

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

**Fotochemická tvorba nízkomolekulárních organických
kyselin**

Bakalářská práce

Michaela Kovaříková

Školitel: Ing. Petr Porcal, Ph.D.

České Budějovice 2015

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

ZADÁVACÍ PROTOKOL BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Student: Michaela Kovaříková
(jméno, příjmení, tituly)

Obor – zaměření studia: Chemie pro vzdělávání – *MATEMATIKA PRO VZDĚLÁVÁNÍ*

Katedra: Ústav chemie a biochemie

Školitel: Petr Porcal, Ing., Ph.D.
(jméno, příjmení, tituly, u externího š. název a adresa pracoviště, telefon, fax, e-mail)

Téma bakalářské práce: Fotochemická tvorba nízkomolekulárních organických kyselin

Cíle práce: Práce bude zaměřena na charakterizaci a kinetiku tvorby meziproduktů fotochemického rozkladu přírodních organických látek v povrchových vodách s využitím HPLC separace.

Časový rozsah: březen 2015 – srpen 2015

Základní doporučená literatura:

Stumm W. (Ed.): Aquatic chemical kinetics: reaction rates of processes in natural waters. John Wiley & Sons, Inc. 1990

Brezonik, Patrick L. Water chemistry: an introduction to the chemistry of natural and engineered aquatic systems. Eds. Patrick L. Brezonik and William A. Arnold. Oxford University Press, 2012

Financování práce : GAČR 15-09721S

Vedoucí práce: Petr Porcal, Ing. Ph.D.

podpis: *Porcal Ph*

Garant oboru bak. studia (nepožaduje se u zaměření „příprava na mag. studium biologie)

doc. Mgr. Martin Kabeláč, Ph.D.

podpis: *Kabeláč*

Vedoucí katedry: doc. RNDr. Šárka Klementová, CSc.

podpis: *Šárka Klementová*

V Českých Budějovicích dne 11.3.2015

Převzal/a dne..... *20.10.2015* podpis : *Škorpínová*

Kovaříková, M., 2015: Fotochemická tvorba nízkomolekulárních organických kyselin. [Photochemical formation of the low-molecular-weight organic acids, Bc. Thesis, in Czech] 34 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Tato bakalářská práce se zabývá charakteristikou a kinetikou tvorby meziproductů fotochemického rozkladu přírodních organických látek v povrchových vodách v důsledku slunečního záření v systému neovlivněném bakteriemi, a to s využitím HPLC separace. Popisuje také vliv různých faktorů, jako jsou pH a stáří DOM (rozpuštěné organické látky), na průběh těchto reakcí.

Klíčová slova:

Fotochemické reakce, kinetika meziproductu, povrchové vody, organické kyseliny

Annotation:

This thesis deals with photochemical decomposition of dissolved organic matter (DOM) in surface waters. Intermediate products were identified using HPLC separation technique and the kinetics of formation and decomposition was modeled in a system unaffected by the presence of bacteria. The influence of various factors such as pH and age of DOM was tested.

Key words:

Photochemical reaction, kinetics of intermediate, surface water, organic acids

Prohlášení:

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

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

V Českých Budějovicích, 9. 12. 2015

Michaela Kovaříková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Petru Porcalovi, Ph.D. za odborné vedení, čas, cenné rady i připomínky a trpělivost v průběhu jejího zpracování. Mé díky patří také Ing. Tomáši Hubáčkovi za pomoc při práci s HPLC chromatografem.

Mé poděkování patří Grantové Agentuře České Republiky, která poskytla HBÚ AV ČR v Českých Budějovicích grant (15-09721S), díky kterému bylo možné uskutečnit potřebné pokusy a měření.

Obsah

| | |
|-----------------------------------|----|
| Seznam zkratk | 1 |
| 1. Úvod a cíle práce | 2 |
| 2. Literární rešerše | 3 |
| 2.1 Fotochemie | 3 |
| 2.1.1 Sluneční záření | 3 |
| 2.1.2 Fotochemické reakce | 4 |
| 2.1.3 Fotochemie vody | 6 |
| 2.2 Rozpuštěný organický materiál | 6 |
| 2.2.1 Fotochemické vlastnosti DOM | 7 |
| 2.3 HPLC | 8 |
| 3. Metodika | 9 |
| 3.1 Lokalita | 9 |
| 3.2 Odběr a příprava vzorků | 9 |
| 3.2.1 Ozařování vzorků | 10 |
| 3.3 Chemické analýzy | 10 |
| 3.3.1 Měření absorpance | 10 |
| 3.3.2 Měření alkality a pH | 11 |
| 3.3.3 Měření uhlíku | 11 |
| 3.3.4 HPLC | 11 |
| 3.4 Zpracování výsledků | 12 |
| 4. Výsledky | 14 |
| 4.1 Absorpance | 14 |
| 4.2 Alkalita | 15 |
| 4.3 DOC | 15 |
| 4.4 pH | 16 |
| 4.5 HPLC | 16 |
| 5. Diskuse | 19 |
| 6. Závěr | 21 |
| 7. Použitá literatura | 22 |
| 8. Přílohy | 24 |
| 8.1 Obrázky | 24 |
| 8.2 Tabulky | 32 |

Seznam zkratk

| Zkratka | Popis |
|---------|---|
| CDOM | opticky aktivní rozpuštěné organické látky (chromophoric or colored dissolved organic matter) |
| DIC | rozpuštěný anorganický uhlík (dissolved inorganic carbon) |
| DOC | rozpuštěný organický uhlík (dissolved organic carbon) |
| DOM | rozpuštěné organické látky (dissolved organic matter) |
| FA | fulvokyseliny (fulvic acids) |
| HA | humínové kyseliny (humic acids) |
| HS | humínové látky (humic substances) |
| NOM | přírodní organické látky (natural organic matter) |
| POM | partikulované organické látky (particulate organic matter) |

1. Úvod a cíle práce

Rozpuštěné organické látky (DOM) jsou přirozenou součástí povrchových vod. Jejich zdrojem je především horní organický/humusový horizont a podzolový profil. Množství i složení DOM je různé v závislosti na mnoha faktorech.

Nejvýznamnějšími činiteli ovlivňujícími složení DOM jsou především srážky, sluneční záření a bakterie. Srážky ovlivňují hlavně množství vyplaveného organického materiálu do povrchových vod. Působením slunečního záření, způsobujícího fotochemické přeměny, a aktivitou bakterií dochází ke kvalitativním změnám. Během těchto změn probíhá nejen přeměna původního DOM na nízkomolekulární organické sloučeniny, ale také na anorganické sloučeniny uhlíku.

Nízkomolekulární organické sloučeniny, jako jsou karboxylové kyseliny, aminokyseliny a sacharidy, jsou ve své rozpuštěné formě důležitým zdrojem energie a uhlíku pro bakterie (Berggren et al, 2010). Ukázalo se však, že sluneční světlo oxiduje DOM rychleji než bakterie (Köhler et al, 2002).

V této bakalářské práci jsou zkoumány nízkomolekulární organické kyseliny vzniklé v důsledku ozáření DOM umělým slunečním zářením. Je zkoumán především vliv doby záření na koncentraci těchto kyselin ve vzorcích, přičemž vzorky byly odebírány z různých lokalit a v odlišnou roční dobu. Před započítáním experimentů byly vzorky zfiltrvány, proto se jedná o kinetiku fotochemických reakcí v systému neovlivněném přítomností bakterií.

Práce je zaměřena na charakterizaci a kinetiku tvorby meziproduktů fotochemického rozkladu přírodních organických látek v povrchových vodách za stálých podmínek a bez působení vnějších vlivů.

2. Literární rešerše

2.1 Fotochemie

2.1.1 Sluneční záření

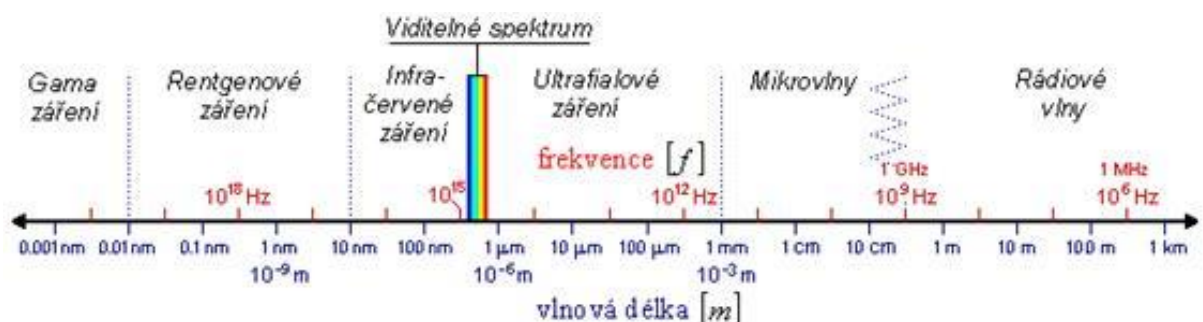
Slunce je veškerým a trvalým zdrojem energie přicházející na Zemi. Zdrojem jeho energie je termonukleární reakce nazývaná jaderná fúze.

Hustota toku energie vycházející z povrchu slunce se uvádí okolo 60 MW/m^2 , přičemž na vstupu do zemské atmosféry je tato hustota již snížena na $1\,367 \text{ W/m}^2$. Z tohoto množství energie vstupující do atmosféry je asi 9 % ultrafialové (UV) záření, 41 % viditelné světlo (VIS) a 50 % infračervené záření (IR). V průměrné roční bilanci jen okolo 47 % této energie dopadá na povrch Země, a to v důsledku odrazu a pohlcování záření atmosférou (Kleczek, 2002).

Sluneční záření má tzv. duální charakter, protože za určitých podmínek se projevuje jako vlnění a za jiných jako proud částic zvaných fotony. Energie záření se udává v jednotkách Einstein (Ei), které vyjadřují energii jednoho molu fotonů. Energie fotonů (E) závisí na vlnové délce (λ)

$$E = h \frac{c}{\lambda} = h \cdot \nu, \quad (1)$$

kde h je Plankova konstanta $h = 6,626069 \cdot 10^{-34} \text{ J}$ a c je rychlost šíření světla ve vakuu $c = 2,997925 \cdot 10^8 \text{ m/s}$. Veličina ν se nazývá frekvencí (Tomková, 2014). Sluneční záření je elektromagnetickým zářením. Ze Slunce k nám přichází široký rozsah vlnových délek, které se dělí podle elektromagnetického spektra zobrazeného na Obrázku 1.



Obr. 1: Spektrum elektromagnetických vln (Jančovič, 2005).

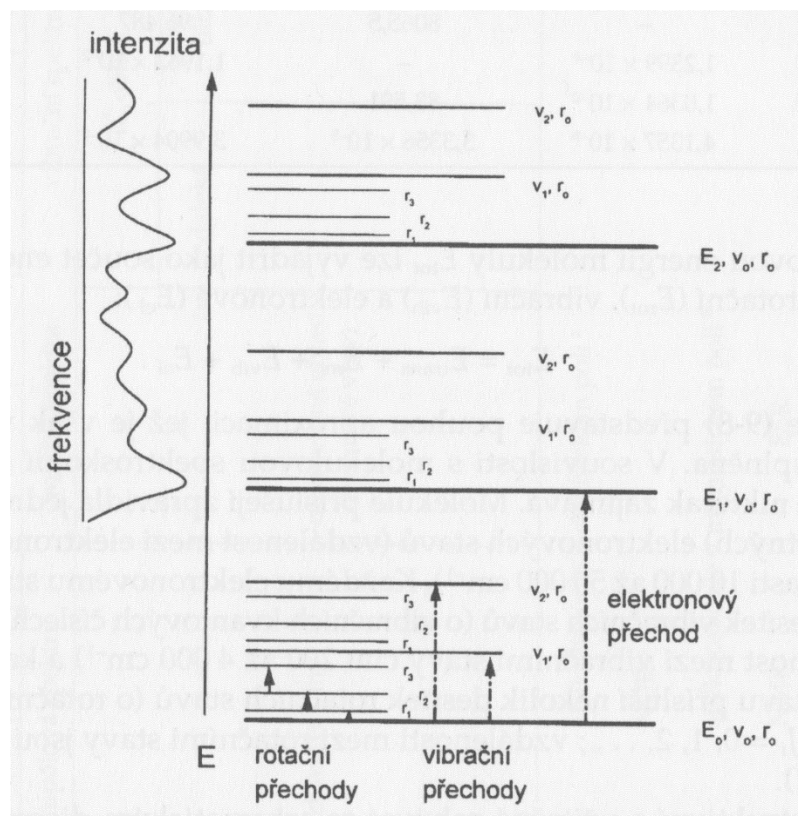
Sluneční záření je nenahraditelnou součástí procesu fotosyntézy. Během fotosyntézy dochází k přeměně anorganického uhlíku na uhlík organický za vzniku O₂. Tento

proces je důležitou součástí toku energie a koloběhu uhlíku na Zemi. Během průchodu záření atmosférou dochází nejvíce k pohlcování vlnových délek kratších než 300 nm a delších než 1 000 nm, z čehož UV záření pohlcuje především ozon a kyslík, a IR oxid uhličitý společně s vodními parami. Organismy schopné fotosyntézy proto k této reakci využívají především záření v rozmezí vlnových délek od 400 do 700 nm (Atkins and Paula, 2005).

