologického rozkladu tohoto materiálu (Brezonik a Arnold, 2011; Zepp, 2003), jako je lignin, taniny a flavonoidy (Osburn a Morris, 2003). Autochtonní zdroje CDOM pocházejí z organického materiálu produkovaného uvnitř vodního ekosystému. Tento materiál je převážně produkovan makrofyty (Osburne a Morris, 2003), řasami, bakteriemi (McKnight, 2001) a často je označován jako „mikrobiální“ CDOM (Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009; Zepp, 2003; McKnight, 2001; Mc Knight, 1997; Bertilsson a Tranvik, 2000). Rozdíly v původu DOM, kombinované s rozdílnou transformací během transportu, mohou vést k výrazně jinému chování autochtonního a allochtonního DOM (Porcal et al., 2004; Findlay a Sinsabaugh, 2003, Zepp, 2003).

Chemicky je CDOM obvykle charakterizován jako vodní huminové látky (huminové kyseliny a fulvokyseliny) kvůli přítomnosti četných dvojitých vazeb a aromatických, aldehydových a ketonových skupin (Osburn a Morris, 2003, Wetzel, 2003). Vodní huminové látky jsou organické kyseliny o molekulové hmotnosti 500 až 10000 Da, které byly definovány na základě hydrofóbních skupin a dále rozděleny na huminové kyseliny a fulvokyseliny podle jejich rozpustnosti při nízkém pH (Thurman, 1985, Pitter, 1999). Základní strukturální jednotkou huminových látek jsou polycyklické aromatické sloučeniny s bočními alifatickými řetězci a hydrofilními skupinami vázanými na jádře nebo i na postranním řetězci (Pitter, 1999). Jedná se o směs různých látek, které lze jen těžko identifikovat. Díky žlutohnědému zbarvení huminových látek lze určit jejich obsah ve vodě, protože barva koreluje s obsahem huminových látek (Hautala et al, 2000). Huminové látky tvoří největší část rozpuštěného organického materiálu, 30- 60 % DOM, ve většině přírodních vod (Bushaw et al., 1996). Elementární složení huminových látek je 50 % hmotnostních uhlíku, 4-5 % vodíku, 35- 40 % kyslíku, 1 % dusíku a do 0,5 % fosforu (Thurman, 1985). Pitter (1999) uvádí, že koncentraci huminových látek je možné získat vynásobením koncentrace DOC ( $\text{mg l}^{-1}$ ) dvěma, protože huminové látky obsahují přibližně 50 % uhlíku. Chemické parametry CDOM jsou různé podle zdroje CDOM, například sladkovodní allochtonní CDOM má vyšší molekulovou hmotnost a více aromatických skupin než mořský CDOM (Osburn, Morris, 2003).

DOM je významným potenciálním zdrojem energie, uhlíku a dalších nezbytných prvků pro mikroorganismy (Steinberg, 2003, Jørgensen et al., 1998, Tranvik et al., 1999). Pouze malá část DOM v přírodních vodách je dostupná pro mikrobiální využití, většina DOM zůstává odolná mikrobiální degradaci (Jørgensen et al., 1998)

### **2.1.2. Organicky vázaný dusík**

V jezerních vodách představují fulvokyseliny 85 – 90 % celkových huminových látek a huminové kyseliny 10 - 15 % (Thurman, 1985). Obsah dusíku ve fulvokyselinách je 0,9 % v huminových kyselinách je 2 %. Obecně je obsah dusíku v huminových kyselinách dvakrát větší než ve fulvokyselinách. Poměr C:N v jezerních a říčních vodách je 47:1 u fulvokyselin a 18:1 u huminových kyselin (Thurman, 1985). Obecně je poměr C:N v huminových látkách vysoký a dostupnost dusíku pro mikroorganismy je velmi nízká, protože nemohou získat dostatečné množství dusíku z huminových látek pro svůj růst (Steinberg, 2003). Je tedy nepravděpodobné, že by huminové látky mohly dodávat dusík do bakteriálního potravního řetězce v dostatečném poměru k uhlíku (Bushaw et al., 1996). Proces, který může přispět k biologické dostupnosti rozpuštěného organického dusíku (DON – z angl. dissolved organic nitrogen) pro mikroorganismy, je fotochemický rozklad DOM vedoucí k uvolnění původně organicky vázaného dusíku (Koopmans a Bronk, 2002, Moran a Zepp, 1997).

Kromě těžko dostupného dusíku obsaženého v huminových látkách se v přírodních vodách vyskytuje biologicky dostupný rozpuštěný dusík. Ten se skládá se z rozpuštěného anorganického dusíku (DIN – z angl. dissolved inorganic nitrogen) (amoniak, dusitany a dusičnany) a organických monomerů (aminokyseliny) a polymerů jako jsou peptidy a nukleové kyseliny, které mohou být hydrolyzovány na využitelné monomery (Vähätalo a Järvinen, 2007; Rabalais, 2002).

## **2.2. Fotochemie**

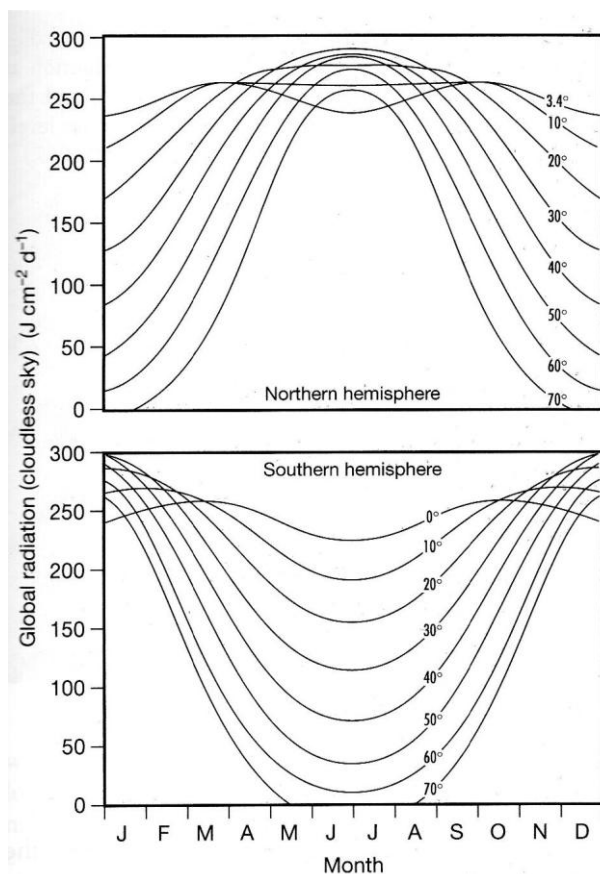
### **2.2.1 Spektrum slunečního záření**

Obecně platí, že sluneční záření (světlo) je nejdůležitějším zdrojem energie pro ekosystémy a fotosyntéza je nejdůležitějším počátečním procesem v toku energie. Vznikající organické látky jsou univerzálním nosičem potenciální energie

uvnitř ekosystému a jejich variabilní formy zahrnují živé organismy (biomasu), mrtvé partikulované látky (detritus) a DOM (Lampert a Sommer, 2007).

Sluneční záření zahrnuje široké spektrum vlnových délek. Vlnové délky přivádějící značnou energii ze Slunce se rozšiřují od 100 až po 3000 nm (Kalff, 2002). Z toho pouze 3 % tvoří UV záření v rozsahu 100 – 400 nm, zbytek tvoří viditelné neboli fotosyntetické záření o vlnových délkách 400 – 700 nm a infračervené záření v rozsahu 700 – 3000 nm (Kalff, 2002). Záření vysílané k Zemi je ovlivněno tím, že prochází zemskou atmosférou. Existuje mnoho faktorů, které ovlivňují záření dopadající na zemský povrch, jako například stav atmosféry (jasná, čistá, oblačná, znečištěná), pozice na Zemi (nadmořská výška a zeměpisná šířka) a roční období (relativní pozice Země vůči slunci) (Blumthaler a Webb, 2003). Změna množství sluneční energie v závislosti na ročním období a na zeměpisné šířce je znázorněna na obrázku 1.

Téměř veškeré UV-C záření (pod 280 nm) je absorbováno stratosférickým ozónem a vodou ve vodním ekosystému (Kalff, 2002). Ačkoliv relativně malé množství vysoce energetického UV-B záření (280-320 nm) prochází stratosférou je toto záření důležité jako fotoaktivační činitel ve vodě. UV-A záření (320-400 nm) mající méně energie než UV-B je atmosférou absorbováno méně a proniká hlouběji do vody (Wetzel, 2003).



Obr. 1. Roční variabilita záření dosahujícího zemského povrchu během jasného dne (převzato z Kalff, 2002)

Sluneční UV záření na povrchu Země (280- 400 nm) má rozsáhlý vliv na biologické a chemické procesy, které ovlivňují cykly prvků ve vodním ekosystému. Interakcí UV záření s DOM dochází k dekompozici UV- absorbujících látek, hlavně CDOM (Zepp, 2003). Tímto způsobem může záření působit jako urychlovač mikrobiálních procesů, protože zvyšuje dostupnost komplexních organických látek pro mikroorganismy a dokončuje fotolýzu a oxidaci organických makromolekul a jejich složek na CO<sub>2</sub> a ostatní anorganické formy živin (Wetzel, 2003).

Světlo vykazuje vlastnosti vln i částic a poskytuje energii pro chemické a fyzikální reakce. Vlnová teorie může být použita k popsání šíření světla skrz různá média, kde v opticky rozdílných prostředích může docházet k lomu nebo odrazu světla v závislosti na podmínkách (např. rozhraní vzduch – voda) (Osburn a Morris, 2003). Předávání energie světlem lépe popisuje částicová představa světla. Energie fotonu  $E$ , kvantum světla, se počítá s použitím Planckova vztahu, kde energie fotonů je nepřímo úměrná jejich vlnové délce:

$$E = h \cdot \nu = h \cdot c / \lambda$$

kde  $h$  je Planckova univerzální konstanta ( $6,63 \cdot 10^{-34} \text{ J s}^{-1}$ ),  $\nu$  je frekvence a  $c$  je rychlost světla  $3 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$  (Kalff, 2002, Burgess, 2007). Tento vztah je důležitý, protože nám dovoluje kvantifikovat světelnou energii dopadající na zemský povrch a povrch přirozených vod na základě světelného spektra. Pro potřeby popsání množství světla byla zavedena jednotka 1 Einstein =  $6,023 \cdot 10^{23}$  fotonů nebo 1 mol fotonů (Osburn a Morris, 2003).

### 2.2.2. Absorpce světla

Nejdůležitějším krokem ve fotochemii je absorpce světla chemickými látkami. Celá fotochemie je řízena molekulární excitací, která nastává po absorpci světla (Osburn a Morris, 2003). Absorbance znamená absorbování fotonů, kdy elektronový obal získá energii a elektrony se ze základního stavu dostanou do tzv. excitovaného stavu. Jedna molekula může absorbovat pouze jeden foton (Zepp, 2003). Elektrony v excitovaném stavu mají nadbytek energie a musí dojít k jejímu uvolnění a navrácení do základního stavu. K uvolnění energie dojde vnitřní přeměnou, přechodem energie uvnitř systému, případně vyzáření energie ze systému, fluorescence nebo fosforescence. Může také docházet k přesunu excitovaného elektronu do molekuly receptoru, která se stává excitovanou a podléhá dalším chemickým reakcím (Osburn a Morris, 2003).

Absorpce slunečního světla přírodních vod je dána obsahem DOM, hlavně CDOM (Ferrari et al., 1996, Wetzel, 2003). Absorpce CDOM se snižuje přibližně exponenciálně s rostoucí vlnovou délkou s nejvyššími hodnotami v oblasti UV a krátkovlnného viditelného světla (Osburn a Morris, 2003, Zepp, 2003, Brezonik a Arnold, 2011). Zlogaritmované hodnoty absorpčního koeficientu v závislosti na čase jsou lineární a ukazují, že pokles absorbance, tzv. photobleaching, je možné popsat kinetickou rovnicí prvního řádu (Gao a Zepp, 1998).

Absorpce UV světla molekulami DOM závisí na elektronové struktuře molekul. Konjugované systémy v aromatických látkách absorbují nejvíce v UV oblasti (200 – 380 nm). Specifická UV- absorbance CDOM při 254 nm ( $SUVA_{254}$ ), definovaná jako podíl absorbance vodního vzorku při 254 nm v jednocentimetrové kyvetě a koncentrace DOC, koreluje s obsahem aromatických sloučenin v DOM (Weishaar et al., 2003). Měření  $SUVA_{254}$  se proto používá pro odhad obsahu

aromatických sloučenin v DOM. Vyšší hodnoty absorbance indikují přírodní znečištění huminovými látkami nebo průmyslové znečištění aromatickými látkami (Pitter, 1999). Samotné hodnoty absorbance neposkytují žádné informace o charakteristice DOM, jako je její chemické složení, zdroj a diagenese, proto se pro její charakterizaci používají hodnoty sklonů spektrální křivky (S). Porovnáním  $S_{275-295}$  a  $S_{350-400}$  (sklonů spektrální křivky v daném rozmezí vlnových délek) je možné odhadnout terestrický nebo autochtonní původ DOM. Při ozařování dochází k posunu sklonu spektrálních křivek,  $S_{275-295}$  se obecně zvyšuje s ozařováním a  $S_{350-400}$  se snižuje (Helms et al. 2008).

Fotochemické reakce vedoucí k změnám DOM jsou pozorovatelné jako pokles absorbance, tzv. photobleaching. Tento pokles je viditelný i pouhým okem jako ztráta barvy (Steinberg, 2003, Osburn a Morris, 2003, Sulzberger a Durish-Kaiser, 2009) a je doprovázený poklesem koncentrace DOC (Gao a Zepp, 1998) a rozštěpením aromatických jader (Steinberg, 2003). Photobleaching je výsledkem fotochemického rozkladu DOM a je často doprovázený poklesem molekulární hmotnosti DOM (Brinkmann et al., 2003). Rychlost photobleachingu závisí na různých faktorech jako je intenzita a vlnové délka slunečního záření (Del Vecchio a Blough, 2002, Gao and Zepp, 1998), salinita a přítomnost železa (Minor et al., 2006, Gao a Zepp, 1998), pH (Brinkmann, 2003), doba zdržení vody a rozsah stratifikace (Del Vecchio a Blough, 2002).

Ztráta absorbance při fotochemickém rozkladu DOM je obvykle vyšší při delších vlnových délkách, což vede ke zvýšení sklonu spektrální křivky S (Del Vecchio a Blough, 2002, Helms et al., 2008, Moran et al., 2000). Relativní změna absorbance není rovnoměrně rozložena do celého spektra, ale vykazuje maximum při 345 nm. Další maximum je při 225 nm a minimum při 250 nm. To naznačuje, že barevná část DOM je selektivně měněna nebo rozkládána během záření (Brinkmann, 2003).

### **2.2.3. Fotochemické reakce**

Prvním a nezbytným krokem ve fotochemických reakcích je absorpce fotonů, je proto nutné, aby organická látka absorbovala světlo v UV nebo viditelné oblasti (Brezonik a Arnold, 2011). Absorpce energie fotonů DOM může vést k několika typům fotofyzikálních (vnitřní přeměna, fluorescence a fosforescence) a

fotochemických reakcí. Kromě přímých chemických reakcí z absorpce energie fotonů se mohou excitované látky účastnit nepřímých chemických reakcí (Osburn a Morris, 2003).

### **2.2.3.1. Přímé fotochemické reakce**

Přímým fotochemickým reakcím mohou podléhat jen látky, které samy absorbují záření. Těmto látkám se říká chromofory (Pitter, 1999) a jsou to látky s delokalizovaným  $\pi$ -elektronovým systémem, který se nachází v aromatickém jádře nebo konjugovaných dvojných vazbách. Tyto látky se dostávají do excitovaného stavu, absorpcí jednoho fotonu (Steinberg, 2003), a podléhají degradaci na menší polymery. U aromatických sloučenin dochází k otevření jádra a vzniku alifatických sloučenin. Fotochemickou degradací vznikají také menší organické sloučeniny a anorganické sloučeniny, jako oxid uhličitý  $\text{CO}_2$  (Osburn a Morris, 2003).

Rychlost přímé fotochemické transformace DOM je lineárně závislá na dekadickém absorpčním koeficientu  $a_{(\lambda)}$ , který závisí na koncentraci a absorpčních vlastnostech DOM (Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009).

### **2.2.3.2. Nepřímé fotochemické reakce**

Při nepřímé fotochemické reakci dochází k přenosu energie z elektronově excitované částice, tzv. fotosenzibilizátoru, na molekuly látek, které samy záření neabsorbují. Ve vodách mezi fotosenzibilizátory patří huminové látky (Pitter, 1999). Nepřímé fotochemické reakce zahrnují mnoho rozdílných fotoprocusů, ale obecně lze říci, že začínají absorpcí světla a končí finálním produktem po vícenásobných reakcích. Jako fotosenzibilizátory mohou kromě huminových látek sloužit i další rozpuštěné organické i anorganické sloučeniny (Osburn a Morris, 2003). Tyto sloučeniny jsou příjemci excitovaného elektronu od molekuly, která se dostala do excitovaného stavu díky absorpci fotonu. Tento přenos je důležitý, protože umožňuje reagovat i sloučeninám, které nemohou podstoupit přímou fotochemickou reakci. Takto může vznikat například alkylový radikál  $\text{R}\cdot$ , kyslíkový  $\text{O}_2\cdot^-$  (Brezonik a Arnold, 2011) a hydroxylový radikál ( $\cdot\text{OH}$ ) (Gao a Zepp, 1998), které mají krátkou dobu života a dále reagují s dalšími molekulami za vzniku jiných radikálů, až nakonec vznikne fotochemický produkt (Zepp, 2003).



Meziprodukty, které jsou produkovány fotochemicky z DOM, jako je singletový kyslík, peroxidový radikál a kyslíkový radikál jsou daleko méně reaktivní a více selektivní než  $\cdot\text{OH}$  (Del Vecchio a Blough, 2002). V kyselých vodách bohatých na organiku a železo mohou photo-Fenton reakce vést k tvorbě hydroxylových radikálů, které budou dominovat (Brinkmann, 2003).

### **2.3. Fotochemická transformace DOM**

Biologická dostupnost DOM značně závisí na původu, chemickém složení a změnách DOM. Transformace DOM vyvolané UV zářením mohou zvyšovat i snižovat biologickou dostupnost DOM v závislosti na počáteční biologické dostupnosti a následných cestách transformace. Změny biologické dostupnosti DOM způsobené UV zářením mohou velmi významně ovlivnit mikrobiální mineralizaci (Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009).