2.1.2 Fotochemické reakce

Podle prvního fotochemického zákona víme, že pouze absorbované světlo se podílí na fotochemické transformaci. Díky absorpci fotonu dochází k excitaci molekuly (Klán a Wirz, 2009).

Při absorpci fotonu dochází k přechodu elektronu či elektronů ze základního stavu do stavu excitovaného. Albert Einstein jako první popsal, že energie molekuly se takto může měnit jen po určitých kvantech (Klán a Wirz, 2009). Je to proto, že elektron lze v molekule excitovat pouze na určité energetické úrovni, které jsou znázorněné na Obrázku 2.



Obr. 2: Diagram přípustných elektronových (E), vibračních (v) a rotačních (r) energetických stavů. Index 0 značí základní stav, energie roste s rostoucí hodnotou indexu. Vlevo je vyznačeno absorpční spektrum (intenzita signálu jako funkce frekvence záření), které je důsledkem přechodu molekuly do vzbuzených elektronových a vibračních stavů (Polák a Zahradník, 2000).

Po absorpci energie molekulou může elektron buď z molekuly uniknout úplně a vytvořit tak aniont, nebo se vrátit do základního stavu, k čemuž může dojít pomocí několika procesů. Jednou z možností je vyzáření energie v podobě světelné emise. K tomu může dojít pomocí fluorescence nebo fosforescence. Nejvýraznější rozdíl mezi těmito procesy je v tom, že při fluorescenci dochází k vyzařování absorbované energie téměř okamžitě po jejím přijetí, kdežto při fosforescenci k tomu dochází pomaleji a opožděně (v důsledku možnosti přechodu elektronů do tripletového stavu), tedy vizuálně můžeme vidět látku zářit i delší dobu po odstranění zdroje excitace (Atkins and Paula, 2005). Excitovaný stav také může vést ke strukturálním změnám, jako již například zmíněný vznik aniontu, a dále k tvorbě nových sloučenin.

Přímou fotolýzou nazýváme reakci právě té molekuly, u které došlo k absorpci světla. Pokud se jedná o reakci molekuly či molekul, které nebyly excitovány, s molekulou

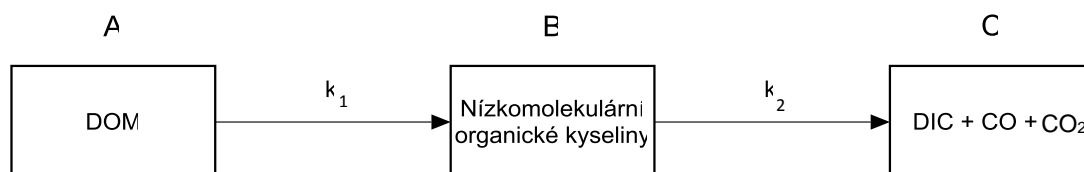
excitovanou, tzv. senzibilátorem, jedná se o nepřímou fotolýzu, nebo-li fotosenzitivní reakci. Díky nepřímé fotolýze mohou být fotochemicky rozloženy i takové sloučeniny, které by sami nemohly světlo absorbovat (Tomková, 2014).

2.1.3 Fotochemie vody

Toto odvětví chemie vody je poměrně mladé, avšak jeho významnost se stává čím dál výraznější. První studie na toto téma probíhaly až od poloviny sedmdesátých let dvacátého století a většího zájmu se fotochemie vody dočkala až v letech osmdesátých.

Fotochemie ovlivňuje organické i anorganické látky obsažené ve vodě. Dochází díky ní například ke vzniku silně reaktivního singletového kyslíku nebo hydroxylových radikálů. Tyto částice mohou dále díky své vysoké reaktivitě vstupovat i do reakcí s jinak velmi stabilními látkami, které sami UV či VIS záření neabsorbují (Brezonik and Arnold, 2011). S narůstajícím znečištěním povrchových vod je důležité znát tyto procesy, abychom lépe porozuměli osudu polutantů v přírodě a našli efektivní způsob jejich odstranění.

Z měření uskutečněných v minulosti (Moran and Zepp, 1997) vyplývá, že fotochemické reakce v povrchových vodách probíhají podle schématu na Obrázku 3.



Obr. 3: Schéma postupných reakcí při ozařování povrchových vod.

2.2 Rozpuštěný organický materiál

Běžnou a hojně zastoupenou součástí povrchových vod je i organický materiál, který má dvě hlavní složky. Jsou jimi rozpuštěné organické látky (DOM), jejichž průměr částic je menší než 0,45 μm , a partikulované organické látky (POM), jejichž průměr částic je větší (Tan, 2014).

Organický materiál se do vody dostává ze dvou hlavních zdrojů. Alochtonního původu je ten organický materiál, který se do vody dostává z půdy. Organické látky, které

mají svůj původ v činnosti rostlinných a živočišných organismů působících přímo ve vodě, se nazývají autochtonní (Tomková, 2014, Frejlachová, 2014).

Chemické složení DOM nelze snadno kvalifikovat. Jejich molekuly vedle nejčastěji zastoupeného uhlíku, kyslíku a vodíku obsahují i množství dalších prvků. Také struktura je různá. Velmi často je tvořena složitými molekulami obsahujícími navzájem zesítěné aromatické cykly s navázanými funkčními skupinami. Aromatické cykly nejčastěji umožňují interakce s ostatními organickými látkami a díky funkčním skupinám mohou látky sloužit jako chelatační činidla pro kovy a tím ovlivňovat jejich biodostupnost pro organismy (McDonald et al, 2004). Kvantifikace DOM tedy probíhá nejčastěji na základě obsahu uhlíku, který představuje zhruba 50 % hmoty (IHSS, 2015). Tato složka DOM je označována jako rozpuštěný organický uhlík (DOC) (Tan, 2014).

DOM jsou tvořeny dvěma skupinami látek. Jedná se o látky huminového (HS) a nehuminového charakteru. Mezi látky nehuminového charakteru se řadí především bílkoviny a polysacharidy rozpuštěné ve vodě. HS se řadí mezi vysokomolekulární heterocyklické sloučeniny aromatického charakteru obsahující dusík. Ve vodě se tvoří důsledkem rozkladných procesů rostlinné a živočišné hmoty nebo jsou přiváděny z půdních výluhů (Pivokonský et al, 2010, Pitter, 2009). HS se dále dělí do tří následujících skupin: fulvokyseliny (FA – obsah uhlíku cca 46 %), huminové kyseliny (HA – obsah uhlíku cca 57 %) a huminy (Steinberg, 2003). Tyto tři skupiny se od sebe liší svou rozpustností v přírodních vodách. FA jsou zcela rozpustné, huminy nerozpustné a HA jsou rozpustné jen v kyselém prostředí (Tan, 2014).

DOM je také tvořen nízkomolekulárními sloučeninami, jako jsou karboxylové kyseliny, aminokyseliny a nízkomolekulární organické kyseliny. Tyto látky jsou důležitým zdrojem energie a uhlíku pro bakterie (Berggren et al, 2010).

2.2.1 Fotochemické vlastnosti DOM

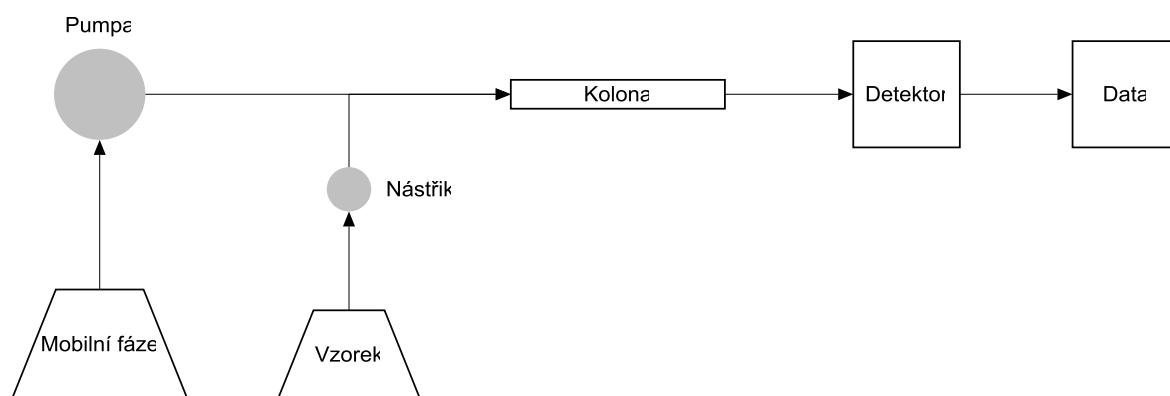
Některé složky DOM v povrchových vodách jsou opticky aktivní a jiné ne. Opticky aktivní části DOM se souhrnně nazývají CDOM a z velké části určují optické vlastnosti většiny povrchových vod, ochraňují organismy před působením UV záření a hrají klíčovou roli v množství biochemických a fotochemických reakcích (Helms et al, 2008).

Bylo prokázáno, že absorpcí světla dochází ke snížení koncentrace DOM, zmenšení průměrné molekulární hmotnosti a ke změnám v optických vlastnostech vody, především ztrátě barevnosti (Kopáček et al, 2003). Sluneční záření způsobuje fotochemickou oxidaci CDOM jejímiž produkty jsou nízkomolekulární organické sloučeniny a anorganické sloučeniny ve formě oxidu uhličitého a oxidu uhelnatého (Köhler et al, 2002).

Průchod jednotlivých vlnových délek slunečního záření do povrchových vod není rovnoměrný. UV záření je absorbováno více než VIS, a proto iniciuje fotochemické reakce jen v horních vrstvách vodního sloupce. To má za důsledek to, že většina biologicky dostupného DOM se nachází ve vrchní části vodního sloupce a s přibývajícím hloubkou rapidně ubývá fotobělících reakcí a reakcí, jejichž produktem je DIC (Moran and Zepp, 1997).

2.3 HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je jak kvalitativní, tak kvantitativní analytickou metodou. Je založena na rozdílné afinitě a interakcích molekul obsažených ve vzorku nesených mobilní fází se stacionární fází na koloně. Rozdílné analyty mají různé zpoždění na koloně, retenční čas, díky čemuž lze určit, o jaký analyt se jedná. Výška a šířka píku na výsledném chromatogramu vypovídá o množství tohoto analytu (Kupiec, 2004). Pro zjištění množství analytu podle velikosti píku se před samotným měřením vzorku o neznámé koncentraci provádí kalibrace na vhodné standardy o předem známé koncentraci. Základní schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu je znázorněno na Obrázku 4.



Obr. 4: Schéma HPLC chromatografu.

3. Metodika

3.1 Lokalita

Výběr lokality pro odběr vzorků byl proveden na základě dlouhodobého monitorování povrchových vod Hydrobiologickým ústavem v Českých Budějovicích.

Vzorky byly odebrány z Jiřické vodní nádrže, taktéž známé pod jménem Pohořský rybník, z přítoku Plešného jezera a z půdy v okolí Plešného jezera, ze které byl získán výluh. Tyto oblasti byly vybrány zejména pro své rozdíly v pH a předchozí potenciální expozici organických látek v nich obsažených slunečnímu záření.

3.2 Odběr a příprava vzorků

Celkem bylo odebráno pět vzorků. Jarní období reprezentoval vzorek odebraný z hladiny Jiřické vodní nádrže (1. 3. 2015), který budeme značit M1. Letní období reprezentovaly vzorky z přítoku do Jiřické vodní nádrže — M2 a také z její hladiny — M3 (oba 17. 8. 2015) a přítok do Plešného jezera (PL-1, stálá lokalita odběru HBÚ AV ČR v Českých Budějovicích) — M4 (19. 8. 2015). Tyto vzorky byly přivezeny zabalené do hliníkové fólie, aby se zabránilo působení světla. V laboratoři HBÚ AV ČR v Českých Budějovicích byly ihned zfiltrOVány přes 0,4 µm skleněný filtr (Macherey Nagel, Německo), a následně přes 0,2 µm nylonový filtr (Supelco, USA), a opět obalené hliníkovou fólií a uchované v chladničce do dalšího zpracování. Tato filtrace byla nutná pro odstranění bakterií, jejichž růst by zásadně ovlivnil kinetiku tvorby nízkomolekulárních organických kyselin a výběr filtrů byl především přizpůsoben tomu, aby nedošlo ke zkreslení výsledků měření obsahu rozpuštěného organického uhlíku.

Poslední vzorek byl získán odběrem 10 g půdy z horizontu A z lokality TF1 (stálá lokalita odběru HBÚ AV ČR v Českých Budějovicích), na které se měří podkorunové srážky povodí Plešného jezera — M5 (19. 8. 2015). Tato půda byla následně louhována po dobu čtyř hodin ve dvou litrech destilované vody za laboratorní teploty ve tmě a zfiltrOVána stejným způsobem, jako předešlé vzorky.

U všech vzorků bylo také bezprostředně po přivezení a tedy před ozařováním provedeno standardní měření základních chemických parametrů. Přehled výsledků standardního měření je uveden v příloze v Tabulce P1.

3.2.1 Ozařování vzorků

Vzorky byly přelity do křemenných nádob, které propouštějí UV záření, a vystaveny záření v ozařovacím reaktoru SolSim (Luzchem) vybaveného xenonovou lampou, intenzita ozařování uvnitř reaktoru byla 350 W/m^2 .

Vedle ozařovacího reaktoru byly dále umístěny kontrolní vzorky, které byly obalené hliníkovou fólií a vystavené stejné teplotě jako vzorky v reaktoru, a to až do doby ukončení ozařování.

Ozařování prvního vzorku z hladiny Jiřické vodní nádrže začalo 11. 3. 2015 ve 12:00 a byly z něj postupně odebírány vzorky po jedné, dvou, třech, pěti, devatenácti a dvaceti čtyřech hodinách ozařování. Ve stejných intervalech byly také odebírány vzorky kontrolní.

Vzorky z přítoku Jiřické vodní nádrže a její hladiny byly ozařovány od 18. 8. 2015 v 8:00 a z Plešného jezera a půdního výluhu 25. 8. 2015 v 8:00. Odebrání ozářených vzorků proběhlo po čtyřech, osmi, dvanácti, dvaceti čtyřech a čtyřiceti osmi hodinách. Kontrolní vzorky byly odebrány až po ukončení ozařování.

Pro účely stanovení rozpuštěného organického uhlíku byly odebrány zvláštní vzorky vždy na začátku a na úplném konci ozařování. Odběry vzorků pro HPLC separaci probíhaly v tripletech a byly filtrovány přes $0,2 \mu\text{m}$ PVDF stříkačkový filtr (Fisher Scientific, Pardubice).

3.3 Chemické analýzy

3.3.1 Měření absorpance

Měření absorpance probíhalo na přístroji Specord 210 (Analytik Jena, Německo). Příklad byl nejprve kalibrován na destilovanou vodu a poté bylo provedeno měření jednotlivých vzorků. Absorpance byla měřena v rozmezí od 200 do 800 nm.

3.3.2 Měření alkality a pH

Jak alkalita, tak pH, byly měřeny na přístroji TIM865 (Radiometer analytical).

Před měřením pH byl přístroj kalibrován pufrý s hodnotou pH 4 a 7. Měření probíhalo za stálého míchání vzorku.

Na začátku měření alkality byla provedena kontrola zásobníku s kyselinou. Zásobník obsahoval 0,01 M kyselinu chlorovodíkovou. Také toto měření probíhalo za stálého míchání vzorku.

3.3.3 Měření uhlíku

Stanovení DOC ve vzorcích bylo prováděno na přístroji SHIMADZU (TOC 5000A, Japonsko). Přístroj obsahuje platinové katalyzátory, které za teploty 680 °C katalyticky oxidují rozpuštěný organický uhlík na anorganický ve formě CO₂, a tento je následně detekován (Tomková, 2014).

3.3.4 HPLC

Pro HPLC separaci byl použit přístroj ICS—5000+ (DIONEX, USA) s kolonou IonPac AS11-HC-4 μm (DIONEX, USA). Tento chromatograf využívá generátor mobilní fáze, díky kterému je možné dosáhnout vyšší čistoty mobilní fáze. Jako mobilní fáze byl použit KOH v rozmezí koncentrací od 0,5 do 110 mmol. Grafické znázornění gradientu mobilní fáze je na Obrázku P1 v příloze. Nastříkovaný objem vzorků byl 3 μl. Teplota v autosampleru byla udržována na 5 °C a v celém zbytku přístroje 30 °C. Průtok byl nastaven na 0,015 ml/min a celková doba analýzy jednoho vzorku trvala 105 min. Chromatograf byl dále vybaven guard kolonou, aby nedošlo k poškození kolony hlavní, a supresorem pro odstranění mobilní fáze před detekcí signálu na detektoru.

Výsledné chromatogramy byly zpracovány v programu Chromeleon. Pro zjištění kvalitativní charakteristiky vzorků bylo provedeno kalibrační měření analytů přidáním vnitřních standardů očekávaných vznikajících nízkomolekulárních organických kyselin, aby byl určen retenční čas těchto látek. Seznam kyselin byl sestaven na základě výsledků podobných měření uskutečněných v zahraničí (Berggren *et al*, 2010). Před samotným

měření vzorků bylo provedeno také kalibrační měření se standardy o různé koncentraci, aby bylo možné zjistit množství analytů ve vzorcích.

3.4 Zpracování výsledků

Všechny výsledky byly vyhodnocovány pomocí počítačového programu Excel.

Absorpční koeficient a pro jednotlivé proměřované vlnové délky byl počítán podle následujícího vztahu:

$$a = 2,303 \frac{A}{l}, \quad (2)$$

kde A je naměřená absorbance a l tloušťka vrstvy vzorku, kterou procházelo světlo při měření. Pro modelaci poklesu absorbance byla použita následující rovnice pro kinetiku prvního řádu:

$$a_{sum} = (a_0 - a_r)e^{-kt} + a_r, \quad (3)$$

ve které a_{sum} vyjadřuje součet absorpčních koeficientů všech proměřovaných vlnových délek (250-450 nm), k vyjadřuje rychlostní konstantu, t udává čas, a_0 je hypotetická výchozí suma absorpčních koeficientů a a_r neodbouratelná suma absorpčních koeficientů (Helms et al, 2008). Hodnoty a_0 , a_r a k byly zjišťovány pomocí nelineární regrese počítané ke koeficientu determinace (R^2), pro který platí:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^t (a_{sum}^i - a_{sum}(i))^2}{\sum_{i=1}^t (a_{sum}^i - \overline{a_{sum}})^2}, \quad (4)$$

kde a_{sum}^i vyjadřuje naměřený součet absorpčních koeficientů v čase t , $a_{sum}(i)$ vypočtený součet absorpčních koeficientů z rovnice (3) v čase t a $\overline{a_{sum}}$ průměr všech naměřených součtů absorpčních koeficientů (Brown, 2001).

Při modelování koncentrace jednotlivých produktů se vycházelo z rovnice kinetiky prvního řádu pro meziprodukt:

$$c_B = \frac{(c_A - c_r)k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}) + c_r, \quad (5)$$

kde c_B je koncentrací meziprojektu, c_A je předpokládanou koncentrací výchozí látky (DOM), c_r je výchozí koncentrace meziprojektu při měření, k_1 a k_2 jsou rychlostní konstanty probíhajících reakcí a t je čas. Grafické znázornění rovnice pro hypotetický systém je na Obrázku P2 v příloze (Connors, 1990). Hodnoty c_A , c_r , k_1 a k_2 byly zjišťovány pomocí nelineární regrese počítané ke koeficientu determinace (R^2), pro který platí:

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^t (c_B^i - c_B(i))^2}{\sum_{i=1}^t (c_B^i - \bar{c}_B)^2}, \quad (6)$$

přičemž c_B^i vyjadřuje naměřenou koncentraci meziprojektu v čase t , $c_B(i)$ koncentraci meziprojektu vypočtenou z rovnice (5) v čase t a \bar{c}_B průměr všech naměřených koncentrací meziprojektu (Brown, 2001).

Hranice konfidenčního intervalu (c_{max} – horní hranice, c_{min} – dolní hranice) byly modelovány pomocí následujících rovnic:

$$c_{max} = c_B + TINV(0,05; df) \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^t (c_B^i - c_B(i))^2}{df}}, \quad (7)$$

$$c_{min} = c_B - TINV(0,05; df) \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^t (c_B^i - c_B(i))^2}{df}}, \quad (8)$$

ve kterých platí, že df je počet stupňů volnosti a $TINV$ je označení funkce Studentova rozložení. Díky dosazené hodnotě 0,05 je mez spolehlivosti 95 % (Brown, 2001).

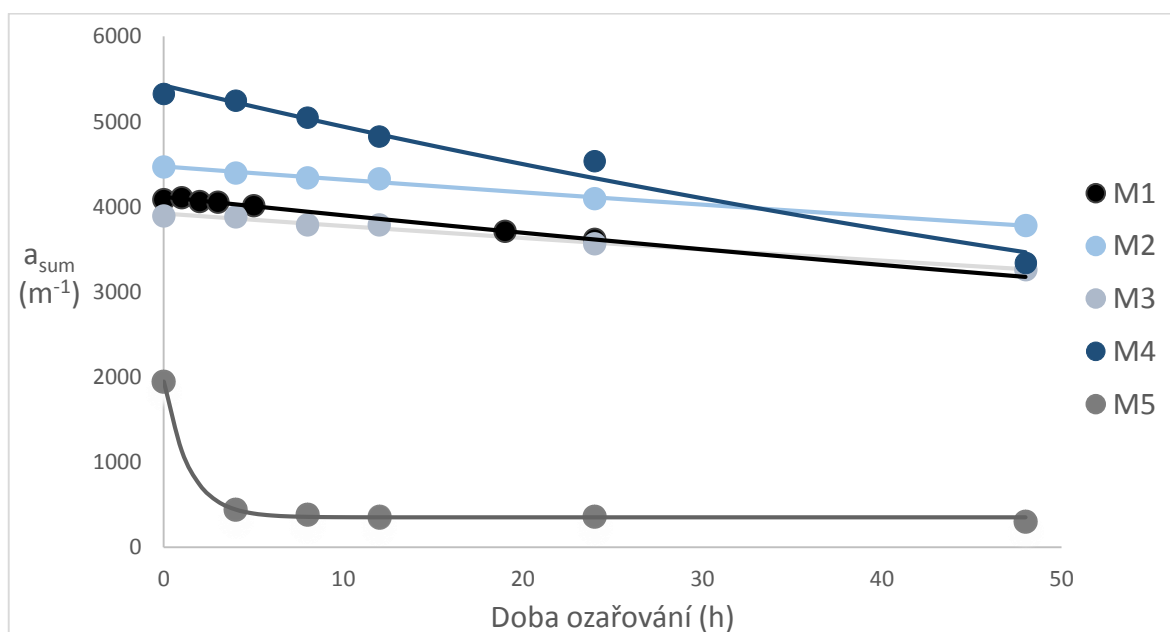
4. Výsledky

Pokus se vzorkem M1 proběhl dříve než se vzorky M2-M5. Na základě výsledků prvního pokusu byla prodloužena doba ozařování následujících čtyř vzorků a uzpůsobeny časy odběrů průběžných vzorků.

4.1 Absorbance

Výsledné hodnoty sum absorpčních koeficientů před ozařováním se u vzorků M1-M4 pohybovaly v rozmezí od 3891 m^{-1} do 5325 m^{-1} . Pro vzorek M5, který byl získán výluhem, byla hodnota rovna 1947 m^{-1} . Po ozařování absorbance u všech vzorků klesla, hodnoty sum absorpčních koeficientů pro vzorky M1-M5 dosahovaly hodnot mezi 3260 m^{-1} a 3778 m^{-1} . V průměru hodnoty absorbance klesly o 33 %, jen u vzorku M5 došlo k výraznějšímu poklesu a to o 84 %.

Sumu absorpčních koeficientů lze považovat za určitou míru obsahu CDOM v povrchových vodách (Helms et al, 2008). Během ozařování tedy dochází k chemickým přeměnám, které mají za následek prokazatelné snížení množství CDOM ve vodě. Přehled poklesu absorbance u jednotlivých vzorků v průběhu ozařování je v Tabulce P2 v příloze. Grafické znázornění trendu absorbance vyjadřuje Obrázek 5, ve kterém byl pokles modelován pomocí Rovnice (3).



Obr. 5: Pokles absorbance vzorků M1-M5 v průběhu ozařování.

Je patrné, že rychlost, se kterou k poklesu barevnosti dochází, se liší. Tyto rozdíly jsou zřetelné na hodnotách rychlostních konstant k , které byly získané z Rovnice (3) a jsou vypsány v Tabulce 1. Čím je pokles barvy strmější, tím má rychlostní konstanta k vyšší hodnotu.