Fotochemickým rozkladem DOM jsou vytvářeny stabilní fotoprodukty jako rozpuštěný anorganický uhlík, oxidy uhlíku ( $\text{CO}$  a  $\text{CO}_2$ ) (Gao a Zepp, 1998) a nízkomolekulární organické sloučeniny (Moran a Zepp, 1997). Tyto organické sloučeniny jsou označovány jako karbonylové sloučeniny a jsou to mastné kyseliny nebo ketokyseliny. Většina z nich obsahuje 3 a méně atomů uhlíku a má molekulovou hmotnost do 100 Da, ačkoliv velikost molekul může být do 6 atomů. Fotochemicky se uvolňuje acetát, citrát, mravenčan, levulinát, pyruvát a další nepojmenované kyseliny (Wetzel et al., 1995). Nízkomolekulární organické sloučeniny tvoří většinu zajímavých, biologicky dostupných fotoproduktů. Existují ale ještě další produkty, které mohou mít vliv na biologickou aktivitu. Jsou to anorganické oxidy uhlíku, vytvořené fotochemicky z DOM, oxid uhelnatý  $\text{CO}$  a uhličitý  $\text{CO}_2$ , ostatní formy anorganického uhlíku a karbonyl sulfid  $\text{COS}$ . Oxid uhelnatý může být využit skupinou chemoautotrofních bakterií a být potenciálně zdrojem mikrobiální energie v osvětlených vodách. Příjem chemolitotrofních bakterií je jednou z možných cest ztráty  $\text{CO}$  z vodního prostředí, další cestou je rychlé vytěkání do atmosféry z povrchových vod (Moran a Zepp, 1997).

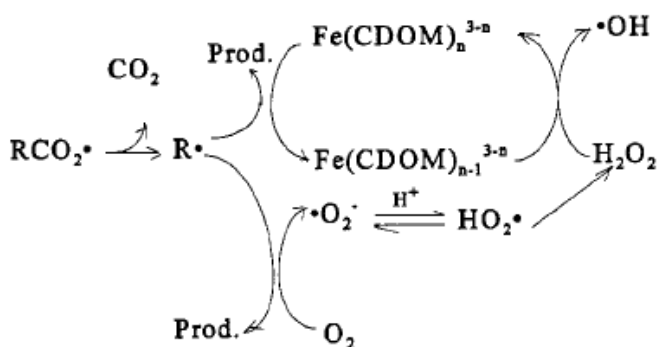
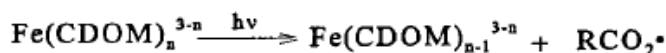
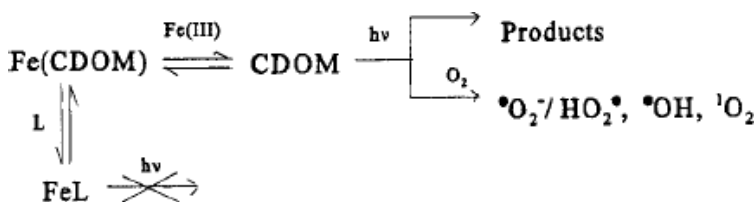
Kromě tvorby jednoduchých identifikovatelných nízkomolekulárních fotoproduktů vznikají transformací DOM po ozáření slunečním světlem ještě další organické látky, které ale nejsou chemicky identifikovatelné (Moran a Zepp, 1997).

Tyto fotoprodukty se staly ozářením biologicky dostupnými a proto je možná jejich asimilace mikroorganismy (Miller a Moran, 1997).

Mezi nejdůležitější fotochemické produkty patří biologicky dostupné, uvolněné sloučeniny dusíku a fosforu (Moran a Zepp, 1997).

### Vliv železa

Několik studií naznačuje, že fotochemický rozklad CDOM na DIC je katalyzován železem (Gao a Zepp, 1998, Sulzberger a Durish-Kaiser, 2009). Tato katalýza zahrnuje oxidaci DOM se současnou redukcí Fe<sup>III</sup> na Fe<sup>II</sup> (Brinkmann, 2003) a následovanou reoxidací Fe<sup>II</sup> na Fe<sup>III</sup> kyslíkem a dalšími oxidanty (Gao a Zepp, 1998). Schématický popis reakcí, které následují po ozáření vody s kyslíkem a železem jsou na obr. 2.



Obr. 2. Schéma fotooxidační reakce, která nastává ve vodě s obsahem CDOM a Fe.  $h\nu$  znamená záření, FeL představují silné komplexní ligandy (převzato z Gao a Zepp, 1998)

Přímá fotolýza CDOM produkuje různé fotoprodukty stejně jako reaktivní formy kyslíku, které se mohou účastnit sekundárních reakcí, které transformují CDOM. S přítomností železa mohou být fotochemické reakce CDOM urychleny a to jak přímou fotolýzou Fe-CDOM karboxylovým komplexem, kdy změna náboje v komplexu ligand- kov má za výsledek tvorbu Fe<sup>II</sup> a polykarboxylového radikálu,

který dekarboxyluje na volné karboxylové meziprodukty a nebo reakcí mezi volnými radikálovými meziprodukty a Fe komplexy, které pak mohou být redukovány z Fe III na FeII a transformovány méně reaktivními formami kyslíku jako je kyslík v reaktivních oxidantech např. hydroxylových radikálech. Hydroxylový radikál je účinný oxidant, který může dál oxidovat CDOM na DIC a další produkty (Gao a Zepp, 1998, Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009)

Oxidační ztráta DOM reakcí s fotochemicky produkovaným radikálem  $\cdot\text{OH}$  je nejvyšší při pH 4 a stále ještě významná při pH 7. Fotooxidace DOM radikály  $\cdot\text{OH}$  je závislá na pH, reakce jsou spojeny s photo-Fenton systémem, který je nejdůležitější při pH 4 a při pH vyšším než 5 se jeho význam snižuje (Molot et al. 2005).

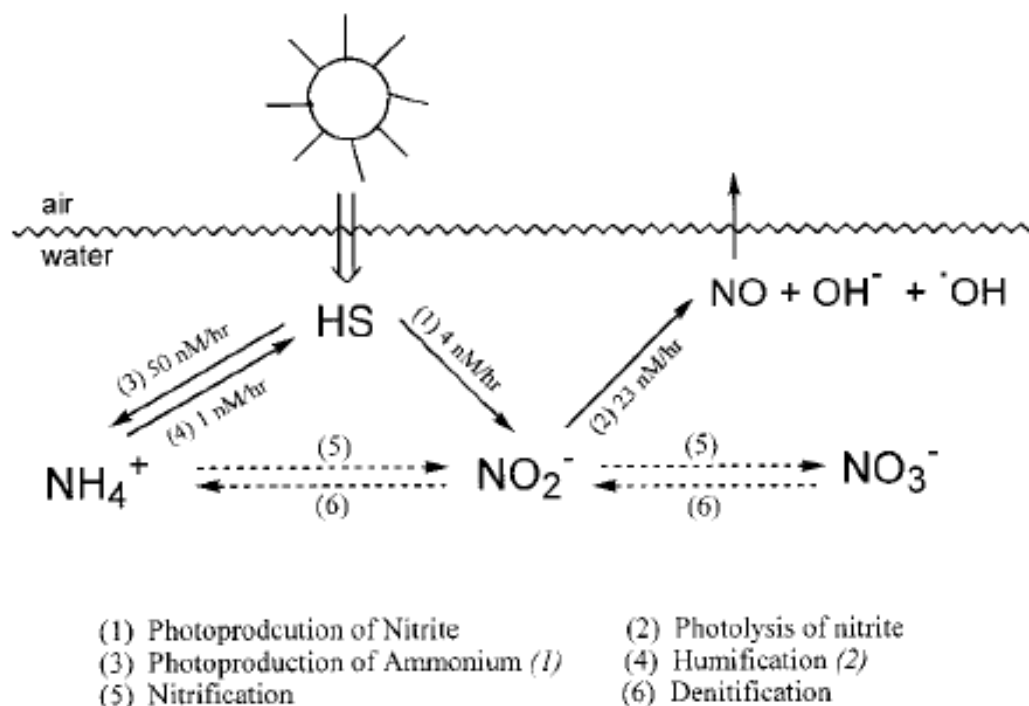
#### **2.4. Fotochemická transformace organicky vázaného dusíku**

U ekosystémů limitovaných dusíkem byl pozorován nárůst dostupného dusíku pro mikroorganismy po osvětlení slunečním světlem. To naznačuje, že fotochemické procesy přetvářejí organicky vázaný dusík na dusík dostupný pro mikroorganismy (Bushaw et al., 1996). Dusík se z DOM může fotochemicky uvolňovat jako amoniak (Bushaw et al., 1996, Wang et al., 2000, Koopmans a Bronk, 2002), aminokyseliny a močovina (Jørgensen et al., 1998, Tarr et al., 2001) a dusitany (Kieber et al., 1999).

Fotoprodukce amoniaku je závislá na koncentraci DON. Frakce s nízkou molekulovou hmotností do 1 kDa jsou více fotolabilní než frakce vysokomolekulární nad 1kDa (Steinberg, 2003). Mechanismus fotochemického uvolnění aminokyselin popsal Wang et al. (2000). Uvolněné aminokyseliny jsou následně předmětem dalšího rozkladu na amoniak díky silnému UV záření a dlouhotrvající expozici (Steinberg, 2003).

Uvolňování amoniaku je dvou nebo několika stupňový proces, následovaný jednou nebo více temnými reakcemi (Wang et al., 2000). Jeden mechanismus probíhá přes hydroxyl radikálový meziprodukt a pokračuje ve tmě přes rozklad fotochemicky produkovaného peroxidu  $\text{H}_2\text{O}_2$  na formu hydroxylových radikálů. Kromě hydroxyl radikálové cesty může probíhat také dráha nezávislá na hydroxylových radikálech (Steinberg, 2003).

Produkce dusitanů z DOM závisí na koncentraci DOM a na době expozice světlu. Fotochemická produkce dusitanů je menší než fotolýza dusičnanů a mnohem menší než uvolňování amoniaku z huminových látek (Kieber et al., 1999). Kvantitativní vztah vzniku dusíkatých fotoproduktů je vidět na obrázku (Obr. 3).



Obr. 3. Model zobrazující fotochemicky řízený proces zahrnující vzájemnou přeměnu huminových látek a nitritů v přírodních vodách (převzato z Kieber et al., 1999)

V dusíkem limitovaných podmínkách se uvolněním dusíkatých meziproduktů z organických látek zvýší rychlost bakteriálního růstu. Fotoprodukty bohaté na dusík jsou pravděpodobně nejvíce důležité v pobřežních oceánech a ostatních ekosystémech, kde je plankton limitovaný dusíkem a koncentrace DOM absorbujících světlo je vysoká (Bushaw et al., 1996).

## 2.5. Vliv fotochemických přeměn na ekosystém

Pronikání slunečního záření do vodního ekosystému je kontrolováno převážně CDOM (Leavitt et al., 2003). Zvýšené UV záření může ovlivnit rovnováhu mezi biologickými procesy (produkce organických látek) a chemickými a biologickými procesy (rozklad organických látek) (Zepp et al., 1998). Sluneční UV

záření je příčinou poklesu koncentrace CDOM a zvyšuje tak průnik záření hlouběji do vodního sloupce (Osburn a Morris, 2003). Zároveň absorpce záření CDOM brání pronikání UV záření do vody, působí jako jakýsi deštník. V alpinských vodních ekosystémech s nízkou koncentrací DOM, je expozice UV záření limitujícím faktorem. UV-B záření inhibuje aktivitu bakterií a poškozuje DNA planktonu (Jeffrey et al., 1996) a především záření UV-A inhibuje fotosyntézu fytoplanktonu v horním metru vodního sloupce (Sommaruga, 2001). Nejcitlivější jsou mělká alpská jezera, zvláště v místech, kde chybí vegetace v oblasti povodí (Steinberg, 2003).

Fotochemické přeměny silně ovlivňují biogeochemické cykly biologicky významných prvků, jako je uhlík, dusík, fosfor a síra. Po ozáření DOM dochází k uvolnění biologicky dostupných organických sloučenin a minerálních živin. Ty jsou zabudovány primárními producenty do biomasy a dochází ke zvýšení primární produkce. Nízkomolekulární organické látky jsou mikrobiálně rozkládány, což vede k bakteriálnímu růstu (Zepp et al., 1998) a zvýšení množství mixotrofních a heterotrofních organismů (De Lange et al., 2003). Prostup světla v mokřadech, barevných řekách a jezerech je velmi limitován, proto je produkce většiny biologicky dostupných DOM fotoproduktů omezena na horní metr vodního sloupce. (Moran a Zepp, 1997)

### **3. Cíle práce**

Cílem této práce bylo vyhodnotit sezónní dynamiku organicky vázaného dusíku ve vodě a zhodnotit potenciální vliv jeho fotochemické přeměny na vodní ekosystémy.

1. Provést modelové experimenty sledující kinetiku fotochemické degradace organicky vázaného dusíku.
2. Sledovat sezónní dynamiku organicky vázaného dusíku v přítoku do Plešného jezera.
3. Vyhodnocení získaných výsledků a diskuse potenciálního vlivu fotochemické přeměny organicky vázaného dusíku na vodní ekosystémy.

## 4. Materiál a metody

### 4.1. Popis studovaného místa

Plešné jezero na Šumavě se nachází v nadmořské výšce 1090 m. Jezero je ledovcového původu a doba zdržení vody je přibližně 1 rok. Je dimiktické a oligo- až mezotrofní, s anoxií v hypolimniu během období zimní a letní stratifikace (Kopáček et al., 2001). Plocha jezera je 7,5 ha a maximální hloubka 18 m. Povodí jezera má velikost 66,6 ha včetně jezera.

Podloží je tvořeno žulou a většina povodí je pokryta tenkou vrstvou lesního humusu. Z půd jsou zde kyselé podzoly s obsahem železa a s nízkou hladinou vápníku a draslíku a nesaturovaným sorpčním komplexem (Kopáček et al., 2000).

Jezero je antropogenně acidifikované atmosférickou kyselou depozicí, která měla svůj vrchol v 80. letech 20. století (Kopáček et al., 1998). Přestože se jezero v posledních desetiletích zotavuje z acidifikace, má stále ještě kyselé přítoky s pH kolem 4,5. Nyní je jezero bez ryb, makrozooplankton je rozptýlený a je tvořen pouze 2 druhy korýšů s nízkou hustotou. Z fytoplanktonu jsou dominantní pouze druhy zelených řas, obrněnek a sinic tolerující kyselé prostředí (Hejzlar et al., 1998).

Jezero má 3 pravidelně sledované povrchové přítoky (PL- I, PL-II a PL-III) a jeden podpovrchový (PI-IV) (Kopáček et al., 2001). Chemismus přítoku PL-I je dlouhodobě sledován. Má výrazné sezónní trendy v koncentracích  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ , které jsou 2-3 krát vyšší během zimních měsíců od prosince do května než během vegetační sezóny. Koncentrace organických aniontů dosahuje minima v zimě a zvyšuje se v létě a na podzim (Kopáček et al., 2000). Průměrné koncentrace DOC v tomto přítoku se pohybují kolem  $11,3 \text{ mg.l}^{-1}$  a průměrné koncentrace rozpuštěného organického dusíku kolem hodnoty  $360 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ . Hodnota pH přítoku PL- 1 je kolem 4,3 (Kopáček et al., 2003).

### 4.2. Odběr vzorků

Práce byla provedena v hydrologickém roce 2011, tedy od listopadu 2010 do října 2011 a dále byl proveden ještě dodatečný odběr v březnu 2012. Vzorky byly odebírány z přítoku PL-I ve třítydenních intervalech. Vzorky vody byly odebírány do 20 l PET lahví, které byly předtím vypláchnuty demineralizovanou vodou a vzorkem.

Vzorek byl na místě filtrován skrz 40  $\mu\text{m}$  nylonové sítko, aby došlo k případnému zachycení hrubého detritu, který by mohl ve vodním vzorku být. Tyto lahve byly obaleny alobalem, aby se zabránilo proniknutí slunečního záření do lahví. Lahve byly přepraveny do laboratoře.

V laboratoři byla voda filtrována přes filtr ze skleněných vláken (Macherey Nagel, Německo) s porozitou 0,4  $\mu\text{m}$  a uchovávána v 20 l v PET lahvi obalené alobalem v chladícím boxu při 4°C. Z této vody pak byla odebírána voda na jednotlivé fotochemické pokusy.

### ***4.3 Fotochemický experiment***

Ozařování bylo prováděno v ozařovacím komorovém reaktoru RAYONETT – RMR 100, The Southern New England Ultraviolet Company, USA. Tento reaktor je vybavený RPR 3500 A lampou, vydávající záření v UV-A oblasti s maximem 350 nm. Intenzita záření uvnitř reaktoru byla 68 W m<sup>-2</sup> (Porcal et al., 2010) a teplota uvnitř reaktoru byla 25-35°C.

Nejprve byla voda odebrána do PET lahvíček, které byly označeny jako start a nebyly ozařovány. V těchto vzorcích byla stanovena počáteční hodnota pH, koncentrace DOC a DON ve vodě.

Poté byla voda odebrána do 3 křemenných baněk o objemu 500 ml, které byly předem vypláchnuty demineralizovanou vodou a vzorkem. Po uzavření byly křemenné baňky umístěny do ozařovacího reaktoru a byly ozařovány UVA zářením o vlnové délce 350 nm. Dále byla odebrána voda do 200 ml PET lahve, která byla obalena alobalem, aby se do lahve nedostalo sluneční záření. Tato láhev byla označena jako neozařovaný kontrolní vzorek (blank) a byla položena na přístroj, aby měla stejnou teplotu jako ozařovaná voda. Takto byly vzorky ozařovány po dobu 6 hodin. Po 6 hodinách byly vzorky z křemenných baněk přelity do PET lahvíček a společně s neozařovaným kontrolním vzorkem dány do chladničky a uchovány pro další analýzy.

Podle stejného postupu byly ozařovány další vzorky vody jako nezávislé triplikáty po dobu 12, 18, 24, 36 a 48 hodin a pokaždé byla 1 lahvička označena jako neozařovaný kontrolní vzorek, aby bylo možné sledovat závislost fotochemických změn na čase a zároveň mít ve stejném prostředí kontrolní neozařované vzorky.



## **4.4 Analýzy**

Poté co byly všechny vzorky ozářeny, byly měřeny hodnoty pH, absorbance, koncentrace DOC, koncentrace organického dusíku a amoniaku.