Tab. 1: Rychlostní konstanty poklesu absorbance ozařovaných vzorků M1-M5.

| Vzorek | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 |
|--------|----------|----------|----------|----------|--------|
| k | 0,005399 | 0,003506 | 0,003817 | 0,009339 | 0,2645 |

U kontrolních vzorků došlo k nepatrnému nárůstu absorbance. Tento nárůst se u většiny vzorků pohyboval okolo 2 %. Přehled naměřených hodnot absorbance jednotlivých kontrolních vzorků se nachází v Tabulce P3 v příloze.

4.2 Alkalita

Před započítáním ozařování se hodnoty alkality jednotlivých vzorků pohybovali v širokém rozmezí od -29 $\mu\text{eq/l}$ do 224 $\mu\text{eq/l}$. Vyšší hodnoty vypovídají o větším množství kyseliny, kterou může vzorek přijmout, aniž by se markantně změnila hodnota pH. Po ozáření alkalita všech vzorků vzrostla v průměru o 61 %, přičemž k nejmenšímu nárůstu došlo u vzorku M3 o 7,2 % a k největšímu u vzorku M4 o 147 %.

U kontrolních vzorků došlo v průměru k nárůstu alkality o 9 %. Nejnižší nárůst byl 4 % u vzorku M3 a výrazně nejvyšší 22,3 % u vzorku M5. Všechny naměřené hodnoty a vypočtené nárůsty jsou uvedeny v Tabulce P4 v příloze.

4.3 DOC

Naměřené hodnoty DOC před ozařováním se u vzorků M1-M4 pohybovaly mezi 10,26 mg/l a 14,75 mg/l. U vzorku M5 bylo množství DOC rovno jen 4,11 mg/l. Z výsledků naměřených na konci experimentu je patrné, že u všech ozářených vzorků došlo k poklesu množství DOC. K nejznatelnějšímu poklesu DOC došlo u vzorku M4 o 33,3 %, u ostatních vzorků se množství DOC v průměru snížilo o 11,4 %.

Pokles DOC potvrzuje, že během působení záření dochází k oxidaci organických sloučenin, která vede až k anorganickým sloučeninám uhlíku. V kontrolních vzorcích nedošlo k žádné hodnotitelné změně. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v příloze v Tabulce P5.

4.4 pH

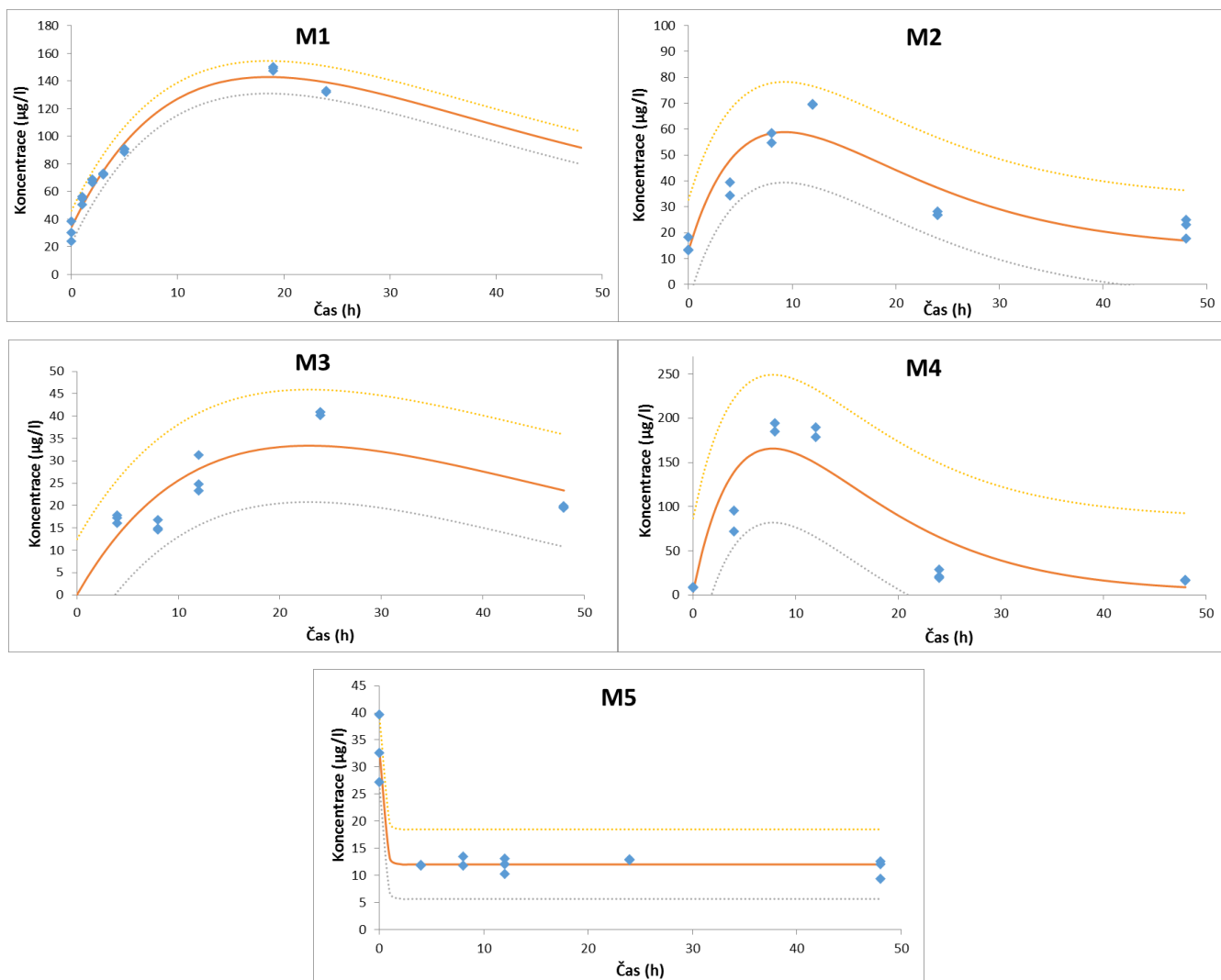
Počáteční pH vzorků se pohybovalo v rozmezí od 4,6 do 7,3. U ozařovaných i kontrolních vzorků byl většinou zaznamenán mírný nárůst hodnot. Rozdíl pH byl vždy menší než 10 %. Hodnoty pH pro všechny vzorky jsou uvedeny v příloze v Tabulce P6.

4.5 HPLC

Ve většině vzorcích bylo s jistotou určeno sedm následujících nízkomolekulárních organických kyselin: octová, mravenčí, izomáselná, jantarová, vinná, maleinová a šťavelová.

Jejich koncentrace a tedy i zastoupení ve vzorku se značně lišilo a pohybovalo se od jednotek až po stovky mikrogramů na litr. Ve vzorcích byl většinou zaznamenán nejprve přírůstek těchto kyselin následovaný jeho pozdějším poklesem v průběhu ozařování, což odpovídá klasické kinetice meziprojektu. U několika pokusů se počáteční nárůst množství zaznamenat nepodařilo. To ovšem tuto skutečnost nevylučuje, protože odběry prvních vzorků u těchto pokusů byly prováděny až po čtyřech hodinách od započetí ozařování. Došlo také k tomu, že nebyl naměřen následovný pokles množství kyseliny. Tato skutečnost opět nevylučuje, že k poklesu nedochází. Je pravděpodobné, že doba ozařování nebyla dostatečně dlouhá, proto nebylo možné pokles zaznamenat.

Množství kyseliny vinné ve vzorcích se před ozařováním pohybovalo v rozmezí okolo 10-30 $\mu\text{g/l}$. Po ukončení ozařování bylo toto množství v rozmezí 12-20 $\mu\text{g/l}$. Maximálního množství kyseliny vinné bylo ve vzorcích naměřeno v různém čase od počátku ozařování a pohybovalo se v rozmezí 30-180 $\mu\text{g/l}$. Grafické znázornění změny koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5 je na Obrázku 6. Křivky byly modelovány pomocí Rovnice (5).



Obr. 6: Změna koncentrace kyseliny vinné v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovanou kinetiku a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.

Důležitými parametry charakterizující kinetiku tvorby těchto kyselin jsou rychlostní konstanty k_1 a k_2 . Byly počítány pomocí Rovnice (5) jako součást modelace křivek znázorňující změnu koncentrace v průběhu ozařování. V případě kyseliny vinné jsou si k_1 a k_2 většinou rovné, případně je k_1 vyšší a reprezentuje tak rychlejší tvorbu kyseliny, než její spotřeba. U ostatních vznikajících kyselin se konstanty k_1 a k_2 také často rovnají, avšak pokud tomu tak není, nelze se vyslovit k jednoznačnému trendu, zda jednotlivé kyseliny napříč vzorky rychleji vznikají, či jsou spotřebovávány. Hodnoty konstant jsou vždy větší nebo rovny 0 a téměř výhradně menší než 1.

Stejně tak podstatný je i koeficient determinace R^2 , který je jakousi mírou přesnosti, s jakou namodelovaná křivka souhlasí s naměřenými údaji. Koeficient determinace byl

počítán pomocí Rovnice (6). Je to bezrozměrná hodnota. Čím je hodnota R^2 blíže číslu 1, tím lépe modelovaná křivka odpovídá naměřeným výsledkům. Většina získaných R^2 u všech kyselin je větší než 0,75.

Tyto modelované hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 2 společně s teoretickou koncentrací výchozí látky (c_A) a počáteční koncentrací kyseliny vinné (c_r) získané z Rovnice (5).

Tab. 2: Hodnoty teoretických koncentrací výchozí látky (c_A), počátečních koncentrací (c_r), rychlostních konstant (k_1 , k_2) a koeficientů determinace (R^2) pro kyselinu vinnou ve vzorcích M1-M5.

| Vzorek | Kyselina vinná | | | | |
|--------|---------------------------|---------------------------|--------|--------|--------|
| | C_A ($\mu\text{g/l}$) | C_r ($\mu\text{g/l}$) | k_1 | k_2 | R^2 |
| M1 | 329,3 | 34,47 | 0,0540 | 0,0539 | 0,9807 |
| M2 | 137,1 | 13,38 | 0,1079 | 0,1079 | 0,8200 |
| M3 | 90,74 | 0,000 | 0,0437 | 0,0437 | 0,6663 |
| M4 | 445,0 | 3,185 | 0,1285 | 0,1285 | 0,8066 |
| M5 | 12,02 | 33,13 | 2,903 | 0,0000 | 0,9194 |

Grafické znázornění změny koncentrace v průběhu ozařování pro ostatní kyseliny je na Obrázcích P3a-P3g v příloze. Hodnoty charakterizující kinetiku tvorby jednotlivých nalezených nízkomolekulárních organických kyselin jsou uvedeny v příloze v Tabulce P7.

5. Diskuse

Působením umělého slunečního záření na DOM obsažené ve vzorcích povrchových vod došlo k prokazatelným změnám. Nastal pokles barevnosti u všech vzorků, což vypovídá o přeměně CDOM na nebarevné nízkomolekulární organické sloučeniny a DIC. Tento pokles lze modelovat pomocí kinetiky prvního řádu (Helms et al, 2008). Působením záření dochází k přeměně DOM na DIM a nízkomolekulární organické sloučeniny, které jsou snadno rozložitelné a tedy významným zdrojem energie a uhlíku pro bakterie (Berggren et al, 2010, Zepp et al, 2003). K jednoznačně největšímu poklesu sumy absorpčních koeficientů došlo u vzorku M5 získaného z půdního výluhu, u kterého byly obsažené DOM nejčerstvější (nedošlo k předchozímu působení vnějších vlivů a ozařování). U vzorku M4 získaného z přítoku, kde na DOM již nějakou dobu působilo slunečnímu záření, a který měl zároveň nejnižší hodnotu pH, byl pokles barevnosti přibližně dvakrát nižší, než tomu bylo u vzorku z půdního výluhu. Ještě o řád níže se pohyboval pokles absorbance u vzorků M1, M2 a M3. Vzorek M2 byl odebrán také z přítoku, ale jeho pH bylo téměř 7, stejně jako u vzorků M1 a M3 odebíraných z hladiny stojatých vod. Dá se předpokládat, že úbytek barevnosti probíhá rychleji u vzorků obsahujících dříve neozářený DOM, než u vzorků, které již byly záření vystaveny v minulosti. Zásadní roli zde má i pH, kdy u kyselějších vzorků dochází k většímu poklesu absorbance. Tato závislost byla již zaznamenána dřívějšími studiemi (např. Porcal et al, 2014).

Ve všech vzorcích byl také naměřen úbytek DOC. Jelikož pokusy probíhaly bez přítomnosti bakterií, předpokládáme, že docházelo pouze k přeměně DOC na DIC. K největšímu procentuálnímu poklesu množství DOC došlo ve vzorku M2, jehož pH bylo nejvíce kyselé. Z výsledků měření, která ukazují, že u vzorků s nižším pH došlo k větším ztrátám DOC, lze usuzovat na to, že v kyselějším prostředí dochází k rychlejšímu úbytku DOC při ozařování. Podobných výsledků bylo již dosaženo v minulosti (Köhler et al, 2002).

V dřívějších studiích (Köhler et al, 2002, Tomková, 2014) se ukázalo, že s rostoucí dobou expozice záření dochází ve vzorcích k nárůstu pH. Tato skutečnost se v průběhu měření jednoznačně neprokázala, pravděpodobně kvůli krátké době trvání pokusů. Ve všech vzorcích však došlo během ozařování k nárůstu alkality, což bylo v dřívějších studiích také pozorováno (Köhler et al, 2002).

Z měření vyplývá, že u vzorků v průměru klesala více barevnost, než množství DOC. Tato skutečnost potvrzuje vznik nebarevných nízkomolekulárních organických kyselin jakožto meziprojektu v procesu fotochemické degradace DOM, jejíž průběh je znázorněn na Obrázku 3 (kap. 2.1.3). Na základě experimentů provedených v minulosti (Berggren et al, 2010) bylo ve většině vzorcích určeno následujících sedm nízkomolekulárních organických kyselin: octová, mravenčí, izomásebná, jantarová, vinná, maleinová a šťavelová. Jejich koncentrace se v průběhu ozařování měnila. Tyto změny lze modelovat pomocí kinetiky prvního řádu pro meziprojekt (Connors, 1990). Téměř u všech vzorků je zpočátku patrný rychlý nárůst koncentrace následovaný pozvolnějším poklesem. V případech, kdy nebyl počáteční nárůst koncentrace pozorován, se dá předpokládat, že nárůst proběhl rychleji, než se podařilo v rámci frekvence měření zaznamenat. Ve vzorcích obsahujících čerstvější DOM byl prvotní nárůst koncentrace většiny kyselin nejrychlejší.

Konstanta k_1 , vyjadřuje rychlost nárůstu meziprojektu. V průměru byla tato konstanta větší u kyselin, které jsou tvořeny čtyřmi uhlíky (izomásebná, jantarová, vinná a maleinová), než u jedno a dvou uhlíkatých kyselin (mravenčí, octová a šťavelová). Toto by mohlo značit skutečnost, že v průběhu fotochemické degradace DOM dochází k postupnému rozpadu meziprojektů až na výchozí látky. Konstanta k , charakterizující pokles absorbance, byla u vzorků M1-M4 menší než průměrné hodnoty konstant k_1 a k_2 , kde k_2 vyjadřuje rychlost úbytku koncentrace kyselin. Zdá se tedy, že větší část přijaté energie ze záření (fotonů) je spotřebována fotochemickými reakcemi, než-li by byla vyzářena.

6. Závěr

Cílem práce bylo stanovit nízkomolekulární organické kyseliny, vznikající fotochemickými přeměnami DOM v povrchových vodách v důsledku absorpce slunečního záření. Toto se podařilo a bylo určeno sedm následujících organických kyselin: octová, mravenčí, izomáselná, jantarová, vinná, maleinová a šťavelová.

Bylo zjištěno, že tvorbu těchto kyselin lze popsat kinetikou prvního řádu pro meziprodukt. Podle předpokladu došlo také v důsledku ozařování k poklesu absorbance a množství DOC.

Dále bylo zpozorováno, že rychlost těchto procesů ovlivňuje především pH vody a čerstvost DOM v ní obsažené, a že nárůst koncentrace více uhlíkatých kyselin probíhá rychleji, než u kyselin s nižším počtem uhlíků.

7. Použitá literatura

Atkins, P., Julio de Paula (2005). *Elements of Physical Chemistry*. W.H. Freeman and Company.

Berggren, M., Laudon, H., Haei, M., Ström, L., Jansson, M. (2010). *Efficient aquatic bacterial metabolism of dissolved low-molecular-weight compounds from terrestrial sources*. ISME Journal (4): 408-416.

Brezonik, P. L., Arnold, W. A. (2011). *Water chemistry: an introduction to the chemistry of natural and engineered aquatic systems*. Oxford University Press, Inc.

Brown, A. M. (2001). *A step-by-step guide to non-linear regression analysis of experimental data using a Microsoft Excel spreadsheet*. Computer Methods and Programs in Biomedicine (65): 191-200.

Connors, K. A. (1990). *Chemical kinetics: the study of reaction rates in solution*. VCH Publishers, Inc.

Frejlachová, K. (2014). *Sorpce fosforu na fotochemicky indukovaných částicích*. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta.

Helmes, J. R., Stubbin, A., Ritchie, J. D., Minor, E. C., Kieber, D. J., Mopper, K. (2008). *Absorption spectral slopes and slopes ratios as indicators of molecular weight, source, and photobleaching of chromophoric dissolved organic matter*. Limnology and Oceanography, (Vol. 53 No. 3): 955-969.

IHSS. Elemental Compositions and Stable Isotopic Ratios of IHSS Samples. *International Humic Substances Society* [online]. ©2015- [vid. 2015-12-01]. Dostupné z: <http://www.humicsubstances.org/elements.html>

Jančovič, A. (2005). *Vnímání barev*. Brno. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Pedagogická fakulta, Katedra fyziky.

Klán, P., Wirz, J. (2009). *Photochemistry of Organic Compounds: From Concepts to Practice*. John Wiley & Sons Ltd.

Kleczek, J. (2002). *Energie ve vesmíru a ve službách lidí*. Vyd. 1. Albatros.

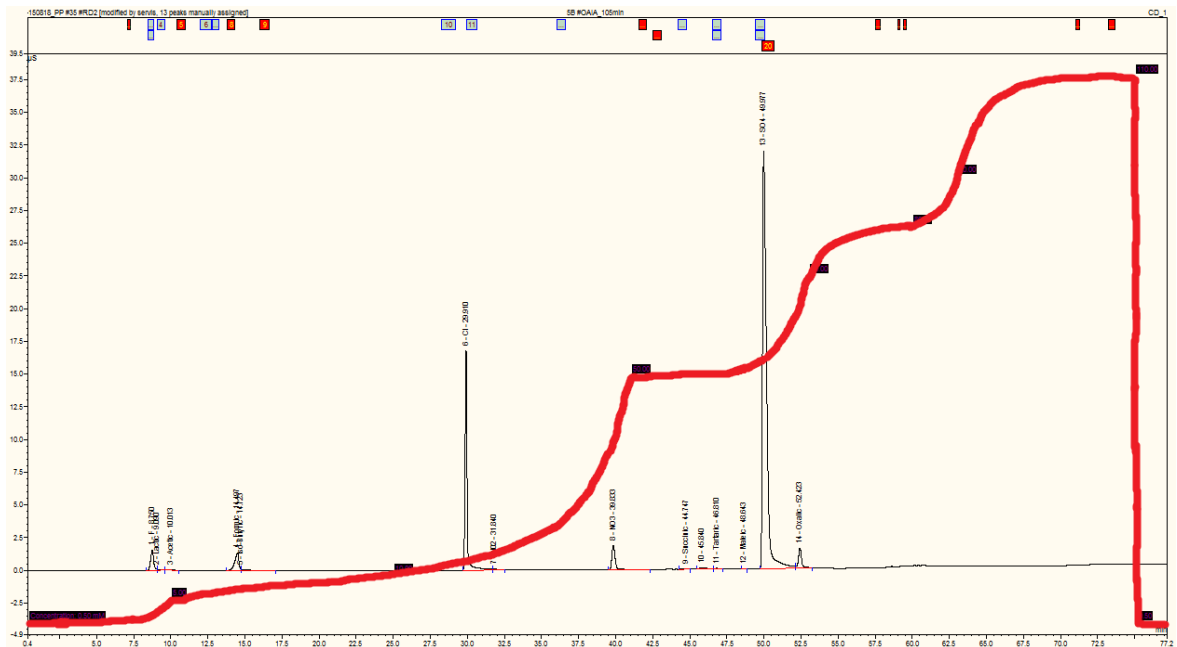
Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P., Klementová, Š. (2003). *Photochemical, chemical, and biological transformation of dissolved organic carbon and its effect on alkalinity production in acidified lakes*. Limnology and Oceanography, Inc. (Vol. 48 No. 1): 106-117.

Köhler, S., Buffam, I., Jonsson, A., Bishop, K. (2002). *Photochemical and microbial processing of stream and soil water dissolved organic matter in a boreal forested catchment in northern Sweden*. Aquatic Sciences (Vol. 64):269-281.

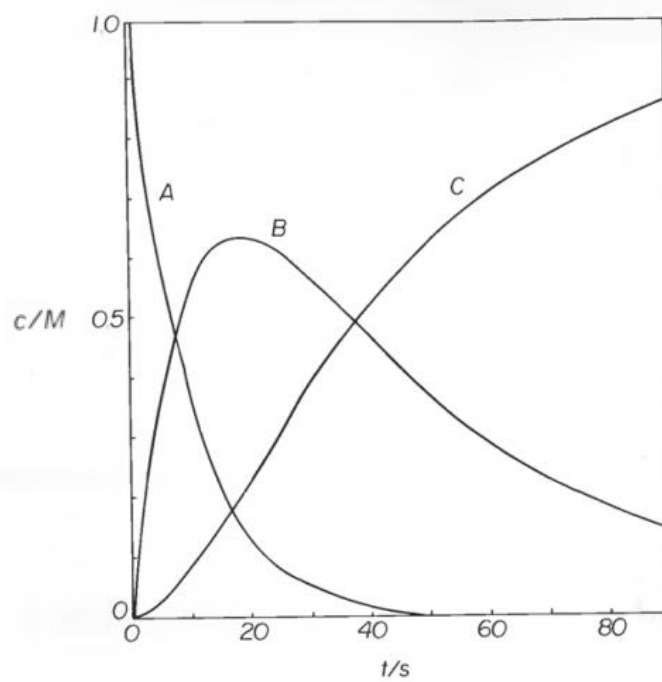
- Kupiec, T. (2004). *Quality-Control Analytical Methods: High-Performance Liquid Chromatography*. International Journal of Pharmaceutical Compounding (Vol. 8 No. 3 May/June): 223-227.
- McDonald, S., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., Robards, K. (2004). *Analytical chemistry of freshwater humic substances: Analytica Chimica Acta*. Elsevier (Vol. 527): 105-124.
- Moran, M. A., Zepp, R. G. (1997). *Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter*. Limnology and Oceanography (Vol. 42 No. 6 September): 1307-1316.
- Pivokonský, M., Pivokonská, L., Bubáková, P., Janda, V. (2010). *Úprava vody s obsahem huminových látek*. Chemické listy (Vol. 104): 1015-1022.
- Pitter, P. (2009). *Hydrochemie*. Vyd. 4. VŠCHT Praha.
- Polák, R., Zahradník, R. (2000). *Obecná chemie: stručný úvod*. Academia.
- Porcal, P., Dillon, P. J., Molot, L. A. (2014). *Interaction of extrinsic chemical factors affecting photodegradation of dissolved organic matter in aquatic ecosystems*. Photochemical & Photobiological Science (Vol. 13): 799-812.
- Steinberg, C. E. W. (2003). *Ecology of Humic Substances in Freshwaters: Determinants from Geochemistry to Ecological Niches*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- Tan, K. H. (2014). *Humic matter in soil and the environment: Principles and Controversies*. Taylor & Francis Group, CRC Press.
- Tomková, I. (2014). *Vliv doby ozařování na tvorbu nerozpustných částic v povrchových vodách*. České Budějovice. Diplomová práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta.
- Zepp, R. G., Callaghan, T. V., Erickson, D. J. (2003). *Interactive effects of ozone depletion and climate change on biogeochemical cycles*. Photochemical & Photobiological Science (Vol. 2): 51-56.