### **4.4.1. Měření pH**

Hodnota pH byla měřena na přístroji Tacussel, Francie. Tento přístroj byl nejprve kalibrován pufrů o pH 4 a 7. Dále bylo provedeno měření jednotlivých vzorků a naměřené hodnoty byly zapisovány a ukládány do souboru.

### **4.4.2. Měření absorbance**

Absorbance byla měřena na přístroji Specord 210, Analytik Jena, Německo. V tomto přístroji se nachází kyveta o délce 4 cm, kterou prochází záření o dané vlnové délce. Přístroj byl nejprve zapnut a nastaven na měření absorbance od 200 do 800 nm. Dále byl přístroj zkalibrován destilovanou vodou a byla ještě měřena absorbance vody pro kontrolu kalibrace. Dále byla měřena absorbance jednotlivých vzorků. Na závěr byla měřena znovu destilovaná voda, abychom se ujistili, že přístroj měřil přesně. Hodnoty absorbance pro jednotlivé vzorky byly zaznamenány a uloženy do tabulky v programu Excel. Z těchto naměřených a uložených hodnot absorbance byl v tomto programu vypočítán absorpční koeficient a sklony spektrálních křivek.

### **4.4.3. Stanovení DOC**

Stanovení uhlíku ve vodě bylo pomocí analyzátoru SHIMADZU, model TOC 5000A, Japonsko. Celkový organický uhlík (TOC) byl stanoven jako NPOC (netěkavý organický uhlík), po okyselení vzorku na pH 2–3 a vybubláním anorganického uhlíku IC (z angl. inorganic carbon) ve formě CO<sub>2</sub>, pomocí katalytické oxidace na Pt katalyzátoru za teploty 680 °C s IČ detekcí.

#### **4.4.3.1. Činidla pro stanovení DOC**

Nejprve byla připravena činidla pro stanovení DOC. Kyselina trihydrogenfosforečná H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (25%) byla připravena zředěním 147 ml 85 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> p.a. destilovanou vodou na 0,5 litru. Tato kyselina je označována jako IC činidlo. Hydrogenftalát draselný (KHF) byl standardním roztokem pro stanovení DOC. Jeho zásobní roztok (DOC = 100 mg l<sup>-1</sup>) byl připraven rozpuštěním 0,212 g KHF, vysušeného při 120 °C do konstantní hmotnosti, v redestilované vodě a přidáním

2 ml koncentrované  $\text{H}_3\text{PO}_4$  p.a. pro konzervaci a doplněním redestilovanou vodou do 1 l. Kalibrační roztok ( $\text{DOC} = 5 \text{ mg l}^{-1}$ ) byl připraven z 10 ml zásobního roztoku a doplněním do objemu 200 ml redestilovanou vodou. Dále byl připraven roztok HCl smísením 8,84 ml 35% HCl a doplněním do 100 ml redestilovanou vodou.

#### 4.4.3.2. Postup stanovení DOC

Po přípravě činidel byl otevřen ventil na připojené tlakové lahvi se syntetickým vzduchem a byl zapnut přístroj, na kterém byl nastaven průtok nosného plynu na  $150 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Poté se připravily vzorky, 5 ml vzorku bylo napipetováno do zkumavky, která byla předem vymytá destilovanou vodou a vyžíhaná při  $500^\circ\text{C}$  po dobu 2 hodin. Tyto zkumavky se vzorky byly poté vloženy do podavače vzorků. Před vzorky v podavači bylo zařazeno 5 slepých stanovení a 2 standardy hydrogenftalátu draselného ( $5 \text{ mg l}^{-1}$ ) a ještě jedno slepé stanovení. Za vzorky v podavači byly zařazeny další 3 slepé vzorky a 2 standardy. Protože se stanovoval NPOC bylo nutné odstranit anorganický uhlík ve formě  $\text{CO}_2$  a to okyselením na pH 2-3. Okyselení bylo provedeno přidáním  $75 \mu\text{l}$  HCl ( $41,54 \text{ g l}^{-1}$ ) a to bylo provedeno automaticky po nastavení přístroje. Do otvoru pro automatické okyselení byla dána širší zkumavka s roztokem HCl ( $41,54 \text{ g l}^{-1}$ ) a podavač vzorků byl přikryt poklopem. Dále byla zapnuta pec a zkontrolováno nastavení přístroje ke stanovení NPOC, tak aby před samotným stanovením vzorků nadávkoval do každé zkumavky roztok HCl na okyselení vzorků. Po ustálení teploty pece na  $680^\circ\text{C}$ , bylo možné začít stanovení. Průběh analýzy se zobrazoval na obrazovce a výsledky byly ukládány do programu TOCLINK. Po ukončení analýzy byla pec automaticky vypnuta, ale ještě půl hodiny musel běžet větrák přístroje, aby se přístroj nepřehřál. Poté byl analyzátor vypnut a byl uzavřen ventil na kyslíkové lahvi. Nakonec byl vyjmut podavač zkumavek, který se propláchnul destilovanou vodou a byl usušen. Zkumavky byly také propláchnuté destilovanou vodou a připravené na další stanovení.

#### 4.4.3.3. Výpočet koncentrace DOC

Koncentrace DOC ( $\text{mg l}^{-1}$ ) byla vypočtena ze záznamu programu TOCLINK. Pro výpočet byly použity hodnoty naměřených ploch píků. Pro výpočet koncentrace DOC byl použit výpočet podle vzorce:

$$\text{DOC (mg. l}^{-1}\text{)} = (A_V - A_S) \times C_{St} / (A_{St} - A_S) \cdot R \cdot D$$

kde:  $A_V$  - naměřená plocha odpovídající vzorku

$A_S$  - naměřená plocha odpovídající průměrné hodnotě slepých stanovení

$A_{St}$  - naměřená plocha odpovídající průměrné hodnotě standardů

$C_{St}$  - koncentrace standardu ( $5 \text{ mg l}^{-1}$ )

R - range (rozsah měření, pro vzorky do cca  $10 \text{ mg l}^{-1}$  DOC je roven jedné, pro vyšší koncentrace se při měření automaticky přepne na 5 (resp. 30), kde plocha píku odpovídá  $5\times$  (resp.  $30\times$ ) vyšší koncentraci uhlíku)

D - ředění vzorku ve zkumavce před analýzou.

#### 4.4.4. Stanovení organického dusíku

Organický dusík byl ve vodě stanoven jako rozdíl mezi dusíkem podle Kjeldahla (N-org +  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) a amoniakovým dusíkem. Kjeldahlský dusík byl stanoven ve vzorcích mineralizovaných koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  za teplot blízkých varu a za katalytického účinku  $\text{Hg}^{2+}$ . Takto se uvolnil dusík vázaný v organických látkách ve formě  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ . Poté se vzorek zalkalizoval a destiloval vodní parou v Parnas-Wagnerově přístroji. K destilátu bylo přidáno Nesslerovo činidlo, které reagovalo v silně alkalickém prostředí s ionty  $\text{NH}_4^+$  a vznikla žlutohnědá komplexní sloučenina, jejíž koncentrace byla spektrofotometricky stanovena při 428 nm (Procházková, 1960).

##### 4.4.4.1. Výpočet koncentrace dusíku ve vzorku

Koncentrace N v původním vzorku ( $C_N$ , [ $\text{mg ml}^{-1}$ ]) se vypočetla podle vzorce:

$$C_N = (A_V / A_{ST}) \times (V_{ST} \times C_{ST}) / V_V$$

kde:  $A_V$  a  $A_{ST}$  - absorbance vzorku a průměrné hodnoty standardu snížené o průměrnou hodnotu absorbance slepého stanovení

$V_{ST}$  je původní objem (ml)

$C_{ST}$  koncentrace (N  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) standardního roztoku  $\text{NH}_4\text{Cl}$  použitého k mineralizaci

$V_V$  je objem vzorku (ml).

Koncentrace DON se pak vypočítala jako rozdíl Kjeldahlského dusíku a  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  stanoveného bis-pyrazolonovou metodou.

#### 4.4.4.2. Příprava činidel pro stanovení organického dusíku ve vodách

Před samotným stanovením byla připravena činidla. Standardní roztok chloridu amonného byl připraven rozpuštěním 0,1909 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  p.a. vysušeného při  $105\text{ }^\circ\text{C}$  a doplněním do 500 ml ( $100\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ ). Jeho desetinásobným naředěním byl získán pracovní roztok, který obsahoval v 1 ml  $10\text{ }\mu\text{g N}$ .

Dále byl připraven hydroxid draselný ( $600\text{ g l}^{-1}$ ) rozpuštěním 600 g KOH v 1litru redestilované vody a po přidání varných kamének se vařil dokud se objem roztoku nezmenší pod 1000 ml. Po zchladnutí se roztok doplní do 1000 ml.

Chlorid sodný ( $100\text{ g l}^{-1}$ ) byl připraven rozpuštěním 10,0 g NaCl p.a. v redestilované vodě a doplněním do 100 ml. Thiosíran sodný ( $400\text{ g l}^{-1}$ ) se připravil rozpuštěním 40 g  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  p.a. v redestilované vodě, doplněním do 100 ml a přefiltrováním přes pečlivě promytý filtr ze skleněných vláken kvůli odstranění nečistot, popř. koloidní síry.

Hydroxid sodný ( $270\text{ g l}^{-1}$ ) byl připraven rozpuštěním 27,0 g NaOH p.a. v 140 ml redestilované vody a po přidání varných kamének se vařil dokud se objem roztoku nezmenšil pod 100 ml. Po zchladnutí se roztok doplnil do 100 ml.

Nesslerovo činidlo ( $\text{K}_2\text{HgI}_4$ ) bylo připraveno rozpuštěním 24,0 g KI v minimálním množství redestilované vody a přidáním 36,5 g  $\text{HgI}_2$ . Po rozpuštění se roztok doplnil do 100 ml.

#### 4.4.4.3. Postup stanovení organického dusíku

Do jedné 50-ml Kjeldahlovy baňky bylo napipetováno 25 ml vzorku (ozářené vody), 1 ml roztoku NaCl ( $100\text{ g l}^{-1}$ ) a 1 ml koncentrované  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a do druhé byl ještě navíc přidán vnitřní standard chloridu amonného  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , který obsahoval  $10\text{ }\mu\text{g.ml}^{-1}$ . Vzorek se poté zahříval až do odpaření vody na elektrické spalovací píce. Po odpaření vody se vzorek mineralizoval při teplotě blízké bodu varu koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  15 minut a po přidání kapičky rtuti mikropipetou ( $0,01\text{ g Hg}$ ) dalších 30 min. Po spalování probíhala destilace vzorku.

Před samotnou destilací vzorku bylo nutné Parnas-Wagnerovův destilační přístroj vyčistit oddestilováním 100 ml vody z alkalického prostředí KOH ( $600\text{ g l}^{-1}$ ). Před destilací se vzorek v Kjeldahlově baňce naředil 10 ml redestilované vody a kvantitativně se převedl do Parnas-Wagnerova přístroje, do kterého bylo předem odměřeno 5,5 ml roztoku KOH ( $600\text{ g l}^{-1}$ ). Kjeldahlova baňka se ještě 2-3x vypláchla 5 ml redestilované vody a poté se do přístroje přidal 1 ml roztoku  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  ( $400\text{ g l}^{-1}$ ). Nakonec se nálevka přístroje opláchla redestilovanou vodou, přístroj se uzavřel a

zahájila se destilace. Studený destilát se jímá do 50 ml odměrných baněk. Po oddestilování celé série se vzorky zalkalizovaly 0,8 ml roztoku NaOH ( $270 \text{ g l}^{-1}$ ) a po důkladném promíchání se přidalo 0,1 ml Nesslerova činidla ( $\text{K}_2\text{HgI}_4$ ). Obsah baňky se opět promíchal a po 30 minutách se měřila absorbance při 428 nm proti destilované vodě.

Na začátku každé série se stanovovala dvě slepá stanovení (5 ml redestilované vody) a dva standardy (slepé stanovení + 1 ml pracovního standardního roztoku (roztok chloridu amonného  $\text{NH}_4\text{Cl}$  o koncentraci  $10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ )). Pak následovaly neznámé vzorky a ty samé vzorky s přidavkem vnitřního standardu.

Koncentrace organického dusíku byla z důvodu malého objemu ozařovaných vzorků stanovena pro smíchané vzorky. Koncentrace organického dusíku byla měřena dvakrát.

#### **4.4.5. Stanovení amoniaku**

Amoniakový dusík byl stanovován reakcí s "chloraminem T" (sodná sůl p-toluensulfochloramidu) při pH 5,5 - 6 na dichloramin ( $\text{NHCl}_2$ ). Ten při pH 10 - 10,5 reagoval s bis-pyrazolonem (3,3-dimethyl-5,5-dioxo-1,1-diphenyl-(4,4-bi-2-pyrazolin)) na kyselinu rubazonovou. Vedlejší produkt reakce, pyrazolonová modř byla obarvena adiční reakcí s monopyrazolonem (3-methyl-5-oxo-1-phenyl-2-pyrazolin). Červenofialová disociovaná forma kyseliny rubazonové byla stanovena fotometricky ve vodném roztoku při 550 nm (Kopáček a Procházková, 1993).

##### **4.4.5.1. Činidla pro stanovení amoniaku bis-pyrazolonovou metodou**

Před samotným stanovením byla připravena činidla. Standardní roztok chloridu amonného byl připraven rozpuštěním 0,1909 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  p.a. vysušeného při  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  a doplněním do 500 ml redestilovanou vodou. Jeden ml tohoto roztoku obsahoval  $100 \text{ } \mu\text{g N}$ . Jeho stonásobným naředěním byl získán pracovní roztok, který obsahoval  $1 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ .

Citrát-fosfátový pufr s pH 5,8 byl připraven smísením 400 ml 0,1 molárního roztoku kys. citronové ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ;  $21,014 \text{ g l}^{-1}$ ) s 600 ml 0,2 molárního roztoku hydrogenfosforečnanu disodného ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $35,60 \text{ g l}^{-1}$ ). Dalšími přidavky těchto roztoků bylo upraveno výsledné pH pufru na 5,8. Roztok se poté konzervoval několika kapkami chloroformu.

Roztok "chloraminu T" byl připraven rozpuštěním 0,8 g "chloraminu T" v redestilované vodě a doplněním do 100 ml.

Alkalický roztok bis-pyrazolonu byl připravován ze 100 ml 0,25 molárního roztoku uhličitanu sodného ( $26,5 \text{ g l}^{-1} \text{ Na}_2\text{CO}_3$ ) zahřátím právě k varu a přidáním 0,2 g bis-pyrazolonu (3,3-dimethyl-5,5-dioxo-1,1-diphenyl-(4,4-bi-2-pyrazolin)). Po rozpuštění se roztok ochladil.

Roztok monopyrazolonu byl připraven rozpuštěním 1 g monopyrazolonu (3-methyl-5-oxo-1-phenyl-2-pyrazolin) v 500 ml vroucí redestilované vody a ochlazením na teplotu místnosti.

#### 4.4.5.2. Postup stanovení amoniaku

Do zábrusových zkumavek, vymytých pečlivě destilovanou vodou, byla nejprve zařazena 2 slepá stanovení, kdy do zkumavek byla napipetována redestilovaná voda, a 2 standardy. Dále byly zařazeny neznámé vzorky s přidavkem vnitřního standardu. Do zábrusových zkumavek bylo napipetováno po 10 ml vzorku. Pak se přidal 1 ml redestilované vody nebo vnitřního standardu  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( $1 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ ) a 1 ml citrát-fosfátového pufru o pH 5,8. Po přidání pufru byly zkumavky uzavřeny a důkladně se promíchaly několikanásobným obracením. Poté se přesně v 15-ti sekundových intervalech přidávalo 0,5 ml roztoku "chloraminu T" ( $8 \text{ g l}^{-1}$ ) a každá zkumavka se ihned uzavřela a znovu promíchala. Přesně 5 minut po přidání chloraminu se opět v 15-ti sekundových intervalech přidával 1 ml alkalického roztoku bis-pyrazolonu a opět se obsah každé zkumavky ihned promíchal. Po dalších 5 minutách se v 15-ti sekundových intervalech přidávaly 2 ml roztoku monopyrazolonu ( $2 \text{ g l}^{-1}$ ) a každá zkumavka se ihned promíchala. Po dalších 20 minutách se obsah zkumavek opět promíchal a odečetla se absorbance při 550 nm ve 2-cm kyvetách proti redestilované vodě.

#### 4.4.5.3. Výpočet koncentrace amoniaku

Koncentrace  $\text{NH}_4\text{-N}$  se vypočte pomocí vnitřních standardů (nebo vnějších standardů snížených o hodnotu slepého stanovení) a z korigovaných absorbancí vzorků (A) (korekce na zákal):

$$A = A_I - A_{IO} - (A_{II} - A_{IIO})$$

kde:  $A_I$  ( $A_{II}$ ) je absorbance vzorku s chloraminem (bez chloraminu) a  $A_{IO}$  ( $A_{IIO}$ ) je absorbance slepého stanovení s chloraminem (bez chloraminu). Výpočet koncentrace amoniaku byl proveden podle stejné rovnice jako výpočet  $C_N$  v kapitole 4.4.4.1.

## 4.5 Obsah CDOM

Absorbance byla měřena spektrofotometrem a vyjádřena jako dekadický logaritmus intenzity světla dopadajícího na vzorek  $I_0$  a světla transmittovaného systémem I:

$$\text{Absorbance} = \log_{10} (I_0/I)$$

Podle Lambert-Beerova zákona platí vztah pro absorbanci:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

kde  $A$  je absorbance,  $\varepsilon$  je molární absorpční koeficient ( $\text{mol}^{-1} \text{l m}^{-1}$ ),  $l$  je tloušťka vrstvy vody v kyvetě (m) a  $c$  je molární koncentrace ( $\text{mol l}^{-1}$ ) (Pitter, 1999, Brezonik a Arnold, 2011).

Absorpční koeficient byl spočítán podle následující rovnice:

$$a_\lambda = 2.303A_\lambda / l$$

kde  $a$  je absorpční koeficient  $a_\lambda$  ( $\text{m}^{-1}$ ) při dané vlnové délce ( $\lambda$ ),  $A$  je absorbance a  $l$  je tloušťka vrstvy vody v kyvetě (m) (Zepp, 2003, Helms, 2008).