8. Přílohy

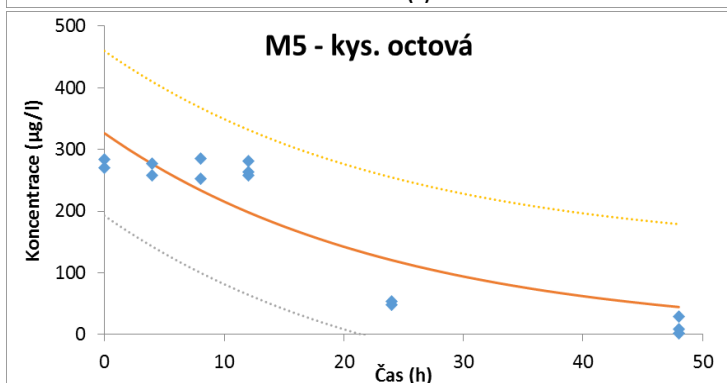
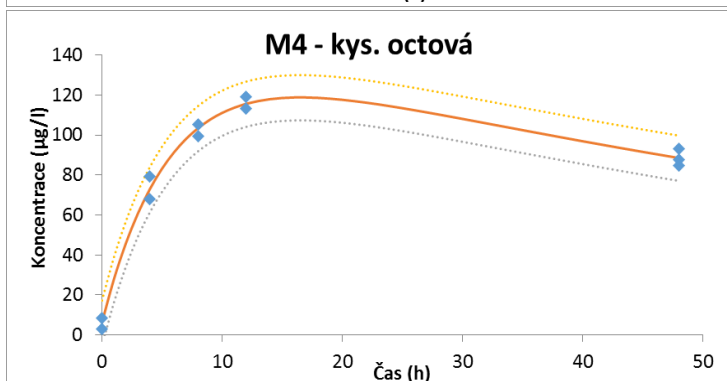
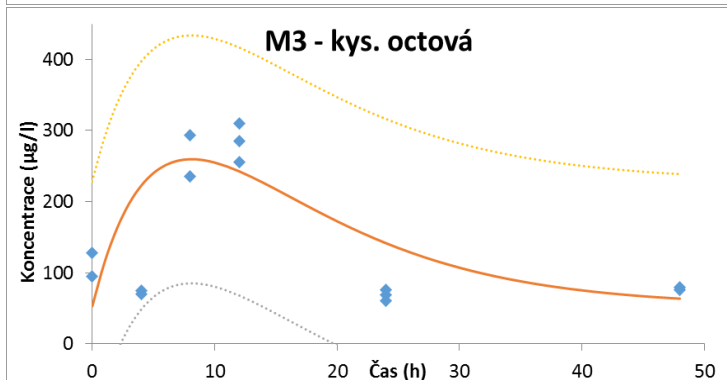
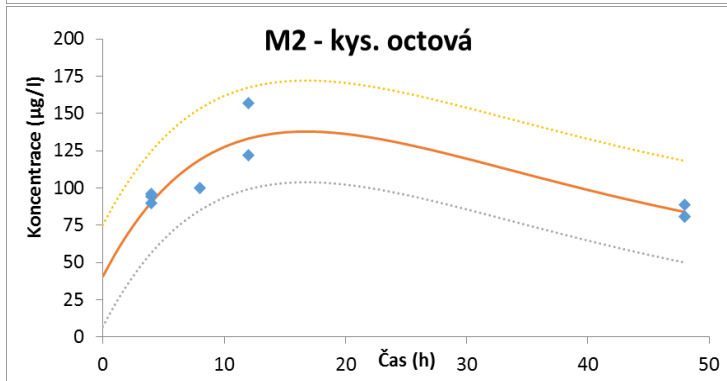
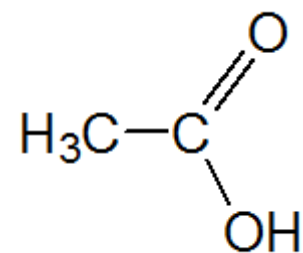
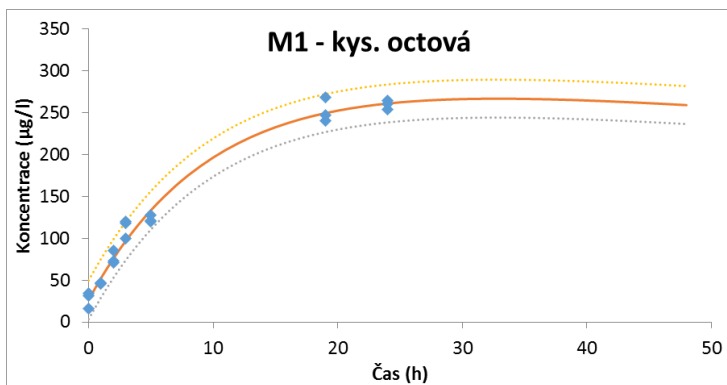
8.1 Obrázky



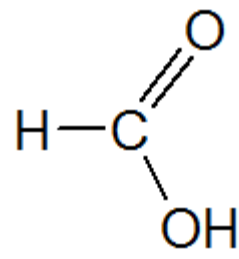
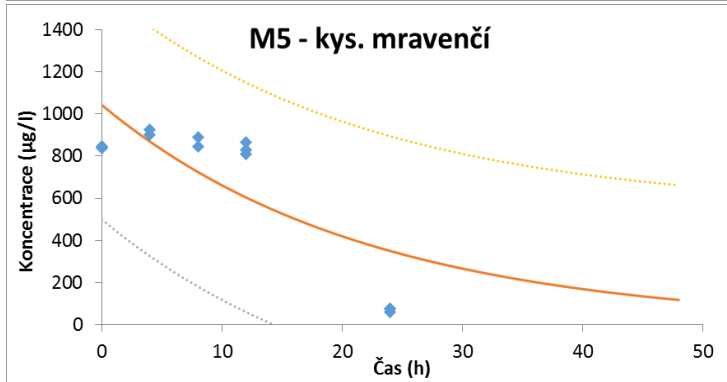
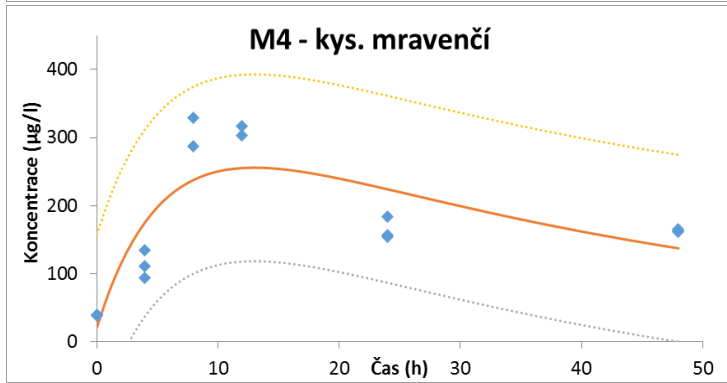
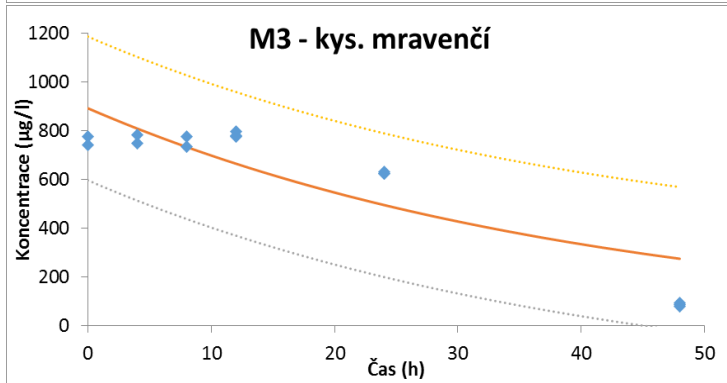
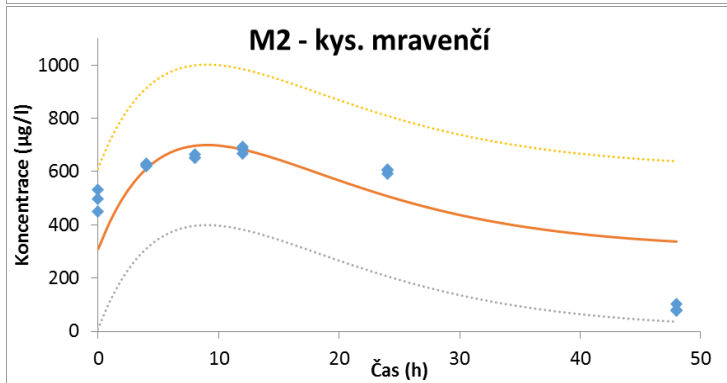
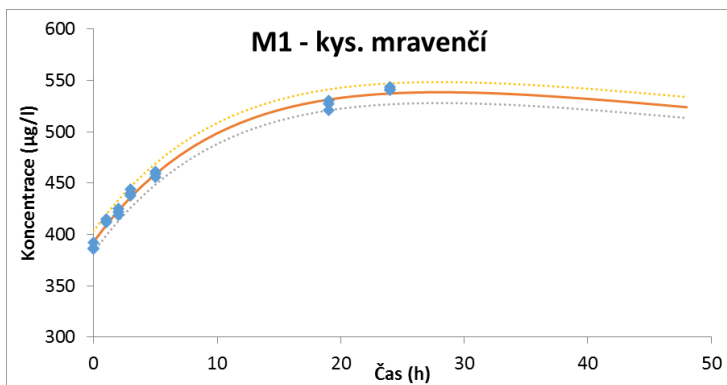
Obr. P1: Grafické znázornění gradientu koncentrace mobilní fáze v průběhu HPLC separace na pozadí chromatogramu.



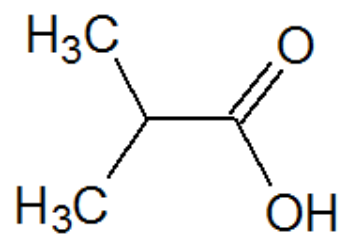
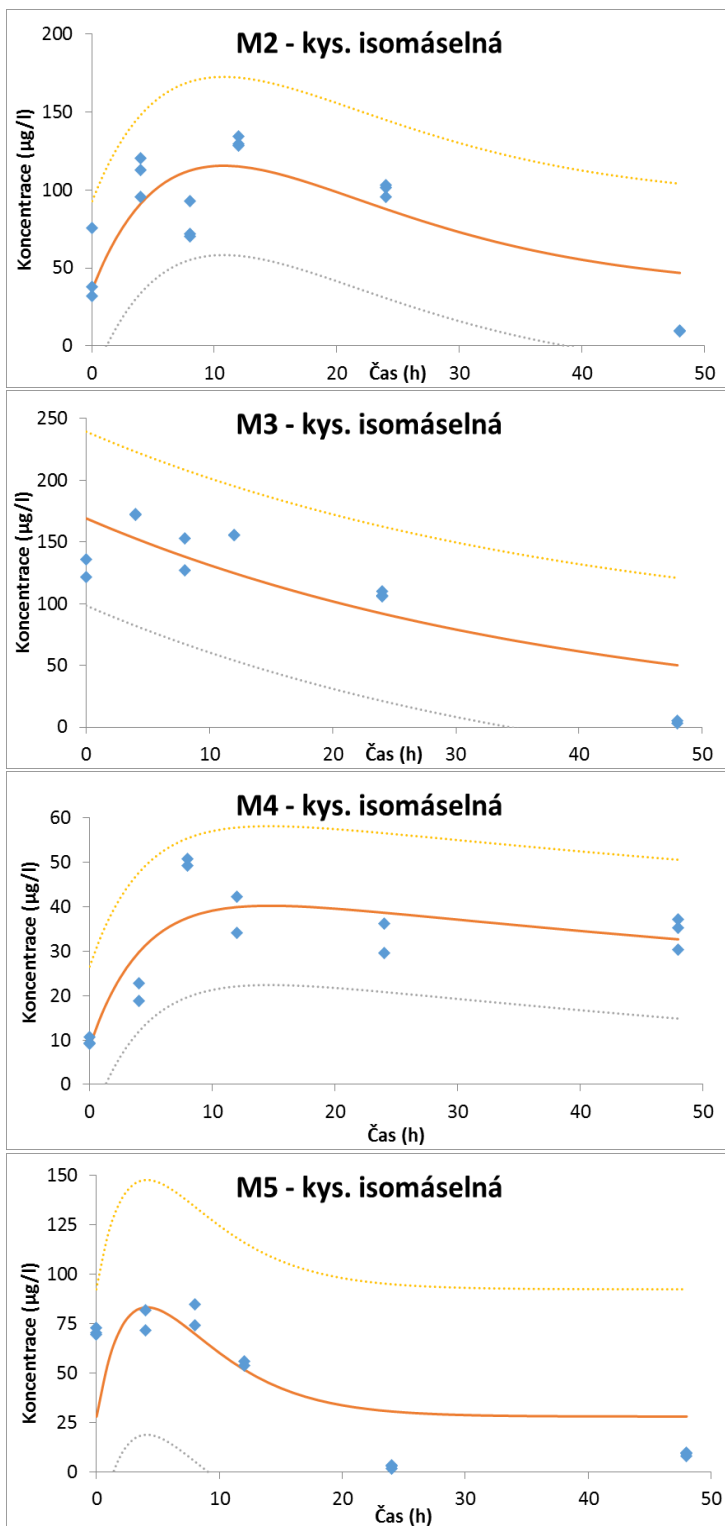
Obr. P2: Graf B je znázorněním Rovnice (5) pro hypotetický systém s parametry $C_A = 1$, $k_1 = 0,10 \text{ s}^{-1}$, $k_2 = 0,025 \text{ s}^{-1}$ (převzato z Connors, 1990).



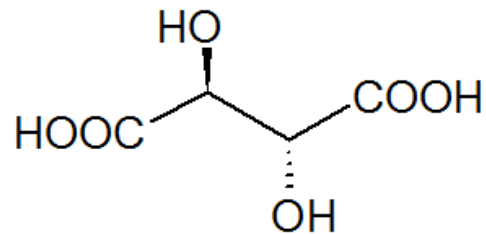
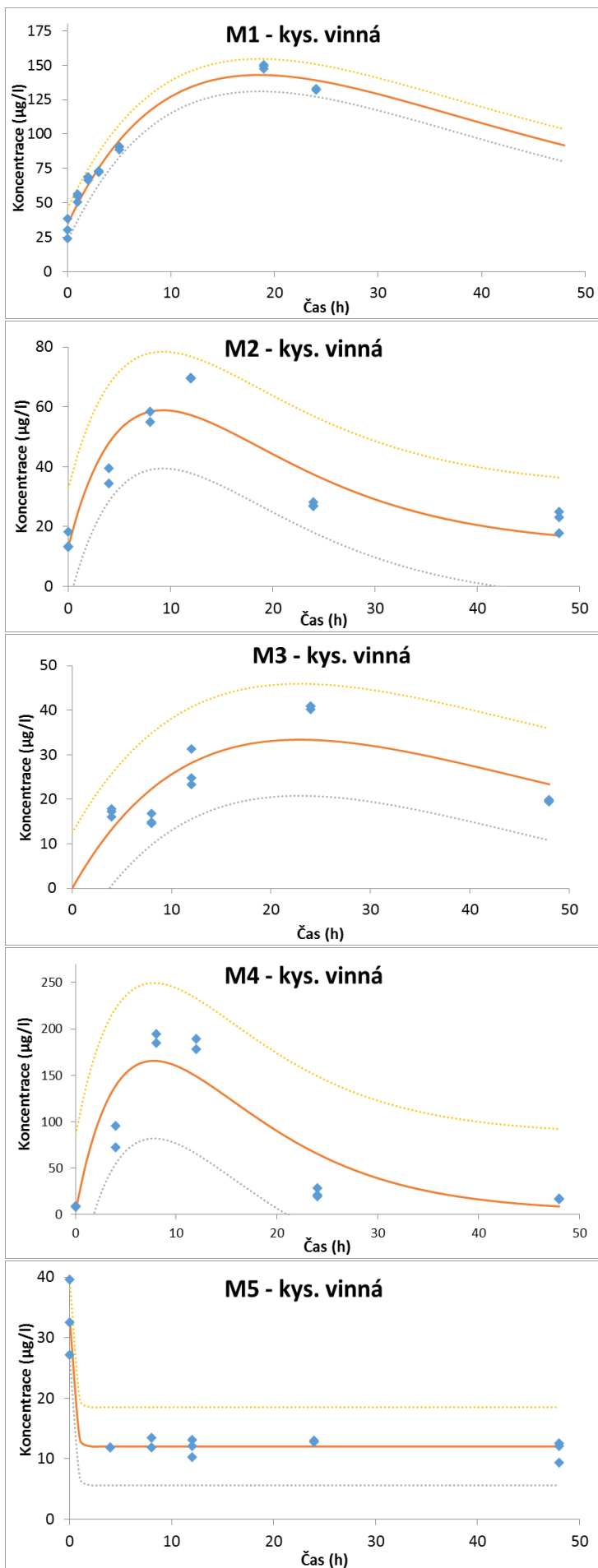
Obr. P3a: Kyselina octová a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovaná kinetikou a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



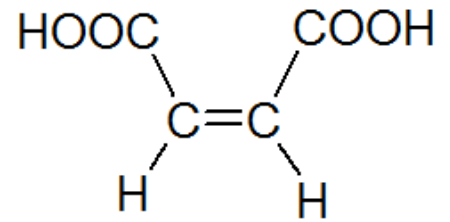
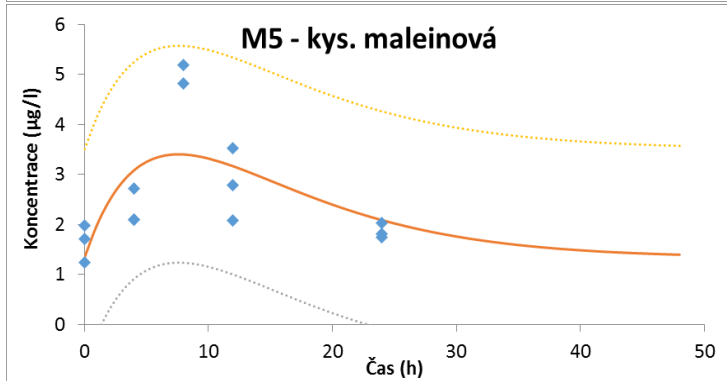
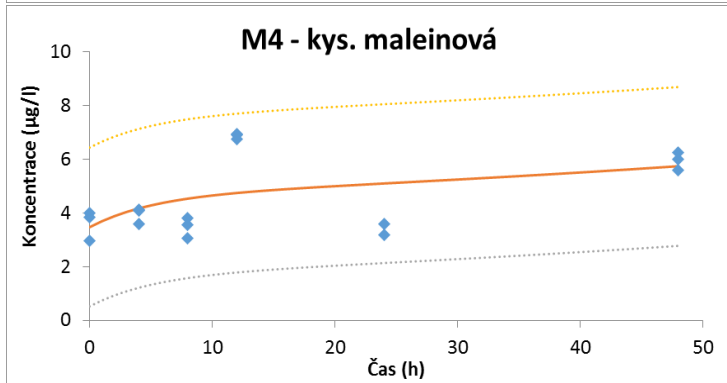
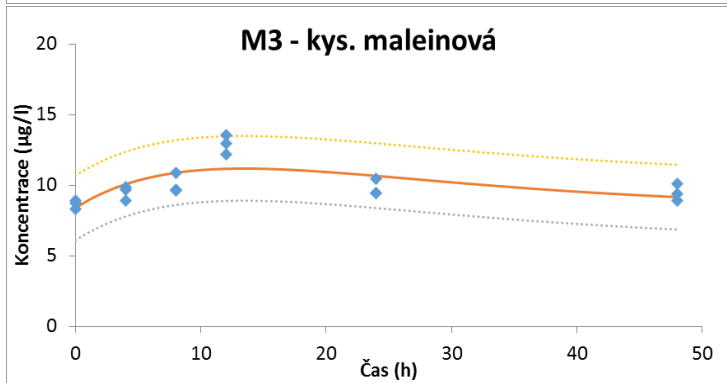
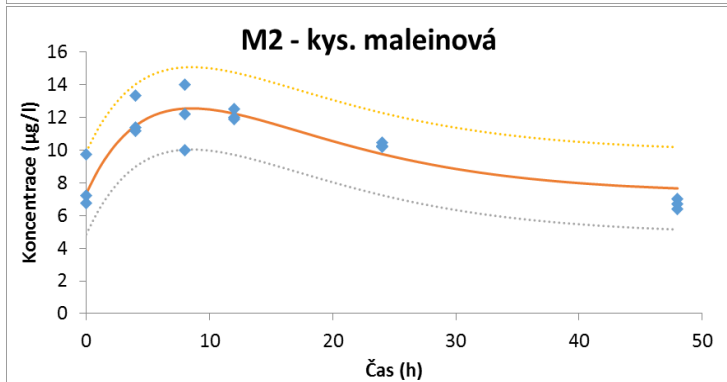
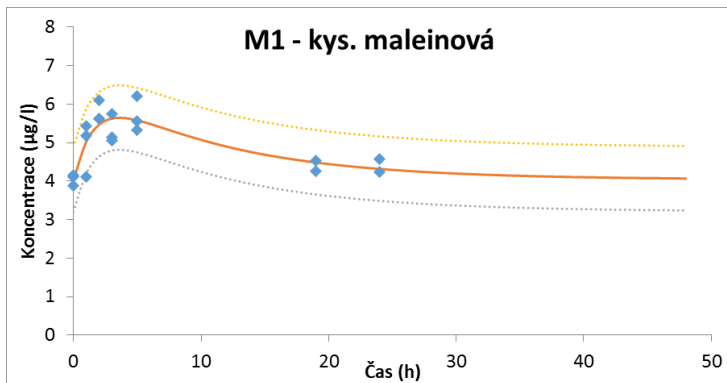
Obr. P3b: Kyselina mravenčí a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovaná kinetikou a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



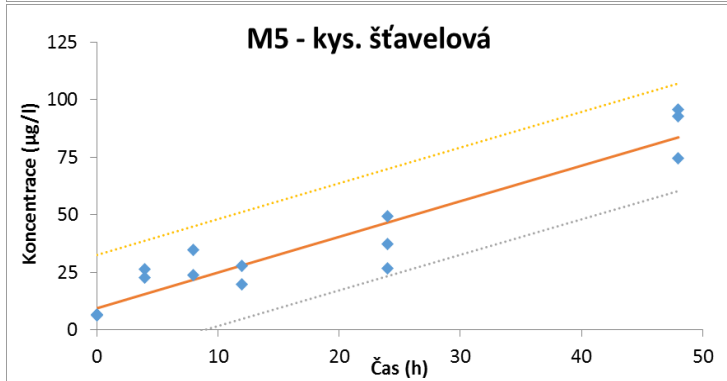
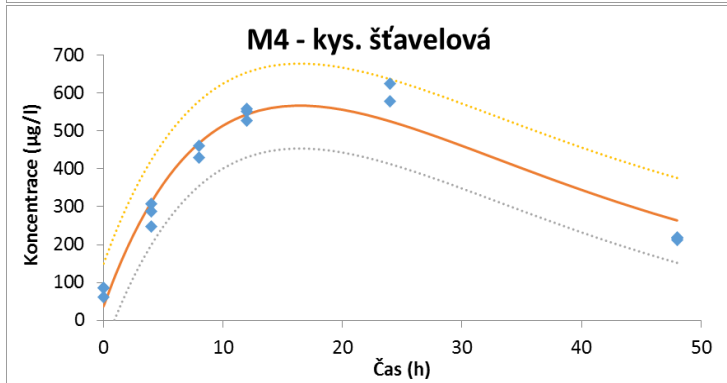
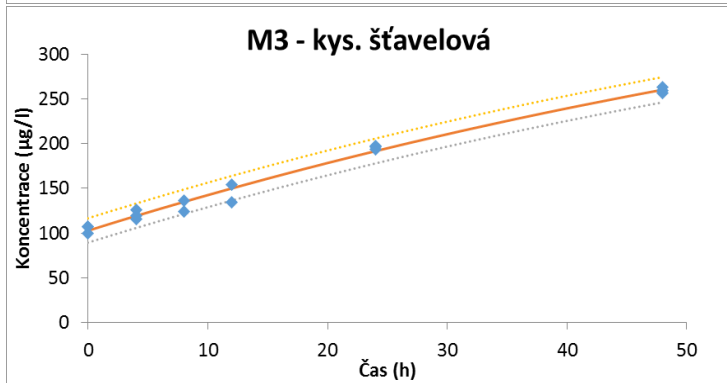
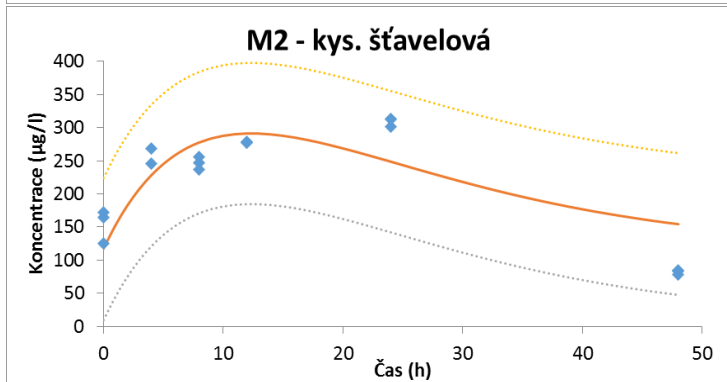
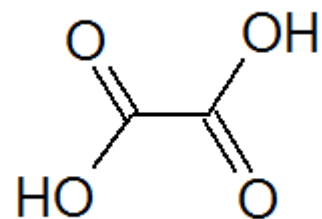
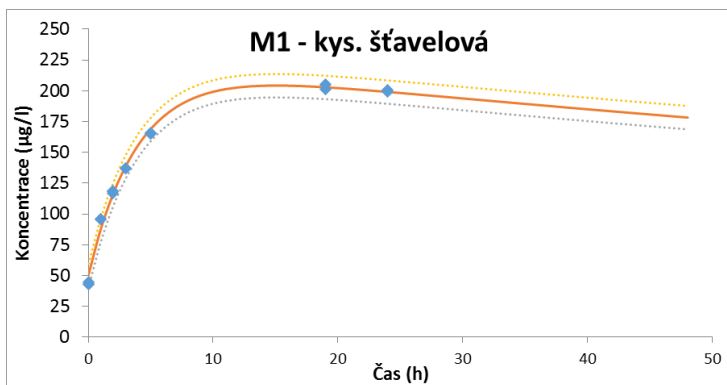
Obr. P3c: Kyselina isomáselná a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M2-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovaná kinetikou a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