Sklon spektrální křivky se získá proložením exponenciální křivky daným intervalem vlnových délek (Twardowski et al., 2004, Helms et al., 2008):

$$a_\lambda = a_{\lambda_{ref}} \cdot e^{-S(\lambda - \lambda_{ref})}$$

kde  $a_\lambda$  je absorpční koeficient ( $\text{m}^{-1}$ ),  $a_{\lambda_{ref}}$  je absorpční koeficient při referenční vlnové délce a  $S$  je sklon spektrální křivky ( $\text{nm}^{-1}$ ). Porovnáním  $S_{275-295}$  a  $S_{350-400}$  je možné zjistit, zda se jedná o terestrické nebo mořské vzorky. Terestrické vzorky mají  $S_{275-295}$  menší než  $S_{350-400}$ . Tyto sklony spektrálních křivek vykazují stálý posun při ozařování,  $S_{275-295}$  se obecně zvyšuje s ozařováním a  $S_{350-400}$  se snižuje. Dále se počítá poměr směrnic ( $S_R$ ) jako poměr  $S_{275-295}$  ku  $S_{350-400}$ . Ten se s ozařováním zvyšuje (Helms et al. 2008). Sklon spektrální křivky pro intervaly 300 – 700 nm ( $S_{300-700}$ ), 275 – 295 nm ( $S_{275-295}$ ) a 350-400 nm ( $S_{350-400}$ ) byl určen proložením exponenciální křivky daným intervalem

Pokles absorpčního koeficientu během ozařování je dán rovnicí kinetiky prvního řádu:

$$a_\lambda = a_{0\lambda} \cdot e^{-k_\lambda \cdot E}$$

kde  $a_\lambda$  je absorpční koeficient po ozařování,  $a_{0\lambda}$  je absorpční koeficient v originálním vzorku,  $k_\lambda$  je rychlost kinetiky prvního řádu při dané vlnové délce a  $E$  je kumulativní

energie záření (Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009). Rychlost kinetiky byla počítána v programu Microsoft Excel z vypočítaných zlogaritmovaných hodnot absorpčního koeficientu po proložení lineární spojnice trendu a určení rovnice regrese. Tento program vypočítal i hodnotu spolehlivosti  $R^2$ .

Podobně může být vyjádřena kinetika změn uhlíku během ozařování:

$$DOC_E = DOC_0 \cdot e^{-k_{DOC}E}$$

kde  $DOC_E$  je koncentrace po ozařování kumulativní energií  $E$ ,  $DOC_0$  je počáteční koncentrace DOC ( $\text{mg l}^{-1}$ ) a  $k_{DOC}$  je rychlostní konstanta fotochemického rozkladu ( $\text{m}^2 \text{ MJ}^{-1}$ ). Rychlostní konstanta fotochemického rozkladu DOC byla vypočítána z grafů závislosti  $\ln(DOC/DOC_0)$  na čase. Průběh reakce podle rovnice kinetiky prvního řádu je zobrazen přímkou se směrnicí  $-k$ . Tato hodnota byla vypočítána jako kinetika absorpčního koeficientu v programu Excel. Stejně byla počítána i kinetika organického dusíku.

Poločas reakce prvního řádu je dán vztahem:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k}$$

kde  $t_{1/2}$  je poločas rozpadu a  $k$  je rychlostní konstanta fotochemického rozkladu. Tento poločas nám udává, za jak dlouho klesne počáteční koncentrace látky na polovinu.

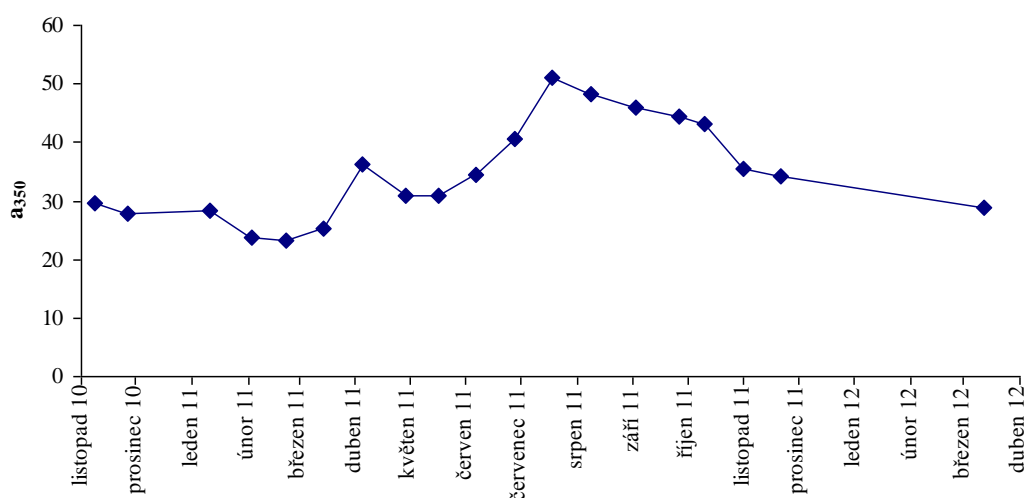


## 5. Výsledky

### 5.1. Průběh chemických parametrů během hydrologického roku 2011

#### 5.1.1. Obsah CDOM

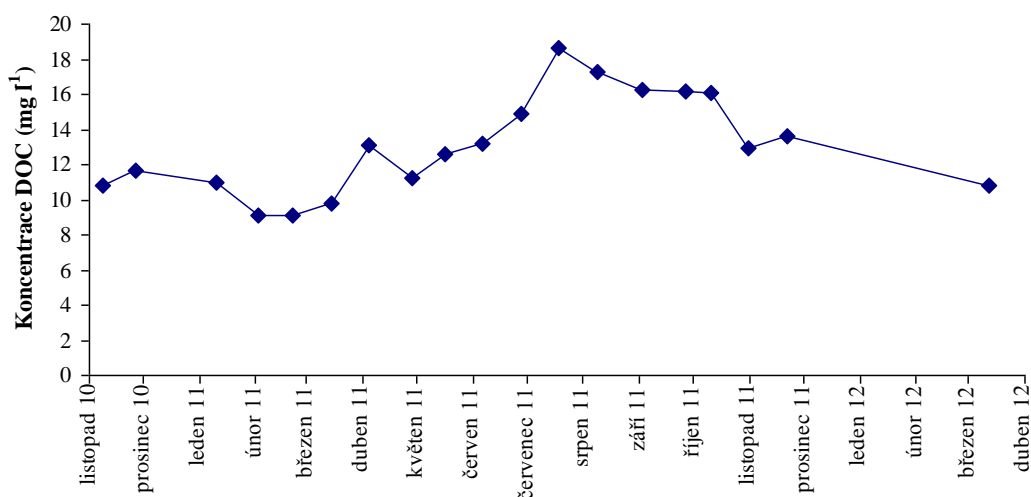
Obsah barevných (chromoforních) organických látek ve vodě přítoku PL-1 se měnil během hydrologického roku. Na obrázku č. 4 jsou zobrazeny počáteční hodnoty absorpčního koeficientu při 350 nm v průběhu hydrologického roku.



Obr. 4. Hodnoty absorpčního koeficientu při 350 nm v průběhu hydrologického roku 2011

#### 5.1.2. Koncentrace DOC

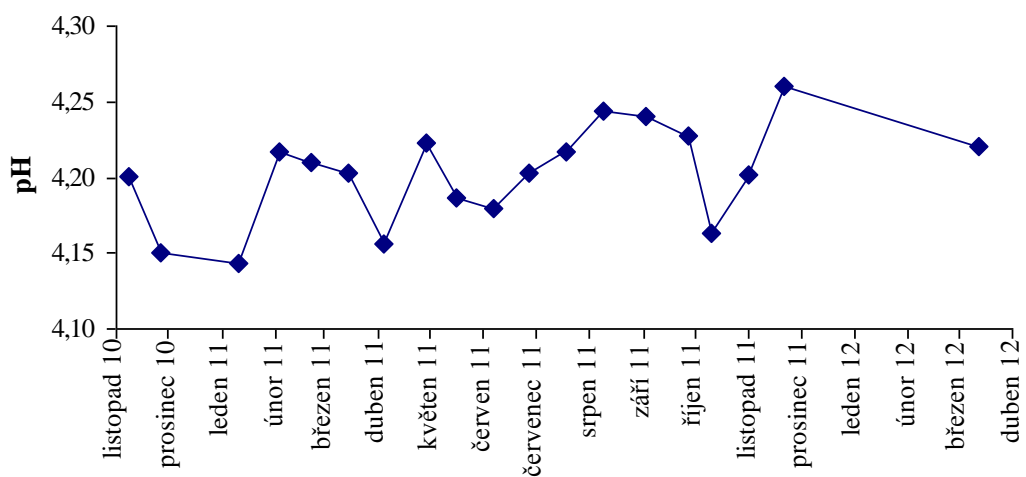
Počáteční koncentrace DOC v přítoku Pl-1 se pohybovaly od 9,1 do 18,5 mg l<sup>-1</sup>. Nejvyšší koncentrace DOC byly naměřeny v létě a nejnižší koncem zimy, v únoru a březnu. Sezónní trend koncentrace DOC je zobrazen na obrázku č. 5.



Obr. 5. Počáteční koncentrace DOC v PI- 1 během hydrologického roku 2011

### 5.1.3. Hodnoty pH

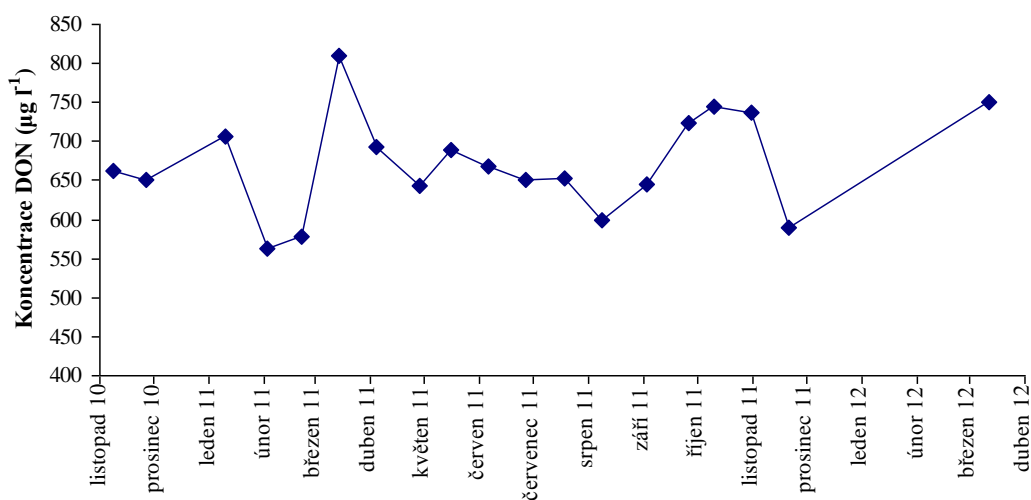
Hodnoty pH nezařovaných vzorků se během hydrologického roku pohybovaly od 4,1 do 4,3. Sezónní průběh pH je zobrazen na Obr. 6.



Obr. 6. Počáteční hodnoty pH během hydrologického roku

### 5.1.4 Koncentrace DON

Počáteční hodnoty koncentrace organického dusíku se pohybovaly od 563 do 810  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Nejvyšší koncentrace byla naměřena v březnu a nejnižší v únoru. Obrázek 7 představuje průběh sezónních změn počáteční koncentrace DON v přítoku PL-1 do Plešného jezera.



Obr. 7. Počáteční koncentrace DON během hydrologického roku 2011

## 5.2. Fotochemický experiment a průběh změn

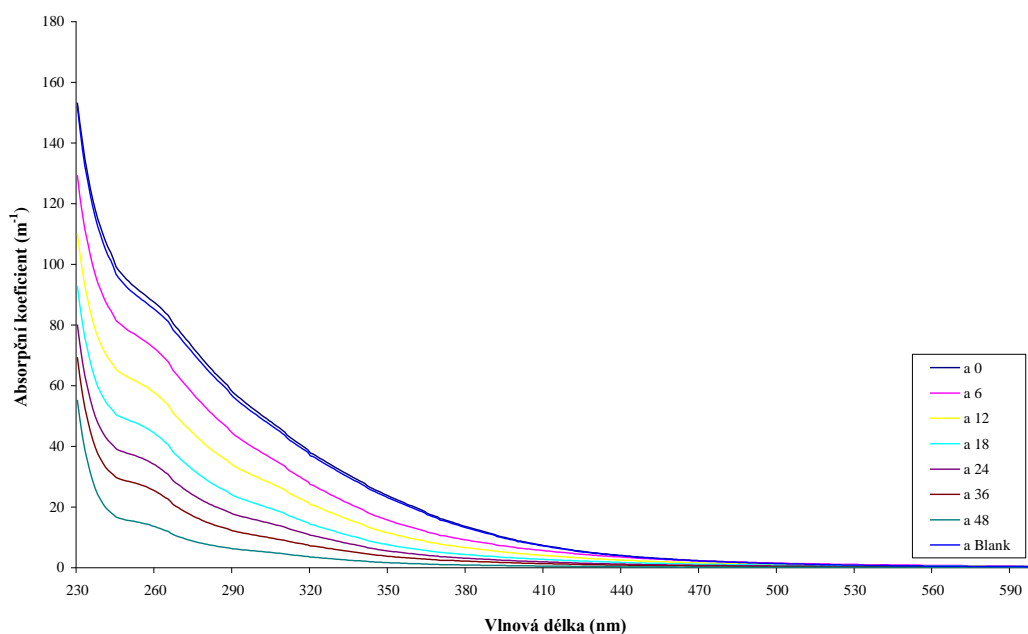
Všech 19 fotochemických experimentů vycházelo velmi podobně a proto je ve výsledcích prezentován jen jeden pokus s vodou odebranou 2.2.2011. Ostatní naměřené hodnoty byly dány do tabulky a jsou součástí přílohy.

### 5.2.1. Změna absorpance

Absorbance byla měřena u všech vzorků v rozmezí vlnových délek 200 – 800 nm. Vzorky byly ozařovány v nezávislých triplikátech a ve výsledcích je počítáno s průměry naměřených hodnot absorpance. V grafech není zobrazeno celé rozmezí měřených absorpancí, protože mezi 700 – 800 nm jsou hodnoty blízké nule.

Absorbance jednotlivých vzorků klesala s dobou ozařování vzorků. Pokles absorpance byl zřejmý i při pouhém pohledu na vzorky, kdy byla vidět postupná ztráta barvy s dobou ozařování vzorků. S tím souvisí často používaný pojem „photobleaching“, který nám naznačuje, že dochází ke snížení absorpance v UV a viditelné oblasti spektra.

Z naměřených hodnot absorpance byl vypočítán absorpční koeficient a jeho průměrné hodnoty v závislosti na vlnové délce byly vyneseny do grafu (obr. 8). Z tohoto grafu je zřejmé, že s dobou ozařování klesají hodnoty absorpčních koeficientů. Hodnoty absorpčních koeficientů neozařovaných kontrolních vzorků byly velice shodné s počátečními neozařovanými vzorky.



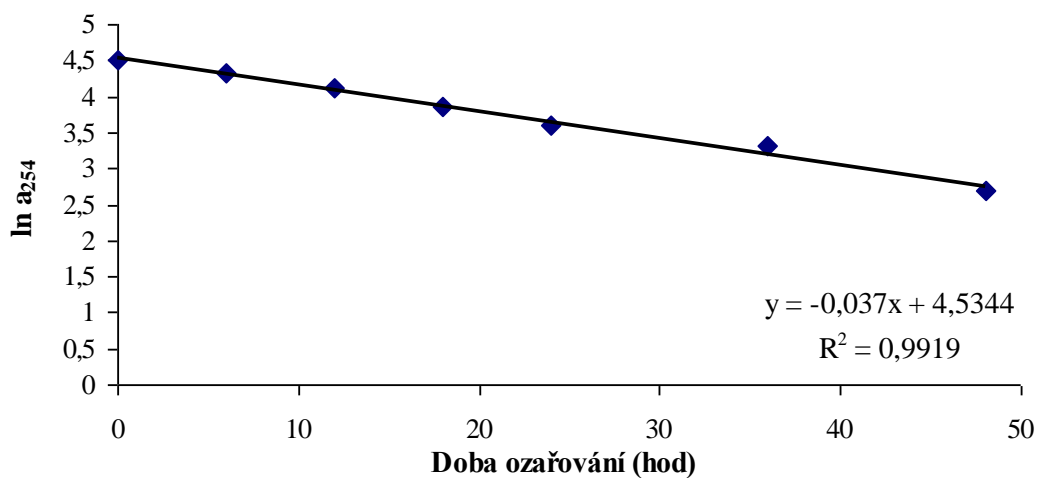
Obr. 8. Graf závislosti absorpčního koeficientu na vlnové délce. Číslo za písmenem „a“ udává dobu ozařování vzorků, jako blank jsou označeny neozařované kontrolní vzorky

Hodnoty absorpčních koeficientů při 254 a 350 nm pro jednotlivé doby ozařování byly zapsány do tabulky (Tab. 1). Tyto hodnoty se snižují v závislosti na době ozařování. V tabulce 1 jsou také vypočítané hodnoty sklonů spektrálních křivek,  $S_{300-700}$ ,  $S_{350-400}$  a  $S_{275-295}$ , které byly vypočítány v programu Excel v rozmezí daných vlnových délek. Poměrem  $S_{275-295}$  k  $S_{350-400}$  byl vypočítán poměr sklonů  $S_R$ . Tento poměr se zvyšoval s dobou ozařování.