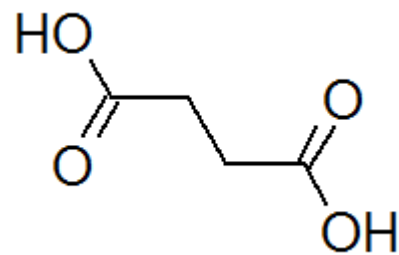
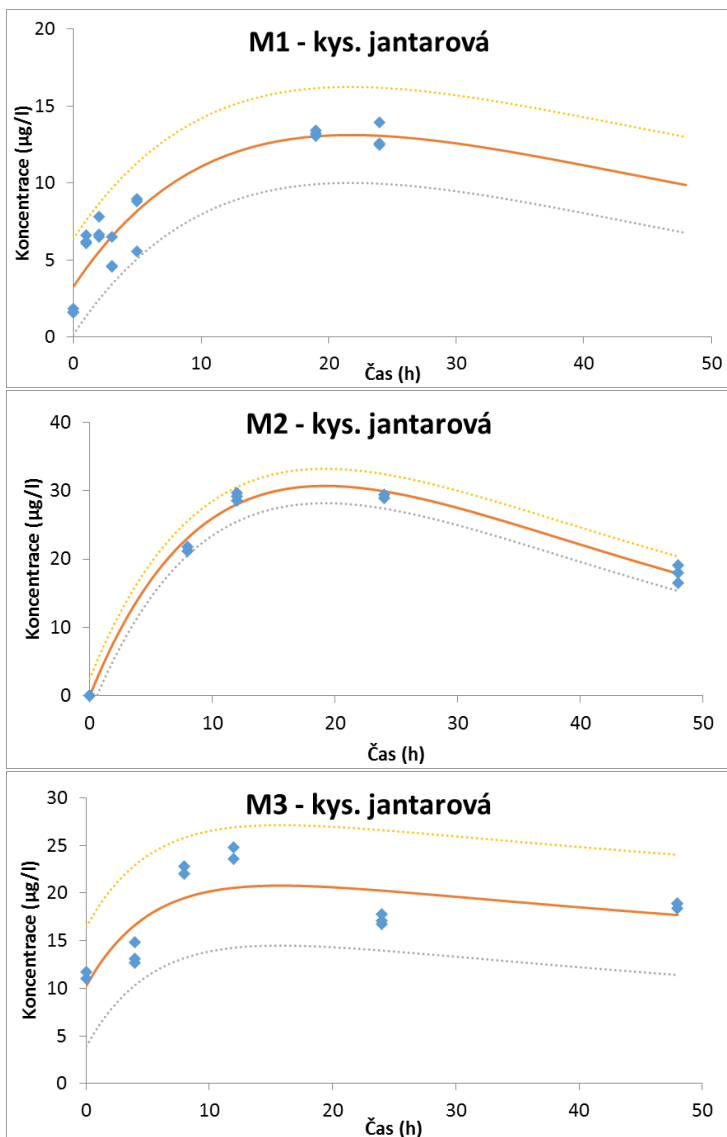
Obr. P3d: Kyselina vinná a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovanou kinetiku a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



Obr. P3e: Kyselina maleinová a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovanou kinetiku a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



Obr. P3f: Kyselina šťavelová a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M5. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovaná kinetikou a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.



Obr. P3g: Kyselina jantarová a změna její koncentrace v průběhu ozařování vzorků M1-M3. Body představují naměřené koncentrace, plná čára modelovaná kinetikou a přerušované čáry reprezentují 95 % konfidenční interval.

8.2 Tabulky

Tab. P1: Výsledky standardního měření základních chemických parametrů u vzorků M1-M5 před započítáním ozařování. N – nestanoveno.

| Vzorek | koncentrace jednotlivých iontů (mg/l) | | | | | | | | | | |
|--------|---------------------------------------|-------|--------------------|-----------------|--------------------|-------|-------|--------------------|-------|-------|-------|
| | PO ₄ -P | Cl | NO ₃ -N | SO ₄ | NO ₂ -N | F | Na | NH ₄ -N | K | Ca | Mg |
| M1 | 0,004 | 0,841 | 0,196 | 6,290 | 0 | 0,098 | 2,889 | 0,012 | 0,683 | 2,901 | 0,595 |
| M2 | 0,010 | 1,399 | 0,116 | 7,840 | 0 | 0,166 | 3,805 | 0,041 | 0,893 | 4,416 | 0,746 |
| M3 | 0 | 1,387 | 0,008 | 5,300 | 0,001 | 0,194 | 3,806 | 0,012 | 0,600 | 4,349 | 0,740 |
| M4 | 0,040 | 0,444 | 0,558 | 2,970 | N | 0,060 | 1,484 | 0,004 | 0,677 | 0,734 | 0,151 |
| M5 | 0,010 | 0,176 | 0,100 | 0,2390 | N | 0,014 | 1,042 | 0,105 | 0,288 | 0,325 | 0,054 |

Tab. P2: Změna sum absorpčních koeficientů ozařovaných vzorků.

| Vzorek | asum (m ⁻¹) | | Pokles (%) |
|--------|-------------------------|---------|------------|
| | start | ozářený | |
| M1 | 4113 | 3617 | 12,1 |
| M2 | 4466 | 3778 | 15,4 |
| M3 | 3891 | 3260 | 16,2 |
| M4 | 5325 | 3338 | 37,3 |
| M5 | 1947 | 310 | 84,1 |

Tab. P3: Změna absorpčních koeficientů kontrolních vzorků.

| Vzorek | asum (m ⁻¹) | | Nárůst (%) |
|--------|-------------------------|---------|------------|
| | start | ozářený | |
| M1 | 4113 | 4124 | 0,3 |
| M2 | 4466 | 4541 | 1,7 |
| M3 | 3891 | 4021 | 3,3 |
| M4 | 5325 | 5473 | 2,8 |
| M5 | 1947 | 2086 | 7,1 |

Tab. P4: Hodnoty alkality pro vzorky před ozářením (start), po jeho skončení (ozářený) a kontrolních neozařovaných vzorků (blank). N – nestanoveno.

| Vzorek | Alkalita (μeq/l) | | | Nárůst ozářený (%) | Nárůst blank (%) |
|--------|------------------|---------|-------|--------------------|------------------|
| | start | ozářený | blank | | |
| M1 | 170 | N | N | N | N |
| M2 | 186,0 | 210,8 | 200,7 | 13,3 | 7,9 |
| M3 | 224,0 | 240,2 | 232,8 | 7,2 | 3,9 |
| M4 | -29,0 | 13,6 | -27,8 | 146,7 | 4,1 |
| M5 | 25,8 | 45,50 | 31,6 | 76,4 | 22,3 |

Tab. P5: Naměřené množství DOC ve vzorcích před ozářením (start), po skončení ozařování (ozářený) a kontrolních neozařovaných vzorků (blank). N – nestanoveno.

| Vzorek | DOC (mg/l) | | | Pokles ozářený (%) | Rozdíl blank (%) |
|--------|------------|---------|-------|-----------------------|---------------------|
| | start | ozářený | blank | | |
| M1 | 10,26 | 9,57 | N | 6,7 | N |
| M2 | 11,14 | 9,76 | 11,56 | 12,4 | 3,8 |
| M3 | 10,27 | 9,73 | 10,34 | 5,3 | 0,7 |
| M4 | 14,75 | 9,84 | 14,76 | 33,3 | 0,1 |
| M5 | 4,11 | 3,24 | 3,720 | 21,2 | -9,5 |

Tab. P6: Hodnoty pH ve vzorcích před ozářením (start), po jeho skončení (ozářený) a kontrolních neozařovaných vzorků (blank).

| Vzorek | pH | | | Rozdíl ozářený (%) | Rozdíl blank (%) |
|--------|-------|---------|-------|-----------------------|---------------------|
| | start | ozářený | blank | | |
| M1 | 7,1 | 6,9 | 7,1 | -3,0 | 0,0 |
| M2 | 7,1 | 7,2 | 7,3 | 2,0 | 3,3 |
| M3 | 7,3 | 7,3 | 7,6 | 0,0 | 3,6 |
| M4 | 4,6 | 4,9 | 4,5 | 6,8 | -2,2 |
| M5 | 5,6 | 6,1 | 5,9 | 7,9 | 5,0 |

Tab. P7: Hodnoty teoretických koncentrací výchozí látky (C_A), počátečních koncentrací (C_r), rychlostních konstant (k_1 , k_2) a koeficientů determinace (R^2) pro kyselinu octovou, mravenčí, izomáselnou, jantarovou, vinnou a maleinovou a šťavelovou ve vzorcích M1-M5. N – nestanoveno.

| | | Kyselina: | | | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|-----------|----------|------------|-----------|--------|-----------|-----------|
| | | Octová | Mravenčí | Isomáselná | Jantarová | Vinná | Maleinová | Šťavelová |
| M1 (Jiřická hladina 10.3.) | C_A ($\mu\text{g/l}$) | 305,1 | 1994 | N | 24,45 | 329,3 | 18,69 | 6730 |
| | C_r ($\mu\text{g/l}$) | 26,62 | 392,9 | N | 3,295 | 34,47 | 4,040 | 49,98 |
| | k_1 | 0,0985 | 0,0104 | N | 0,0587 | 0,0540 | 0,0944 | 0,0064 |
| | k_2 | 0,0045 | 0,0855 | N | 0,0353 | 0,0539 | 0,6129 | 0,2507 |
| | R^2 | 0,9856 | 0,9925 | N | 0,8697 | 0,9807 | 0,7254 | 0,9935 |
| M2 (Jiřická přítok 17.8.) | C_A ($\mu\text{g/l}$) | 304,5 | 1371 | 252,9 | 123,5 | 137,1 | 21,49 | 591,8 |
| | C_r ($\mu\text{g/l}$) | 40,81 | 309,4 | 35,63 | 0,000 | 13,38 | 7,376 | 116,6 |
| | k_1 | 0,0597 | 0,1105 | 0,0928 | 0,0360 | 0,1079 | 0,1169 | 0,0810 |
| | k_2 | 0,0597 | 0,1105 | 0,0928 | 0,0725 | 0,1079 | 0,1169 | 0,0810 |
| | R^2 | 0,7557 | 0,5707 | 0,5863 | 0,9911 | 0,8200 | 0,7760 | 0,6580 |
| M3 (Jiřická hladina 17.8.) | C_A ($\mu\text{g/l}$) | 518,0 | 0,0000 | 0,0000 | 189,4 | 90,74 | 15,95 | 1037 |
| | C_r ($\mu\text{g/l}$) | 53,31 | 892,5 | 169,0 | 10,21 | 0,000 | 8,394 | 102,9 |
| | k_1 | 0,1500 | 0,0244 | 0,0253 | 0,0130 | 0,0437 | 0,0745 | 0,0045 |
| | k_2 | 0,1000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,1796 | 0,0437 | 0,0745 | 0,0056 |
| | R^2 | 0,4013 | 0,7695 | 0,6906 | 0,5873 | 0,6663 | 0,4813 | 0,9886 |
| M4 (Plešné přítok 19.8.) | C_A ($\mu\text{g/l}$) | 1952 | 2397 | 867,9 | N | 445,0 | 10,22 | 1479 |
| | C_r | 5,958 | 20,04 | 8,659 | N | 3,185 | 3,012 | 37,09 |
| | k_1 | 0,0122 | 0,0241 | 0,0095 | N | 0,1285 | 0,0991 | 0,0609 |
| | k_2 | 0,1725 | 0,1777 | 0,2249 | N | 0,1285 | 0,0991 | 0,0609 |
| | R^2 | 0,9894 | 0,6511 | 0,7417 | N | 0,8066 | 0,4688 | 0,9425 |
| M5 (Půdní výluh 19.8.) | C_A ($\mu\text{g/l}$) | 0,000 | 0,000 | 178,2 | N | 12,02 | 6,970 | 6150 |
| | C_r ($\mu\text{g/l}$) | 326,1 | 1043 | 28,06 | N | 33,13 | 1,333 | 9,323 |
| | k_1 | 0,0415 | 0,0455 | 0,2427 | N | 2,903 | 0,1316 | 0,0003 |
| | k_2 | 0,000 | 0,000 | 0,2427 | N | 0,000 | 0,1316 | 0,000 |
| | R^2 | 0,8114 | 0,6328 | 0,4123 | N | 0,9194 | 0,4732 | 0,8965 |