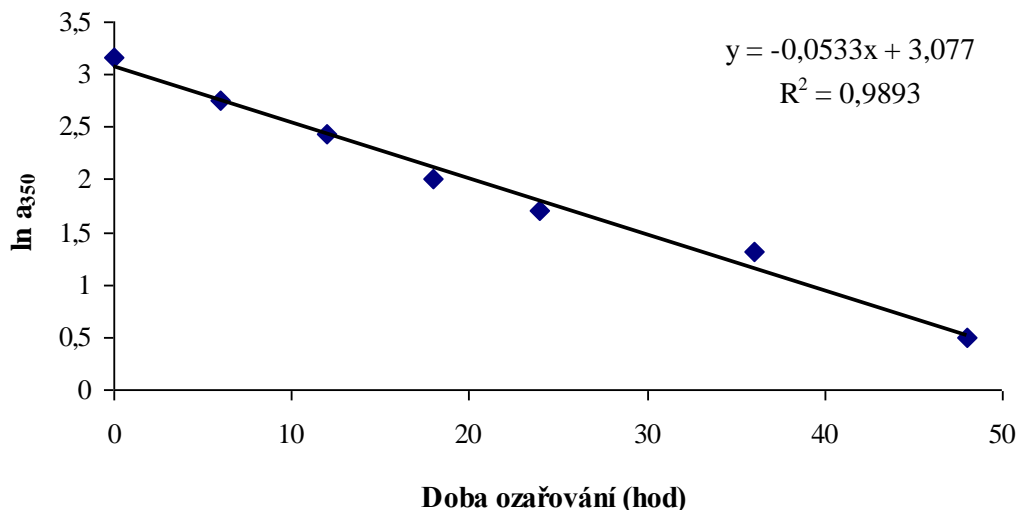
Tab. 1. Vypočítané absorpční koeficienty, sklony spektrálních křivek a poměr sklonů  $S_R$  podle doby ozařování

Doba ozařování (hod)	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$
0	91	24	0,015	0,020	0,014	0,700
6	76	16	0,013	0,017	0,016	0,941
12	61	11	0,014	0,018	0,017	0,944
18	47	7	0,012	0,018	0,018	1,000
24	36	6	0,013	0,018	0,018	1,000
36	27	4	0,012	0,019	0,020	1,095
48	15	2	0,012	0,019	0,021	1,105
Blank	89	23	0,016	0,020	0,014	0,716

S rostoucí dobou ozařování došlo k poklesu absorpčních koeficientů. Jejich pokles lze modelovat kinetikou prvního řádu. Lineární závislost zlogaritmovaných hodnot absorpčních koeficientů na době ozařování byla vynesena do grafů a byla proložena lineární regresní křivkou. Proložení této křivky a zobrazením rovnice regrese byla zjištěna rychlost poklesu absorpčního koeficientu ( $k_{a\lambda}$ ). Rychlostní konstanta poklesu absorpčního koeficientu podle kinetiky prvního řádu byla při vlnové délce 254 nm rovna  $0,037 \text{ hod}^{-1}$  (Obr. 9). Při vlnové délce 350 nm byla rychlost poklesu absorpčního koeficientu rovna  $0,053 \text{ hod}^{-1}$  (Obr. 10). Při vlnové délce 350 nm je tedy pokles absorpčního koeficientu větší než při 254 nm. Hodnota absorpčního koeficientu při 254 nm poklesne na poloviční hodnotu po 19 hodinách ozařování a při 350 nm po 13 hodinách ozařování.

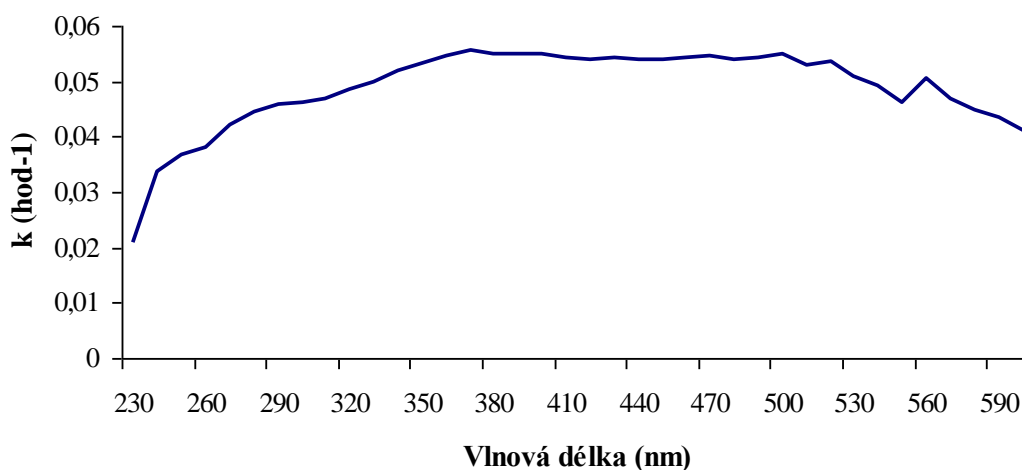


Obr. 9. Pokles absorpčního koeficientu při 254 nm v závislosti na době ozařování, proložený lineární regresní křivkou a s vypočítanou rovnicí regrese a hodnotou spolehlivosti



Obr. 10. Pokles absorpčního koeficientu při 350 nm v závislosti na době ozařování, proložený lineární regresní křivkou a s vypočítanou rovnicí regrese a hodnotou spolehlivosti

Z hodnot absorpčních koeficientů po 48 hodinách ozařování byly vypočítány rychlostní konstanty podle kinetiky prvního řádu po 10 nm (Obr. 11). Z uvedeného obrázku je patrné, že nejvyšší rychlosti poklesu absorpčního koeficientu (nejvyšší rychlostní konstanta) bylo dosaženo při vlnové délce 370 nm, která je odlišná od maximální intenzity použitého UV záření (350 nm), což nasvědčuje o přesunu energie v DOM molekulách.



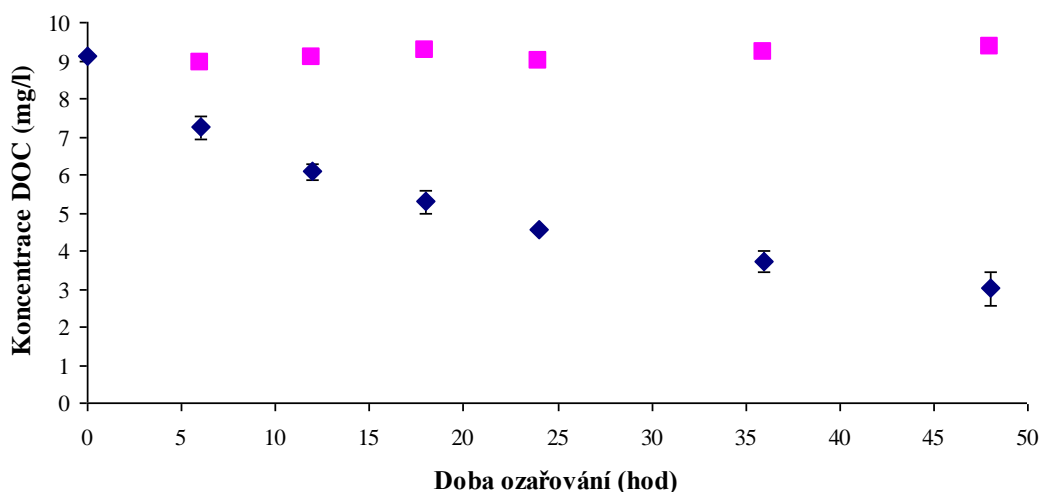
Obr. 11. Rychlostní konstanty vypočítané po 10 nm v závislosti na vlnové délce

### 5.2.2. Změna koncentrace DOC

Z naměřených koncentrací DOC byly vypočítány průměrné koncentrace pro jednotlivé doby ozařování a byly vypočteny směrodatné odchylky. Tyto hodnoty byly zapsány do tabulky (Tab. 2) a vyneseny do grafu (Obr. 12). V grafu jsou také hodnoty koncentrací DOC neozařovaných kontrolních vzorků, které se neměnily a jejich koncentrace DOC je stále stejná. Z grafu je zřejmé, že koncentrace DOC ozařovaných vzorků klesá s dobou ozařování. Z počáteční koncentrace  $9,1 \pm 0,2 \text{ mg l}^{-1}$  se po 48 hodinách ozařování snížila koncentrace na  $3,0 \pm 0,4 \text{ mg l}^{-1}$ . Došlo k poklesu koncentrace DOC o 68 %. Tento pokles koncentrace DOC souvisí s fotochemickými přeměnami DOC. Dochází totiž k fotochemickému rozkladu DOC na jednodušší látky a uvolňuje se anorganický uhlík v podobě  $\text{CO}_2$  a  $\text{CO}$ .

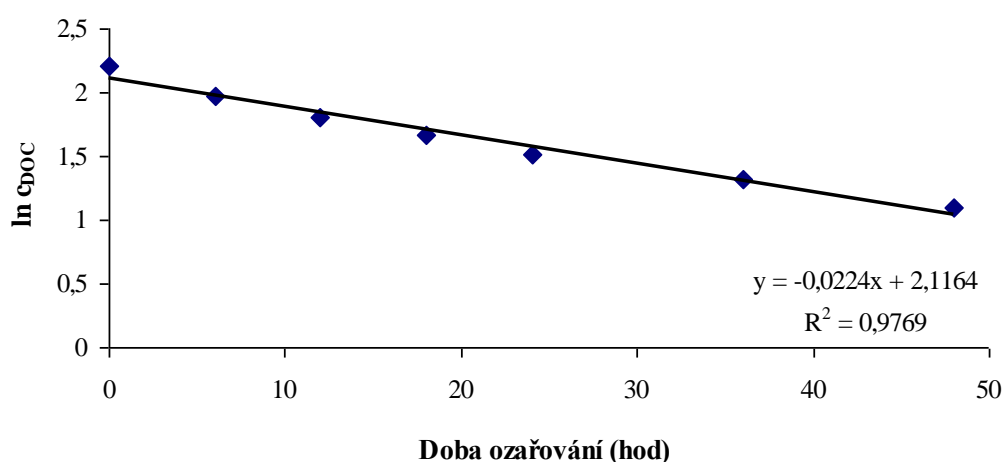
Tab. 2. Průměrné hodnoty pH, DOC a DON  $\pm$  směrodatné odchylky (SD) podle doby ozařování

Doba ozařování	pH	DOC ( $\text{mg l}^{-1}$ ) $\pm$ SD	DON ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) $\pm$ SD
0	4,2	$9,1 \pm 0,2$	$564 \pm 39$
6	4,2	$7,2 \pm 0,3$	$584 \pm 5$
12	4,3	$6,1 \pm 0,2$	$519 \pm 21$
18	4,3	$5,3 \pm 0,3$	$483 \pm 30$
24	4,4	$4,6 \pm 0,1$	$425 \pm 1$
36	4,4	$3,7 \pm 0,3$	$390 \pm 9$
48	4,5	$3,0 \pm 0,4$	$354 \pm 13$
Blank	4,2	$9,1 \pm 0,2$	$569 \pm 6$



Obr. 12. Pokles koncentrace DOC se směrodatnými odchylkami v závislosti na době ozařování a koncentrace DOC v neozařovaných kontrolních vzorcích (růžové)

Rychlostní konstanta poklesu koncentrace DOC podle kinetiky prvního řádu byla vypočtena zlogaritmováním hodnot koncentrace a jejich vynesemím do grafu v závislosti na době ozařování (Obr. 13). Grafem byla proložena lineární regresní křivka. Proložení této křivky a zobrazením regresní rovnice byla zjištěna rychlost poklesu koncentrace DOC ( $k_{\text{DOC}}$ ). Rychlostní konstanta poklesu byla  $0,022 \text{ hod}^{-1}$ . Z rychlosti poklesu byl stanoven poločas úbytku koncentrace DOC na polovinu. Tato doba byla 31 hodin.

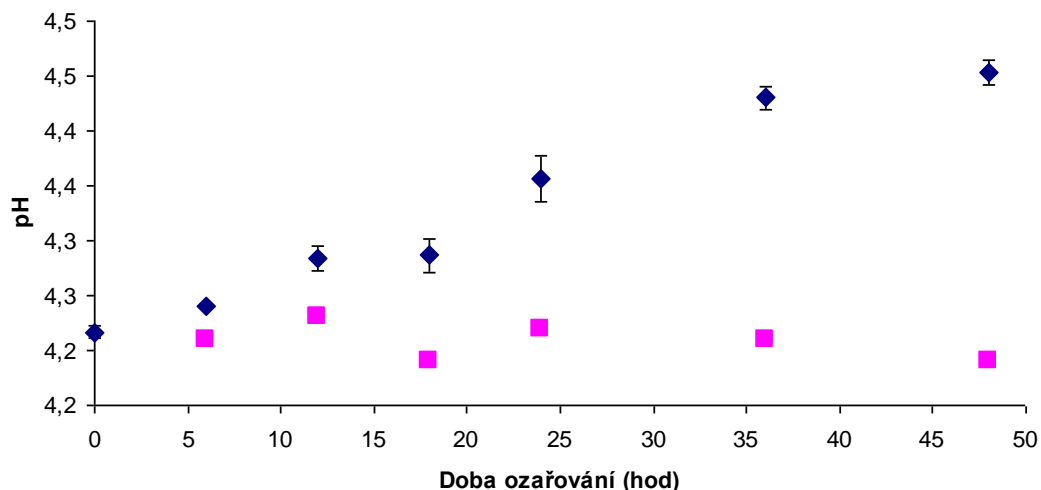


Obr. 13. Stanovení rychlostní konstanty dle prvního řádu pomocí lineární regrese se zlogaritmovaných hodnot koncentrace DOC

### 5.2.3. Změna hodnot pH

Z naměřených hodnot pH byl vypočítán jejich průměr podle doby ozařování a průměrné hodnoty byly zapsány do tabulky (Tab. 2). Naměřené hodnoty pH byly vyneseny do grafu (Obr. 14). V grafu je vidět nárůst hodnot pH v závislosti na době ozařování, kdy během ozařování došlo k nárůstu hodnot pH z 4,2 na 4,5. Tento nárůst hodnot pH souvisí s fotochemickými přeměnami ve vzorcích vody. V grafu jsou vyneseny i hodnoty pH neozařovaných kontrolních vzorků. Jejich hodnota se neměnila, protože v nich nedocházelo k žádné fotochemické změně. Nárůst pH po 48 hodinách ozařování byl v tomto pokusu o 5,6 %.

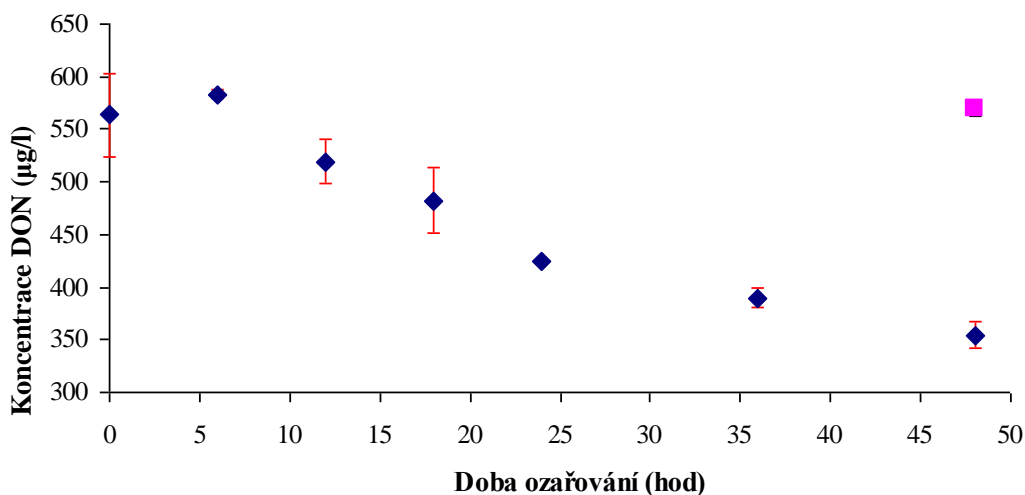




Obr. 14. Nárůst hodnot pH vzorků v závislosti na době ozařování se směrodatnými odchylkami a pH neozařovaných kontrolních vzorků (růžové)

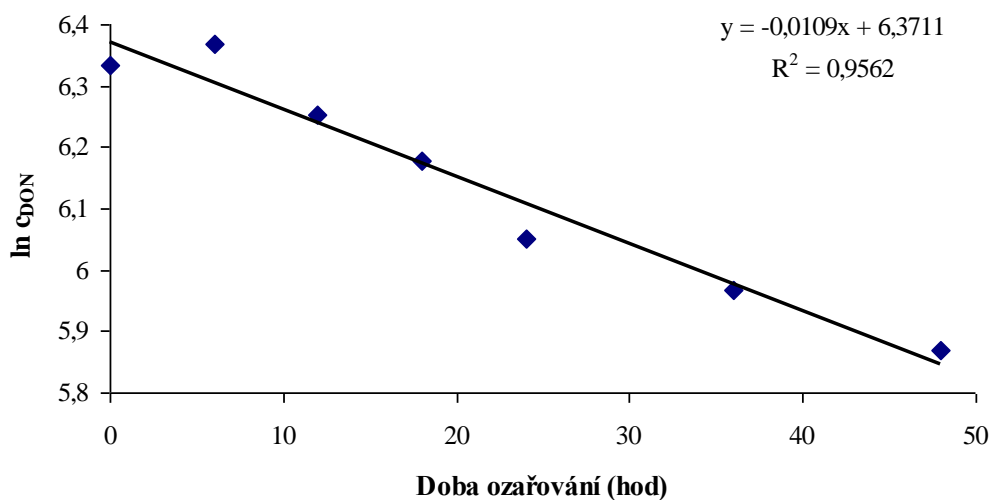
#### 5.2.4. Změny koncentrace DON

Z naměřených koncentrací DON byl vypočten průměr a směrodatné odchylky. Tyto hodnoty byly zapsány do tabulky (Tab. 2) a vyneseny do grafu včetně koncentrace neozařovaného kontrolního vzorku (Obr. 15). Koncentrace DON se snižovala s dobou ozařování a koncentrace neozařovaného kontrolního vzorku po 48 hodinách byla shodná s koncentrací vzorku bez ozařování. Z původní koncentrace DON  $564 \pm 39 \mu\text{g l}^{-1}$  došlo k poklesu koncentrace na  $354 \pm 13 \mu\text{g l}^{-1}$ . Koncentrace DON tedy poklesla o 37 %. Pokles koncentrace DON souvisí s fotochemickou přeměnou DON. Dochází totiž k uvolňování dusíku ve formě amoniakálního dusíku  $\text{N-NH}_4^+$ , aminokyselin a dusitanů  $\text{NO}_2^-$ .



Obr. 15. Pokles koncentrace DON v závislosti na době ozařování a neozařovaného kontrolního vzorku po 48 hodinách (růžový bod)

Rychlostní konstanta poklesu koncentrace organického dusíku podle kinetiky prvního řádu byla vypočtena zlogaritmováním hodnot koncentrace a vynesení do grafu v závislosti na době ozařování (Obr. 16). Grafem byla proložena lineární regresní křivka. Proložení této křivky a zobrazením regresní rovnice byla zjištěna rychlost poklesu koncentrace DON ( $k_{\text{DON}}$ ). Rychlostní konstanta poklesu byla  $0,011 \text{ hod}^{-1}$ . Z rychlosti poklesu byl stanoven poločas úbytku koncentrace DOC na polovinu. Tato doba byla 62 hodin.



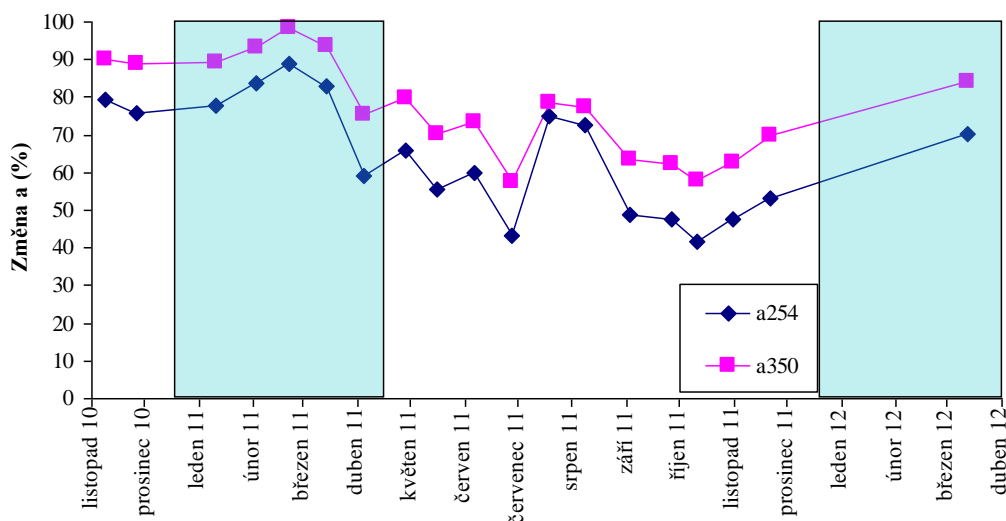
Obr. 16. Stanovení rychlostní konstanty dle prvního řádu pomocí lineární regrese ze zlogaritmovaných hodnot koncentrace DON

### 5.3. Změny v průběhu hydrologického roku

Fotochemické změny DOM byly sledovány v průběhu celého hydrologického roku 2011.

#### 5.3.1. Změny obsahu CDOM

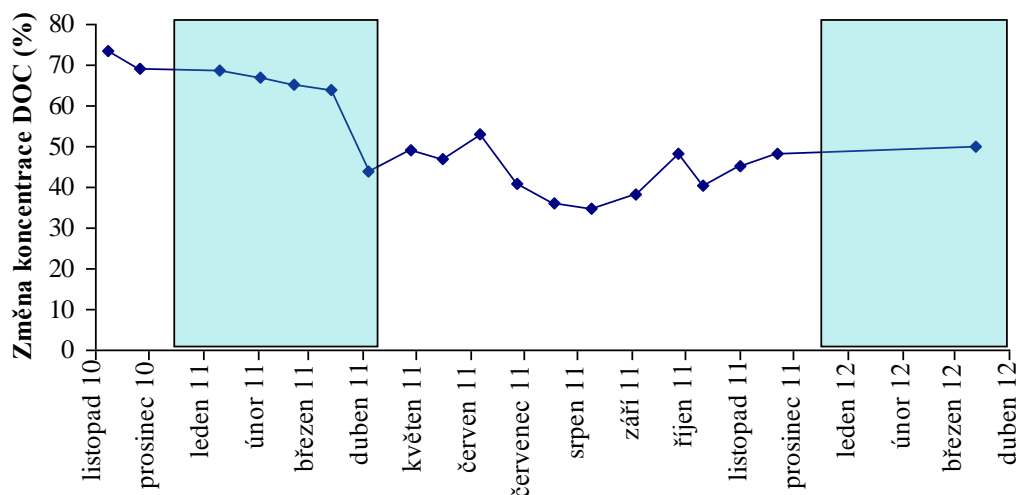
Pokles absorbance byl ve všech pokusech provedených během hydrologického roku 2011. Z průměru naměřených hodnot absorbance byl vypočítán absorpční koeficient. Změny absorpčního koeficientu v % po 48 hodinách ozařování byly také vyneseny do grafu (Obr. 17). Největší změny byly pozorovány v průběhu zimy, kdy docházelo k procentuálnímu poklesu absorpčního koeficientu při 350 nm až o 98 %, zatímco v létě docházelo k minimálnímu poklesu absorpčního koeficientu o 57,5 %. Pokles absorbance při 254 nm je nižší než při 350 nm, ale má stejný sezónní trend.



Obr. 17. Procentuální pokles absorpčních koeficientů při 254 a 350 nm během hydrologického roku s vyznačeným obdobím sněhové pokrývky

#### 5.3.2. Změny koncentrace DOC

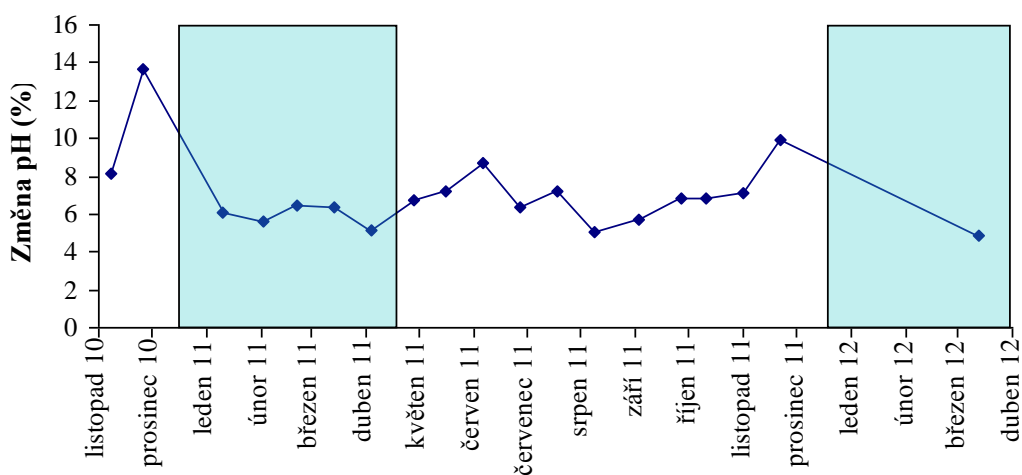
Hodnoty procentuálního poklesu koncentrace DOC po 48 hodinách ozařování byly vyneseny do grafu (Obr. 18). Z grafu je zřejmé, že nejmenší pokles koncentrace DOC během ozařování probíhal během léta. U všech pokusů docházelo k poklesu koncentrace DOC s dobou ozařování. Tento pokles byl modelován kinetikou prvního řádu.



Obr. 18. Procentuální pokles koncentrace DOC v průběhu hydrologického roku s vyznačeným obdobím sněhové pokrývky

### 5.3.3. Změny hodnot pH

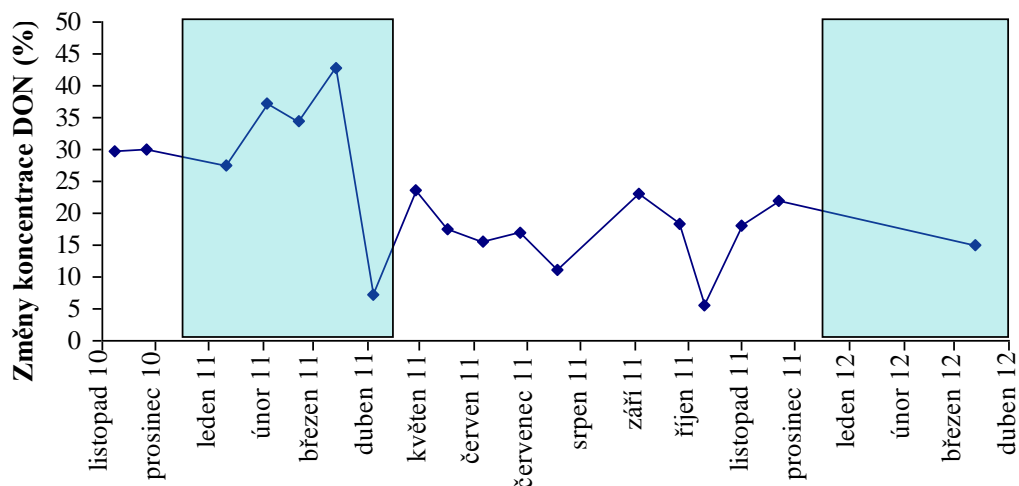
Procentuální nárůst hodnot pH po 48 hodinovém ozařování vzorků v průběhu hydrologického roku byl vyneseno do grafu (Obr. 19). Během roku byl procentuální nárůst hodnot pH od 4,9 % do 13,7 %. V zimě byla procentuální nárůst hodnot pH po 48 hodinovém ozařování největší.



Obr. 19. Procentuální pokles hodnot pH v průběhu hydrologického roku s vyznačením období, kdy byla sněhová pokrývky

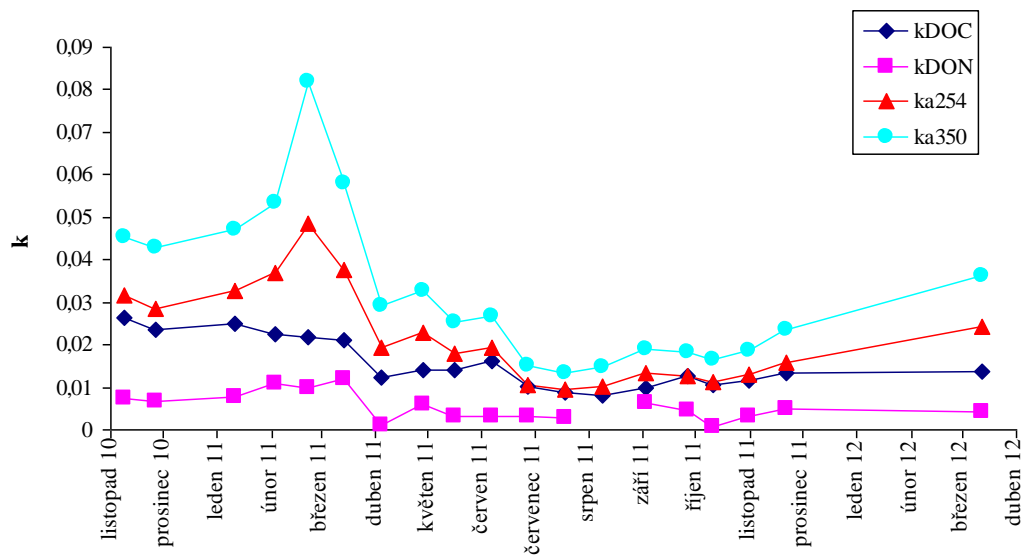
### 5.3.4 Změna DON

Procentuální pokles koncentrace DON po 48 hodinách ozařování byl vyneseno do grafu (Obr. 20). V grafu je vidět, že nejmenší pokles probíhal v dubnu a na podzim. Naopak největší pokles probíhal na konci zimy.



Obr. 20. Procentuální pokles koncentrace DON během hydrologického roku s vyznačeným obdobím sněhové pokrývky

Rychlostní konstanty všech pozorovaných parametrů byly zapsány do tabulky (Tab. 3) a vyneseny do jednoho grafu (Obr. 21). Z tohoto grafu vyplývá, že nejrychleji probíhají změny absorpčních koeficientů při 350 nm, dále pak absorpčních koeficientů při 254 nm, změny koncentrace DOC a nejpomaleji probíhají změny koncentrace DON.



Obr. 21. Změny kinetiky DOC, DON a absorpčního koeficientu při 254 a 350 nm během hydrologického roku 2011. Koncentrace DON nebyly měřeny 8.8.2011.

Tab. 3. Rychlostní konstanty po 48 hodinách ozařování pro absorpční koeficienty při 254 a 350 nm, koncentrace DOC a DON, hodnoty spolehlivosti a poločasy úbytku absorpčních koeficientů a koncentrací na polovinu

	$k_{a254}$ (hod <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$t_{1/2 a254}$ (hod)	$k_{a350}$ (hod <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$t_{1/2 a350}$ (hod)	$k_{DOC}$ (hod <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$t_{1/2DOC}$ (hod)	$k_{DON}$ (hod <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	$t_{1/2DON}$ (hod)
8.11.2010	0,032	0,99	22	0,045	0,97	15	0,027	0,97	26	0,007	0,89	94
26.11.2010	0,029	0,98	24	0,043	0,96	16	0,024	0,89	29	0,007	0,85	103
10.1.2011	0,033	0,96	21	0,047	0,92	15	0,025	0,88	28	0,008	0,78	90
2.2.2011	0,037	0,99	19	0,053	0,99	13	0,023	0,95	31	0,011	0,96	64
21.2.2011	0,049	0,98	14	0,082	0,98	8	0,022	0,99	32	0,010	0,89	71
14.3.2011	0,038	1,00	18	0,058	1,00	12	0,021	0,98	33	0,012	0,98	57
4.4.2011	0,020	0,98	36	0,029	0,97	24	0,012	0,96	56	0,001	0,07	693
28.4.2011	0,023	0,99	30	0,033	0,97	21	0,014	0,93	49	0,006	0,96	114
16.5.2011	0,018	0,93	39	0,025	0,89	28	0,014	0,91	50	0,003	0,80	210
6.6.2011	0,019	0,96	36	0,027	0,93	26	0,016	0,92	43	0,003	0,89	224
27.6.2011	0,011	0,77	65	0,015	0,70	46	0,010	0,89	68	0,003	0,59	217
18.7.2011	0,010	0,85	73	0,013	0,78	52	0,009	0,85	80	0,003	0,75	257
8.8.2011	0,010	0,90	68	0,015	0,82	47	0,008	0,83	85	nestanoveno	nestanoveno	nestanoveno
2.9.2011	0,013	0,93	53	0,019	0,87	36	0,010	0,83	71	0,006	0,93	110
26.9.2011	0,013	0,95	54	0,018	0,88	38	0,013	0,89	54	0,004	0,95	158
10.10.2011	0,011	0,93	61	0,016	0,84	42	0,011	0,88	65	0,001	0,44	866
31.10.2011	0,013	0,95	54	0,019	0,89	37	0,012	0,90	59	0,003	0,61	217
21.11.2011	0,016	0,99	44	0,024	0,95	29	0,013	0,89	52	0,005	0,93	141
12.3.2012	0,024	0,99	28	0,036	0,98	19	0,014	0,94	50	0,004	0,74	169

## 6. Diskuse

Tato diplomová práce se zabývá zhodnocení fotochemických změn organicky vázaného dusíku v přítoku Plešného jezera v průběhu hydrologického roku 2011. Fotochemickým změnám DOM, případně DON bylo věnováno již několik studií. Mnoho z nich se věnuje fotochemickým změnám v mořské vodě (Aarnos et al., 2012, Vähätalo a Zepp, 2005, Vähätalo a Järvinen, 2007, Vähätalo et al., 2011), jezerní (Vähätalo a Wetzel, 2004, Bertilsson a Tranvik, 2000) a říční vodě (Wang et al., 2000, Tarr et al., 2001, Koopmans a Bronk, 2002). Většina z těchto studií byla prováděna pouze v letním období (Bertilsson a Tranvik, 2000, Vähätalo a Zepp, 2005, Vähätalo a Järvinen, 2007, Vähätalo et al., 2011, Vähätalo a Wetzel, 2004) nebo v letním a zimním období (Wang et al., 2000, Koopmans a Bronk, 2002). Pouze několik málo studií se zabývalo celým hydrologickým rokem (Porcal et al., 2004) a jezerními vodami, jako je tato práce.

S rostoucí dobou expozice vzorků UV záření docházelo k poklesu absorbance. V důsledku fotochemického rozkladu DOM došlo k poklesu barvy vody, tzv. „photobleaching“ popisuje mnoho předešlých studií (Gao a Zepp, 1998, Sulzberger a Durisch-Kaiser, 2009).

Absorbance při 254 nm se používá ke stanovení aromatických sloučenin. Absorbance při 254 nm ukazuje korelaci s frakcemi aromatických sloučenin obsažených v CDOM. Tato korelace mezi  $SUVA_{254}$  a aromatickým obsahem DOM je dána vztahem s  $R^2 0,97$  (Weishaar et al., 2003) :

$$\text{obsah aromatických sloučenin (\%)} = 6,52 \cdot SUVA_{254} + 3,63$$

Při zadání dat z diplomové práce nám vychází, že neozařované vzorky měly obsah aromatických sloučenin průměrně  $19 \pm 3$  % a po 48 hodinách ozařování obsah aromatických látek klesl na průměrnou hodnotu  $9 \pm 3$  % a nejvyšší obsah aromatických sloučenin byl v létě. Pokles absorbance naznačuje, že přednostně dochází k fotochemickému rozkladu aromatických jader (Brinkmann, 2003).

Pokles absorpčního koeficientu byl modelován kinetikou 1. řádu podobně jako ve studii, kterou vypracovali Gao a Zepp (1998). Podle studie Sulzberger a Durisch-Kaiser (2009) rychlost přímé fotochemické transformace CDOM je lineárně závislá na dekadickém logaritmu absorpčního koeficientu  $a_{(\lambda)}$ , který závisí na



koncentraci a absorpčních vlastnostech CDOM. Tento pokles byl v diplomové práci rozdílný v závislosti na vlnové délce, při 254 nm byla rychlost poklesu absorpčního koeficientu  $0,037 \text{ hod}^{-1}$  a při 350 nm  $0,053 \text{ hod}^{-1}$ . Po vynesení rychlostních konstant poklesu absorpčního koeficientu v závislosti na vlnové délce do grafu bylo zjištěno, že nejvyšší rychlost poklesu absorbance byla při 370 nm, kde vykazují absorpční peak deriváty aldehydů a acetonu (Gonzales et al., 2007), což dokazuje, že vznikaly jednoduché nízkomolekulární látky.

Při porovnávání sklonů spektrálních křivek  $S_{300-700}$  a  $S_{275-295}$ , kdy  $S_{300-700}$  je nižší než  $S_{275-295}$ , se studií Helms et al. (2008) je zřejmé, že se jedná o terestrický vzorek vody. A poměr  $S_{275-295}$  ku  $S_{350-400}$ , vyjádřený jako poměr spektrálních křivek  $S_R$  se v diplomové práci také zvětšuje s dobou ozařování, jako ve studii Helms et al. (2008).

Koncentrace DOC se s dobou ozařování snižovala podle kinetiky prvního řádu. Procentuální pokles této koncentrace po 48 hodinách ozařování byl minimální v létě o 35 % a maximální v zimě, kdy se pokles pohyboval kolem 70 %. Pokles koncentrace DOC po ozáření byl pozorován v několika studiích (Gao a Zepp, 1998, Bertilsson a Tranvik, 2000) a byl způsoben fotochemickou přeměnou DOC na DIC a karboxylové kyseliny (Bertilsson a Tranvik, 2000), CO a CO<sub>2</sub> (Gao a Zepp, 1998). Tyto studie sledovaly nárůst koncentrace fotoproduktů.

Koncentrace DOC klesala s dobou ozařování podle kinetiky prvního řádu a rychlostní konstanty tohoto poklesu byly nejvyšší během zimy, kdy dosahovaly maximální hodnoty  $0,026 \text{ hod}^{-1}$ .

Hodnoty pH v neozařovaných vzorcích vody se během hydrologického roku 2011 pohybovaly od 4,1 do 4,3. Stejně hodnoty naměřili Kopáček et al. (2001) v hydrologickém roce 2000. Dále bylo v této diplomové práci zjištěno, že s dobou ozařování roste hodnota pH. Tato hodnota vzrostla po 48 hodinovém ozařování z průměrné hodnoty 4,2 na průměrnou hodnotu 4,5. Podobné zvýšení pH sledovali i Gao a Zepp (1998) při ozařování vzorků vody z řeky Satilla, kdy docházelo k tvorbě fotoproduktů z huminových kyselin. Během ozařování vzorků vody, odebraných v roce 2000 z Plešného jezera na Šumavě byl zjištěn také nárůst hodnot pH během fotochemického oxidace huminových látek na anorganický uhlík (Kopáček et al., 2003).

Koncentrace DON se snižovaly s dobou ozařování podle kinetiky prvního řádu. Nejnižší procentuální pokles koncentrace byl na jaře a na podzim (7% a 5%) a nejvyšší ke konci zimy 43 %. Některé studie uvádějí, že fotochemickým rozkladem DON vzniká amoniak (Bushaw et al., 1996, Gao a Zepp, 1998, Koopmans a Bronk, 2002, Vähatalo a Zepp, 2005). Zvýšení koncentrace amoniaku a primárních aminů bylo pozorováno v Skidaway River a Sattila River Estuary (Bushaw-Newton a Moran, 1999). Kieber et al. (1999) uvádí, že fotochemickým rozkladem se uvolňují dusitany. Fotochemicky vznikají také aminokyseliny jako serine, histidin, norvalin a kyselina glutamová (Tarr et al., 2001). Vähatalo a Järvinen (2007) zjistili, že fotochemické produkty dusíku slouží jako nový zdroj biologicky dostupného dusíku a přispívá k produkci fytoplanktonu v Baltském moři.

Při porovnání rychlostních konstant absorpčních koeficientů a koncentrací DOC a DON, bylo zjištěno, že nejrychleji probíhá pokles absorpčního koeficientu při 350 nm, následuje pokles absorpčního koeficientu při 254 nm a pokles koncentrace DOC a nejpomaleji probíhá pokles koncentrace DON. Obecně je pokles absorbance rychlejší než mineralizace (Brinkmann, 1998).

Záření je příčinou poklesu koncentrace CDOM, tím i poklesu absorbance, a zvyšuje se tak průnik záření hlouběji do vodního sloupce (Osburn a Morris, 2003). UV-B záření inhibuje aktivitu bakterií a poškozuje DNA planktonu (Jeffrey et al., 1996) a především záření UV-A inhibuje fotosyntézu fytoplanktonu v horním metru vodního sloupce (Sommaruga, 2001). Zároveň fotochemické přeměny DOM silně ovlivňují biogeochemické cykly biologicky významných prvků, jako je uhlík, dusík, fosfor a síra. Po ozáření DOM dochází k uvolnění biologicky dostupných organických sloučenin a minerálních živin. Ty jsou zabudovány primárními producenty do biomasy a dochází ke zvýšení primární produkce. Nízkomolekulární organické látky jsou mikrobiálně rozkládány, což vede k bakteriálnímu růstu (Zepp et al., 1998) a zvýšení množství mixotrofních a heterotrofních organismů (De Lange et al., 2003).

## 7. Závěr

Fotochemické transformace jsou významnými procesy ve vodních ekosystémech. Přírodní vody obsahují DOM, z nichž většina těchto látek je odolná biologickému rozkladu. Fotochemickými reakcemi dochází k oxidaci a strukturální změně DOM a může docházet k uvolňování jednodušších sloučeniny z DOM. Tyto sloučeniny dále slouží jako zdroj energie nebo živin pro mikroorganismy nebo jsou asimilovány primárními producenty.

V této diplomové práci bylo zjištěno, že po ozáření vzorků vody dochází k nárůstu hodnot pH a k poklesu absorpčního koeficientu, koncentrace DOC i DON. Tyto fotochemické přeměny byly pozorovány u všech prováděných pokusů během celého hydrologického roku a lišily se pouze v procentuálním vyjádření změn v průběhu roku. Při porovnání rychlostních konstant bylo zjištěno, že nejrychleji probíhal pokles absorpčního koeficientu při 350 nm, následoval pokles absorpčního koeficientu při 254 nm, pokles koncentrace DOM a nejpomaleji probíhal pokles koncentrace DON.

Pokles absorbance DOC má za následek průnik slunečního záření hlouběji do vodního sloupce. Tím může sluneční záření více ovlivňovat vodní ekosystém. Sluneční záření inhibuje aktivitu bakterií a poškozuje DNA planktonu. Ozáření DOM dochází k uvolnění biologicky dostupných organických sloučenin a minerálních živin. Ty jsou zabudovány primárními producenty do biomasy a dochází ke zvýšení primární produkce. Nízkomolekulární organické látky jsou mikrobiálně rozkládány, což vede k bakteriálnímu růstu. Zvláště důležitý je pozorovaný pokles koncentrace DON provázený nárůstem anorganických forem dusíku, které jsou významným zdrojem biologicky dostupného dusíku ve vodních ekosystémech a může tak ovlivňovat celý vodní ekosystém včetně biogeochemických cyklů. Toto zjištění je důležité při sledování bilance živin ve vodních ekosystémech. V některých ekosystémech, vystavených slunečnímu záření, může hrát fotochemická přeměna velmi důležitou roli v dostupnosti živin pro organismy a celkově v cyklu živin.

Tato práce byla součástí rozsáhlého studia fotochemických procesů v Plešném jezeře, zejména roční bilance forem dusíku.

## 8. Literatura

Aarnos, H., Ylöstalo, P., Vähatalo, V., 2012, Seasonal phototransformation of dissolved organic matter to ammonium, dissolved inorganic carbon, and labile substrates supporting bacterial biomass across the Baltic Sea, *Journal of geophysical research*, 117

Bertilsson, S. a Tranvik, L. J., 2000, Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes, *Limnology and Oceanography* 45, pp. 753 – 762

Blumthaler, M., Webb, A.R., 2003, UVR climatology, In: Helbling, E.W., Zagarese, H. (Eds.), *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 22- 82

Brezonik, P. L. a Arnold, W. A., 2011, *Water Chemistry*, Oxford University Press, 782 p.

Brinkmann, T., Sartorius, D., Frimmel, F.H., 2003, Photobleaching of humic rich dissolved organic matter, *Aquatic sciences*, 65, pp. 415 - 424

Burgess, C., 2007, The basics of spectrophotometric measurement. In: Thomas, O., Burges, T. (Eds.), *UV-Visible spectrophotometry of water and wastewater*, Elsevier B.V., pp. 1-19

Bushaw-Newton, K.L., Moran, M.A., Photochemical formation of biologically available nitrogen from dissolved humic substances in coastal marine systems, *Aquatic microbial ecology*, 18, pp. 285 - 292

Bushaw, K. L., Zepp, R. G., Tarr, M., Schulz-Jander, D., Bourbonniere, R. A., Hodson R. E., Miller, W.L., Bronk, D. A., Moran, M.A., 1996, Photochemical release of biologically available nitrogen from aquatic dissolved organic matter, *Nature*, 381, pp. 404 - 407

De Lange, H., Morris, D.P., Williamson, C.E., 2003, Solar ultraviolet photodegradation of DOC may stimulate freshwater food webs, *Journal of plankton research*, 25, pp. 111 - 117

Del Vecchio, R., Blough, N.V., 2002, Photobleaching of chromophoric dissolved organic matter in natural waters: kinetics and modeling, *Marine chemistry*, 78, pp. 231 - 253

Ferrari, G.M., Dowell, D.M., Grossi, S., Targa, C., 1996, Relationship between the optical properties of chromophoric dissolved organic matter and total concentration of dissolved organic matter in the southern Baltic Sea region, *Marine chemistry*, 55, pp. 299 - 316

Findlay, S. a Sinsabaugh R. L., 2003, Preface In: Findlay, S. a Sinsabaugh, R. L.(Eds.), *Aquatic Ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*, Academic Press, San Diego, pp. xvii – xx

Gao, H., Zepp, R.G., 1998, Factors influencing photoreactions of dissolved organic matter in a coastal river of the southeastern United States, *Environmental Science and Technology*, 32, pp. 2940 - 2946

Gonzales, C., Touraud, E., Spinelli, S., Thomas, O., 2007, Organic constituents, In: Thomas, O., Burgess, C. (Eds.), *UV-visible Spectrophotometry of water and wastewater*, Elsevier B.V., pp. 47 - 87

Hautala, K., Peuravuori, J., Pihlaja, K., 2000, Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analyses, *Water Research*, 34, pp. 246 - 258

Hejzlar, J., Kopáček, J., Vrba, J., Čížková, R., Komárková, J., Šimek, K., 1998, Limnological study of Plešné Lake in 1994-1995, *Silva Gabreta*, 2, pp. 155 - 174

Helms, J. R., Stubbins, A., Ritchie, J. D., Minor, E.C., Kieber, D. J., Mopper, K., 2008, Absorption spectral slopes and slope ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter, *Limnology and Oceanography*, 53, pp. 955 - 969

Jeffrey, W.H., Pledger, R.J., Aas, P., Hager, S., Coffin, R.B., Vonhaven, R., Mächell, D.L., 1996, Diel and depth profiles of DNA photodamage in bacterioplankton exposed to ambient solar ultraviolet radiation, *Marine ecology progress series*, 137, pp. 283 - 291

Jørgensen, N.O.G., Tranvik, L., Edlink, H., Graneli, W., Lindell, M., 1998, Effect of sunlight on occurrence and bacterial turnover of specific carbon and nitrogen compounds in lake water, *FEMS Microbiology ecology*, 25, 217 - 227

Kalff, J., 2002, *Limnology*, Prentice Hall, Inc., USA, 592 p.

Kieber, R. J., Li, A., Seaton, P. M., 1999, Production of nitrite from the photodegradation of dissolved organic matter in natural waters, *Environmental Science Technology*, 33, pp. 993- 998

Koopmans, D. J. a Bronk D. A., 2002, Photochemical production of dissolved inorganic nitrogen and primary amines from dissolved organic nitrogen in waters of two estuaries and adjacent surficial groundwaters, *Aquatic microbial ecology*, 26, pp. 295- 304

Kopáček, J., Procházková, L., 1993, Semi-Micro Determination of Ammonia in Water by the Rubazotic Acid Method, *Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 53, pp.243-248

Kopáček, J., Hejzlar, J., Stuchlík, J., Fott, J., Veselý, J., 1998, Reversibility of acidification of mountain lakes after reduction in nitrogen and sulphur emission in Central Europe, *Limnology and Ocesnography*, 43, pp 357 - 361

Kopáček, J., Hejzlar, J., Porcal, P., 2000, Seasonal patterns in chemistry of tributaries to Plešné and Čertovo Lakes in the 1998 hydrological year, *Silva Gabreta*, 4, pp. 105 - 116

Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P., 2001, Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: III. Plešné Lake, *Silva Gabreta*, 6, pp. 73 - 86

Kopáček, J., Brzáková, M., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P., Vrba, J., 2003, Mass balance of nutrients and major solutes in the Plešné watershed-lake ecosystem in the 2001 hydrological year, *Silva Gabreta*, 9, pp 33-52

Kowalczyk, P., Cooper, W. J., Whitehead, R. F., Durako, M. J., Sheldon, W., 2003, Characterization of CDOM in an organic rich river and surrounding coastal ocean in the South Atlantic Bight, *Aquatic Sciences* 65, pp. 381-398

Lampert, W. a Sommer, U., 2007, *Limnoecology: The ecology of lakes and streams*, Oxford University Press, Second edition, 324 p.

Leavitt, P.R., Hodgson, D.A., Pienitz, R., 2003, Past UVR environments and impact on lakes, In: Helbling, E.W., Zagarese, H. (Eds.), *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 137– 183

McKnight, D. M., Harnish, R., Wershaw, R. L., Baron, J. S., Schiff, S., 1997, Chemical characteristic of particulate, colloidal, and dissolved organic material in Loch Vale watershed, Rocky Mountain National park, *Biogeochemistry* 36, pp. 99-124

McKnight, D. M., Boye, E. W., Westerhoff, P. K., Doran, P. T., Kulbe, T., Andersen D. T., 2001, Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity, *Limnology and Oceanography* 46, pp. 38-48

Miller, W.L., Moran, M.A., 1997, Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from a coastal marine environment, *Limnology and Oceanography*, 42, pp. 1317 - 1324

Minor, E.C., Pothén, J., Dalzell, B.J., Abdulla, H., Mopper, K., 2006, Effects of salinity changes on photodegradation and ultraviolet-visible absorbance of terrestrial dissolved organic matter, *Limnology and Oceanography*, 51, pp. 2181 - 2186

Molot, L.A., Hudson, J.J., Dillon, P.J., Miller, A.S., 2005, Effect of pH on photo-oxidation of dissolved organic carbon by hydroxyl radicals in coloured, softwater stream, *Aquatic sciences*, 67, pp. 189 - 195

Moran, M.A, Zepp, R.G., 1997, Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter, *Limnology and Oceanography*, 42, pp. 1307 – 1316

Moran, M.A., Sheldon, W.M, Zepp, R.G., 2000, Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter, *Limnology and Oceanography*, 45, pp. 1254 - 1264

Osburn, Ch. L., Morris, D. P., Thorn, K. A., Moeller, R. E., 2001, Chemical and optical changes in freshwater dissolved organic matter exposed to solar radiation, *Biogeochemistry* 54, pp. 251 – 278

Osburn, Ch. L. a Morris, D.P., 2003, Photochemistry of chromophoric dissolved organic matter in natural waters, In: Hebling, E.W., Zagarese, H. (Eds.), *UV Effects in aquatic Organisms and Ecosystems*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 185 – 217

Pitter, P., 1999, *Hydrochemie*, Vydavatelství VŠCHT, Praha, 568 p.

Porcal, P., Hejzlar, J., Kopáček, J., 2004, Seasonal and photochemical changes of DOM in an acidified forest lake and its tributaries, *Aquatic Sciences* 66, pp. 211-222

Porcal, P., Amirbahman, A., Kopáček, J., Norton, S.A., 2010, Experimental photochemical release of organically bound aluminium and iron in three streams in Maine, USA, *Environmental Monitor assess*, 171, pp. 71 - 81

Procházková, L., 1960, Einfluss der nitrate und nitrite auf die Bestimmung des organischen Stickoffs und Ammoniums im Water, *Arch. Hydrobiology*, 56, pp. 179-185

Rabalais, N. N., 2002, Nitrogen in aquatic ecosystems, *Ambio*, 31, pp. 102 - 112

Sommaruga, R., 2001, The role of solar UV radiation in ecology of alpinelakes, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 62, pp. 35 - 42

Steinberg, Ch. E. W., 2003, *Ecology of humic substances in freshwaters*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 440 p.

Sulzberger, B. a Durisch-Kaiser, E., 2009, Chemical characterization of dissolved organic matter (DOM): A prerequisite for understanding UV-induced changes of DOM absorption properties and bioavailability, *Aquatic sciences*, 71, pp. 104-126

Tarr, M.W., Wang, W., Bianchi, T., Engelhaupt, E., 2001, Mechanism of ammonia and amino acid photoproduction from aquatic humic and colloidal matter, *Water Research*, 35, pp. 3688 - 3696

Thurman, E. M., 1985, *Organic geochemistry of natural waters*, Nijhoff/ Junk publishers, 497 p.

Tranvik, L.J., Olofsson, H., Bertilsson, S., 1999, Photochemical effects on bacterial degradation of dissolved organic matter in lake water, In: *Microbial Biosystems: New Frontiers*, Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax.

Twardowski, M.S., Boss, E., Sullivan, M., Donaghay, P.L., 2004, Modeling the spectral shape of absorbing chromophoric dissolved organic matter, *Marine Chemistry*, 89, pp. 69-88

Vähatalo, A.V., Wetzel, R.G., 2004, Photochemical and microbial decomposition of chromophoric dissolved organic matter during long (months-years) exposure, *Marine photochemistry*, 89, pp. 313 - 326

Vähatalo, A.V., Zepp, R.G., 2005, Photochemical mineralization of dissolved organic nitrogen to ammonium in the Baltic sea, *Environmental scientific technology*, 39, pp. 6985 - 6992

Vähatalo, A.V. a Järvinen, M., 2007, Photochemically produced bioavailable nitrogen from biologically recalcitrant dissolved organic matter stimulates production of nitrogen-limited microbial food web in the Baltic Sea, *Limnology and Oceanography*, 52, pp. 132 - 143

Vähatalo, A.V., Aarnos, H., Hoikkala, L., Lignell, R., 2011, Photochemical transformation of terrestrial dissolved organic matter supports hetero- and autotrophic production in coastal waters, *Marine ecology progress series*, 423, pp. 1-14

Wang, W., Tarr, M.A., Bianchi, T., Engelhaupt, E., 2000, Ammonium photoproduction from aquatic humic and colloidal Matter, *Aquatic geochemistry*, 6, pp. 275 - 292

Weishaar, J.L., Aiken, G.R., Bergamaschi, B.A., Fram, M.S., Fujii, R., Mopper, K., 2003, Evaluation of Specific ultraviolet absorbance as an indicator of the chemical composition and reactivity of dissolved organic carbon, *Environmental Science Technology*, 37, pp. 4702 - 4708

Wetzel, R. G., 2003, Solar radiance as an ecosystem modulator, In: Hebling, E.W. a Zagarese, H. (Eds.), *UV Effects in aquatic organisms and ecosystems*, The royal society of chemistry, Cambridge, UK, pp. 3-18

Wetzel, R.G., Hatcher, P.G., Bianchi, T.S., 1995, Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism, *Limnology and Oceanography*, 40, pp. 1369 - 1380

Zepp, R. G., Callaghan, T. V., Erickson, D. J., 1998, Effects of enhanced solar ultraviolet radiation on biogeochemical cycles, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 46, pp. 69 – 82

Zepp, R.G., 2003, Solar ultraviolet radiation and aquatic carbon, nitrogen, sulfur and metals cycles. In: Helbling, E.W., Zagarese, H. (Eds.), *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp. 137–183



## **Přílohy**

Tab. 4. Naměřené hodnoty z 8.11.2010, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254} (m^{-1})$	$a_{350} (m^{-1})$	$S_{300-700} (nm^{-1})$	$S_{350-400} (nm^{-1})$	$S_{276-295} (nm^{-1})$	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	114	30	0,015	0,020	0,014	0,723	10,8 ± 0,1	663 ± 51
6	4,2	92	19	0,013	0,018	0,016	0,924	8,4 ± 0,0	637 ± 6
12	4,3	70	13	0,013	0,018	0,017	0,943	6,7 ± 0,1	544 ± 13
18	4,3	58	9	0,012	0,018	0,019	1,100	5,4 ± 0,2	520 ± 39
24	4,6	46	7	0,013	0,018	0,020	1,085	4,6 ± 0,2	484 ± 42
36	4,6	38	5	0,011	0,018	0,021	1,151	3,9 ± 0,7	577 ± 26
48	4,5	24	3	0,012	0,018	0,021	1,134	2,9 ± 0,5	466 ± 34
Blank	4,2	112	29	0,016	0,020	0,014	0,722	10,8 ± 0,2	641 ± 35

Tab. 5. Naměřené hodnoty z 26.11.2010, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254} (m^{-1})$	$a_{350} (m^{-1})$	$S_{300-700} (nm^{-1})$	$S_{350-400} (nm^{-1})$	$S_{276-295} (nm^{-1})$	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	109	28	0,016	0,020	0,014	0,721	11,7 ± 0,2	650
6	4,3	91	18	0,013	0,018	0,016	0,919	9,4 ± 0,4	603 ± 4
12	4,4	73	14	0,013	0,018	0,017	0,944	7,7 ± 0,2	636 ± 14
18	4,4	57	9	0,013	0,018	0,019	1,021	6,4 ± 0,2	552 ± 30
24	4,6	49	8	0,011	0,018	0,019	1,080	5,7 ± 0,4	531 ± 16
36	4,6	42	6	0,013	0,019	0,021	1,104	5,1 ± 0,4	545 ± 16
48	4,7	26	3	0,013	0,021	0,021	0,991	3,6 ± 1,1	455 ± 17
Blank	4,2	107	27	0,017	0,020	0,014	0,716	11,6 ± 0,2	649

Tab. 6. Naměřené hodnoty z 10.1.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,1	110	28	0,017	0,020	0,014	0,724	11,0 ± 0,1	707
6	4,2	90	18	0,013	0,018	0,016	0,918	9,1 ± 0,0	711 ± 5
12	4,2	71	13	0,014	0,018	0,017	0,926	7,8 ± 0,3	602 ± 6
18	4,2	47	7	0,012	0,018	0,019	1,046	5,9 ± 0,2	552 ± 32
24	4,3	41	6	0,013	0,019	0,019	1,014	5,5 ± 0,1	528 ± 11
36	4,3	30	4	0,012	0,019	0,021	1,102	4,3 ± 0,7	496 ± 10
48	4,4	24	3	0,013	0,019	0,021	1,092	3,5 ± 1,2	513 ± 24
Blank	4,1	108	28	0,017	0,020	0,014	0,713	11,0 ± 0,2	738 ± 9

Tab. 7. Naměřené hodnoty z 2.2.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	91	24	0,015	0,020	0,014	0,720	9,1 ± 0,2	564 ± 39
6	4,2	76	16	0,013	0,018	0,016	0,916	7,2 ± 0,3	584 ± 5
12	4,3	61	11	0,014	0,018	0,017	0,919	6,1 ± 0,2	519 ± 21
18	4,3	47	7	0,012	0,018	0,018	1,025	5,3 ± 0,3	483 ± 30
24	4,4	36	5	0,013	0,019	0,018	0,969	4,6 ± 0,1	425 ± 1
36	4,4	27	4	0,012	0,018	0,020	1,104	3,7 ± 0,3	390 ± 8
48	4,4	15	2	0,011	0,021	0,020	0,968	3,0 ± 0,4	354 ± 13
Blank	4,2	89	23	0,016	0,020	0,014	0,716	9,1 ± 0,2	570 ± 6

Tab. 8. Naměřené hodnoty z 21.2.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	91	23	0,020	0,020	0,014	0,711	9,1 ± 0,2	578 ± 0
6	4,2	74	15	0,019	0,019	0,016	0,858	7,9 ± 0,0	576 ± 21
12	4,3	61	12	0,021	0,019	0,016	0,880	6,8 ± 0,0	535 ± 2
18	4,3	43	7	Nestanoveno	0,020	0,018	0,894	6,0 ± 0,0	463 ± 7
24	4,3	38	6	Nestanoveno	0,020	0,018	0,865	5,3 ± 0,1	412 ± 11
36	4,4	19	2	Nestanoveno	0,039	0,021	0,527	4,1 ± 0,1	409 ± 16
48	4,5	9	0	Nestanoveno	Nestanoveno	0,019	Nestanoveno	3,2 ± 0,3	379 ± 29
Blank	4,2	89	23	Nestanoveno	0,020	0,014	0,704	8,9 ± 0,1	557 ± 4

Tab. 9. Naměřené hodnoty z 14.3.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	98	25	Nestanoveno	0,020	0,014	0,704	9,8 ± 0,2	810
6	4,2	84	17	0,016	0,018	0,016	0,887	8,4 ± 0,1	776 ± 1
12	4,3	68	13	0,017	0,018	0,016	0,906	7,1 ± 0,3	699 ± 40
18	4,3	53	8	0,017	0,019	0,018	0,969	6,4 ± 0,3	633
24	4,3	43	7	0,024	0,019	0,018	0,924	5,3 ± 0,0	577 ± 17
36	4,4	26	3	Nestanoveno	0,022	0,020	0,927	4,4 ± 0,4	522 ± 67
48	4,5	17	2	Nestanoveno	0,026	0,021	0,794	3,5 ± 0,1	463 ± 26
Blank	4,2	96	25	0,023	0,020	0,014	0,707	9,5 ± 0,3	735 ± 49

Tab. 10. Naměřené hodnoty z 4.4.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0,00	4,2	135,17	36,20	0,020	0,019	0,014	0,705	13,1 ± 0,1	694
6,00	4,2	121,02	27,09	0,016	0,018	0,015	0,863	11,8 ± 0,1	641 ± 23
12,00	4,2	103,87	21,74	0,016	0,018	0,016	0,890	10,4 ± 0,2	609
18,00	4,2	91,95	17,41	0,015	0,018	0,017	0,948	10,0 ± 0,0	613
24,00	4,2	78,70	14,49	0,017	0,018	0,017	0,940	8,8 ± 0,2	570 ± 6
36,00	4,3	62,57	10,49	0,017	0,018	0,019	1,035	7,8 ± 0,2	629
48,00	4,4	55,14	8,88	0,018	0,018	0,019	1,074	7,3 ± 0,2	643 ± 20
Blank	4,2	133,09	35,65	0,019	0,019	0,014	0,704	13,1 ± 0,1	642 ± 53

Tab. 11. Naměřené hodnoty z 28.4.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	117	31	0,021	0,020	0,014	0,708	11,2 ± 0,2	643
6	4,2	103	23	0,016	0,018	0,015	0,868	10,1 ± 0,2	641
12	4,3	87	18	0,016	0,018	0,016	0,899	8,8 ± 0,3	631 ± 8
18	4,3	74	13	0,015	0,018	0,017	0,977	8,4 ± 0,0	614 ± 4
24	4,4	62	11	0,015	0,017	0,017	0,999	6,7 ± 0,1	574
36	4,4	50	8	0,015	0,017	0,019	1,112	6,5 ± 0,3	530
48	4,5	40	6	0,014	0,017	0,020	1,165	5,7 ± 0,3	491
Blank	4,2	116	31	0,018	0,020	0,014	0,714	11,4 ± 0,2	630 ± 1

Tab. 12. Naměřené hodnoty z 16.5.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	117	31	0,020	0,020	0,014	0,704	12,6 ± 0,3	689 ± 0
6	4,2	102	23	0,016	0,018	0,015	0,851	10,9 ± 0,1	643 ± 47
12	4,3	89	19	0,016	0,018	0,016	0,883	9,6 ± 0,2	638 ± 65
18	4,3	70	13	0,015	0,018	0,017	0,959	8,7 ± 0,0	592 ± 66
24	4,4	73	14	0,015	0,017	0,017	1,017	7,9 ± 0,2	609 ± 37
36	4,4	52	9	0,015	0,017	0,018	1,071	6,5 ± 0,3	601 ± 48
48	4,5	52	9	0,015	0,017	0,019	1,123	6,7 ± 0,2	569 ± 9
Blank	4,2	114	31	0,018	0,020	0,014	0,696	12,5 ± 0,2	600 ± 5

Tab. 13. Naměřené hodnoty z 6.6.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá.

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	131	35	0,023	0,020	0,014	0,708	13,2 ± 0,2	668
6	4,2	116	26	0,015	0,018	0,016	0,876	11,5 ± 0,0	655
12	4,3	94	20	0,015	0,017	0,016	0,909	9,6 ± 0,2	618
18	4,3	79	15	0,015	0,017	0,017	0,972	8,8 ± 0,1	628
24	4,4	78	16	0,015	0,017	0,017	1,041	8,1 ± 0,4	627 ± 6
36	4,5	59	11	0,015	0,017	0,018	1,086	6,6 ± 0,3	604 ± 10
48	4,5	52	9	0,015	0,017	0,019	1,107	6,2 ± 0,8	565 ± 43
Blank	4,2	130	34	0,018	0,020	0,014	0,710	13,0 ± 0,1	688 ± 7

Tab. 14. Naměřené hodnoty z 27.6.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá.

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	155	41	0,022	0,020	0,014	0,725	14,9 ± 0,1	651 ± 0
6	4,1	139	31	0,016	0,018	0,016	0,878	13,1 ± 0,1	617 ± 18
12	4,2	117	25	0,016	0,018	0,016	0,911	11,4 ± 0,2	557 ± 2
18	4,3	109	21	0,015	0,017	0,017	0,981	10,9 ± 0,3	632
24	4,2	92	18	0,015	0,017	0,018	1,101	10,1 ± 0,3	565
36	4,3	105	22	0,015	0,017	0,017	1,025	9,6 ± 0,5	584
48	4,5	88	17	0,015	0,016	0,018	1,122	8,8 ± 0,2	540
Blank	4,2	152	40	0,019	0,020	0,014	0,716	14,4 ± 0,3	650 ± 9

Tab. 15. Naměřené hodnoty z 18.7.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá.

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	193	51	0,023	0,020	0,014	0,711	18,6 ± 0,3	653
6	4,3	170	40	0,019	0,018	0,015	0,847	16,8 ± 0,1	646
12	4,4	145	33	0,019	0,018	0,016	0,883	14,8 ± 0,2	639
18	4,4	135	28	0,015	0,017	0,016	0,955	13,7 ± 0,2	636 ± 32
24	4,5	136	30	0,016	0,017	0,017	0,988	13,4 ± 0,5	580 ± 1
36	4,5	128	27	0,016	0,017	0,017	1,045	12,8 ± 0,4	Nestanoveno
48	4,5	116	24	0,016	0,017	0,018	1,085	11,8 ± 0,8	581
Blank	4,2	188	50	Nestanoveno	0,020	0,014	0,708	18,5 ± 0,2	640 ± 97

Tab. 16. Naměřené hodnoty z 8.8.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	177	48	0,0184	0,0196	0,0136	0,6944	17,3 ± 0,0	Nestanoveno
6	4,3	166	38	0,0158	0,0178	0,0155	0,8705	15,6 ± 0,1	Nestanoveno
12	4,4	143	32	0,0155	0,0174	0,0153	0,8815	13,3 ± 0,1	Nestanoveno
18	4,3	127	26	0,0148	0,0174	0,0165	0,9523	13,0 ± 0,1	Nestanoveno
24	4,4	130	28	0,0153	0,0169	0,0166	0,9772	12,7 ± 0,2	Nestanoveno
36	4,4	115	24	0,0151	0,0168	0,0173	1,0310	11,9 ± 0,6	Nestanoveno
48	4,5	108	22	0,0150	0,0164	0,0176	1,0724	11,3 ± 0,3	Nestanoveno
Blank	4,2	179	48	0,0179	0,0196	0,0140	0,7165	17,1 ± 0,4	Nestanoveno

Tab. 17. Naměřené hodnoty z 2.9.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchylky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	173	46	0,018	0,020	0,014	0,715	16,3 ± 0,2	645
6	4,3	138	30	0,015	0,018	0,016	0,892	14,6 ± 0,1	635
12	4,3	131	29	0,015	0,017	0,016	0,902	12,1 ± 0,1	597 ± 24
18	4,3	117	23	0,015	0,017	0,017	0,978	12,1 ± 0,1	576
24	4,4	109	23	0,015	0,017	0,017	1,008	10,9 ± 0,2	561 ± 4
36	4,4	94	18	0,015	0,017	0,018	1,064	10,2 ± 0,6	488
48	4,5	88	17	0,015	0,017	0,018	1,110	10,0 ± 0,1	497
Blank	4,2	170	45	0,018	0,020	0,014	0,706	16,1 ± 0,1	545



Tab. 18. Naměřené hodnoty z 26.9.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	165	44	0,018	0,020	0,014	0,697	16,1 ± 0,2	724
6	4,3	149	35	0,016	0,018	0,015	0,855	13,8 ± 0,0	703 ± 57
12	4,4	130	28	0,015	0,017	0,016	0,898	11,7 ± 0,1	681 ± 23
18	4,3	116	23	0,015	0,017	0,017	0,965	10,8 ± 0,1	659 ± 13
24	4,4	109	22	0,015	0,017	0,017	1,001	9,9 ± 0,2	622
36	4,5	103	21	0,015	0,017	0,018	1,059	9,3 ± 0,6	608
48	4,5	87	17	0,015	0,017	0,018	1,104	8,4 ± 0,4	591
Blank	4,2	166	44	0,018	0,020	0,014	0,705	15,9 ± 0,1	676

Tab. 19. Naměřené hodnoty z 10.10.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá.

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	162	43	0,018	0,020	0,014	0,712	16,1 ± 0,1	744
6	4,2	150	33	0,016	0,018	0,016	0,877	14,4 ± 0,4	719
12	4,3	132	28	0,016	0,018	0,016	0,916	12,6 ± 0,2	735 ± 69
18	4,3	115	22	0,016	0,017	0,017	0,983	11,5 ± 0,1	705 ± 14
24	4,4	112	23	0,017	0,017	0,017	0,990	10,9 ± 0,4	708
36	4,4	102	20	0,017	0,017	0,018	1,069	10,0 ± 0,5	721
48	4,4	94	18	0,018	0,017	0,018	1,099	9,6 ± 0,4	704 ± 25
Blank	4,2	163	42	0,020	0,020	0,014	0,725	15,9 ± 0,2	763

Tab. 20. Naměřené hodnoty z 31.10.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,2	136	36	0,018	0,020	0,014	0,727	13,0 ± 0,1	737
6	4,2	124	27	0,016	0,018	0,016	0,894	11,4 ± 0,1	646
12	4,4	105	22	0,016	0,018	0,016	0,916	9,7 ± 0,0	654 ± 8
18	4,3	96	18	0,015	0,017	0,017	0,995	9,3 ± 0,1	610
24	4,5	91	18	0,016	0,017	0,017	1,017	8,7 ± 0,0	Nestanoveno
36	4,4	84	16	0,016	0,017	0,018	1,081	8,0 ± 0,4	610 ± 34
48	4,5	72	13	0,015	0,017	0,019	1,136	7,1 ± 0,7	604
Blank	4,2	134	35	0,019	0,020	0,014	0,723	12,8 ± 0,3	723 ± 4

Tab. 21. Naměřené hodnoty z 21.11.2011, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON ± směrodatné odchytky (SD). V některých případech u DON není SD uvedena, jelikož byla jedna ze dvou měřených hodnot koncentrací DON byla extrémně odlehlá

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) ± SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) ± SD
0	4,3	130	34	0,019	0,020	0,014	0,725	13,6 ± 0,5	589
6	4,3	118	26	0,016	0,018	0,016	0,888	11,9 ± 0,5	546 ± 30
12	4,5	100	21	0,016	0,018	0,016	0,918	10,0 ± 0,1	552
18	4,4	93	17	0,016	0,018	0,017	0,990	9,9 ± 0,1	Nestanoveno
24	4,6	84	16	0,018	0,017	0,017	1,000	8,5 ± 0,1	537
36	4,6	72	13	0,019	0,017	0,018	1,068	7,8 ± 1,1	479
48	4,7	61	10	0,025	0,017	0,019	1,108	7,0 ± 0,6	460
Blank	4,3	128	34	0,022	0,020	0,014	0,723	13,1 ± 0,1	512 ± 2

Tab. 22. Naměřené hodnoty z 12.3.2012, pH, absorpční koeficient při 254 a 350 nm, sklony spektrálních křivek a poměr křivek, koncentrace DOC a DON  $\pm$  směrodatné odchytky (SD)

Doba ozařování (hod)	pH	$a_{254}$ ( $m^{-1}$ )	$a_{350}$ ( $m^{-1}$ )	$S_{300-700}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{350-400}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_{276-295}$ ( $nm^{-1}$ )	$S_R$	DOC ( $mg\ l^{-1}$ ) $\pm$ SD	DON ( $ug\ l^{-1}$ ) $\pm$ SD
0	4,2	110	29	0,019	0,020	0,014	0,721	10,8 $\pm$ 0,2	751 $\pm$ 25
6	4,2	96	21	0,016	0,018	0,016	0,884	9,6 $\pm$ 0,1	738 $\pm$ 0
12	4,2	82	17	0,016	0,018	0,016	0,906	8,7 $\pm$ 0,1	693 $\pm$ 18
18	4,2	71	13	0,015	0,018	0,017	0,970	7,9 $\pm$ 0,1	650 $\pm$ 15
24	4,3	59	10	0,016	0,018	0,017	0,955	7,1 $\pm$ 0,2	659 $\pm$ 81
36	4,3	50	8	0,016	0,018	0,019	1,081	6,7 $\pm$ 0,5	601 $\pm$ 11
48	4,4	33	5	0,016	0,018	0,020	1,089	5,4 $\pm$ 0,6	639 $\pm$ 4
Blank	4,2	108	28	0,019	0,020	0,014	0,715	10,2 $\pm$ 0,3	760 $\pm$ 45