

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Size exclusion chromatography – analytická metoda pro
charakterizaci rozpuštěných organických látek**

Bakalářská práce

Klára Pilsová

Školitel: Petr Porcal, Ing., Ph.D

Hydrobiologický ústav České Budějovice

České Budějovice 2016

Pilsová, K. (2016): Size-exclusion chromatography – analytická metoda pro charakterizaci rozpuštěných organických látek. [Size-exclusion chromatography – analytical method for characterization of dissolved organic matter. Bc Thesis, in Czech] – p 65., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Tato bakalářská práce se zabývá využitím size-exclusion chromatografie pro měření molekulární hmotnosti organických látek ve vzorcích vody ze Šumavských jezer a následným stanovením obsahu železa, hliníku a fosforu pomocí metody hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Teoretická část pojednává o organických látkách ve vodě a o principu size-exclusion chromatografie a ICP/MS. V experimentální části je popsán postup metody pro měření organických látek a obsahu železa, hliníku a fosforu na obou přístrojích. Dále je popsán postup zpracování dat získaných z SEC chromatografu a ICP hmotnostního spektrometru a získané výsledky, které jsou dále diskutovány a porovnány s dalšími analytickými metodami.

Annotation

The main aim of this bachelor thesis is the application of size-exclusion chromatography for a measurement of the molar mass of organic matter in water samples from Bohemian Forest lakes and subsequent determination of iron, aluminium and phosphorus concentration by inductively-coupled plasma/mass spectrometry. In the theoretical part, there is information about organic matter in water and the principles of size-exclusion chromatography and ICP/MS. The experimental part deals with the procedure of organic matter measurement and the determination of iron, aluminium and phosphorus concentration. Afterwards, the procedure of SEC and ICP/MS data processing is described and the results are discussed and compared with other analytical techniques.

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 jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 23. 4. 2014

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat především svému školiteli Ing. Petru Porcalovi, PhD. za cenné rady při psaní této bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat Hydrobiologickému ústavu Biologického Centra Akademie věd České republiky v Českých Budějovicích za možnost provedení analýz na tomto pracovišti.

Ráda bych také poděkovala všem svým profesorům za vedení při studiu.

Použité zkratky:

zkratka	význam	poznámky
SEC	size-exclusion chromatografie	gelová filtrační chromatografie
ICP/MS	inductively-coupled plasma / mass spectrometry	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
NOM	natural organic matter	přírodní organické látky
DOM	dissolved organic matter	rozpuštěné organické látky (filtr o velikosti pórů 0,4 μm)
POM	particulate organic matter	nerozpuštěné organické látky (filtr o velikosti pórů 0,4 μm)
VP	veškerý fosfor	nefiltrovaný vzorek
RP	rozpuštěný fosfor	vzorky filtrovány přes 0,4 μm
RRP	rozpuštěný reaktivní fosfor	anorganický, orthofosforečnany
NL	non-labile	vzorek filtrovaný přes katex; organicky vázané formy a anionty
DR	dissolved-reactive	filtrovaný vzorek přes 0,4 μm; kolorimetrické stanovení
TR	total reactive	nefiltrovaný vzorek; kolorimetrické stanovení
DOC	dissolved organic carbon	rozpuštěný organicky vázaný uhlík

Obsah:

I	ÚVOD A CÍL PRÁCE	- 1 -
II	TEORETICKÁ ČÁST:	- 2 -
II.1	ORGANICKÉ LÁTKY V PŘÍRODNÍCH VODÁCH.....	- 2 -
II.2	ŽELEZO, HLINÍK A FOSFOR V PŘÍRODNÍCH VODÁCH	- 3 -
II.2.1	Železo	- 3 -
II.2.2	Hliník	- 4 -
II.2.3	Fosfor	- 5 -
II.3	PRINCIP SIZE-EXCLUSION CHROMATOGRAFIE.....	- 6 -
II.4	PRINCIP ICP-MS	- 8 -
III	MATERIÁL A METODY	- 12 -
III.1	LOKALITA	- 12 -
III.2	METODY	- 14 -
III.3	SIZE-EXCLUSION CHROMATOGRAFIE.....	- 16 -
III.3.1	SECKalibrační křivka.....	- 16 -
III.3.2	Kalibrace Size-exclusion chromatogramu.....	- 17 -
III.4	STANOVENÍ ICP / MS.....	- 18 -
III.4.1	Kalibrace ICP/MS	- 19 -
III.5	ZPRACOVÁNÍ VÝLEDKŮ	- 19 -
IV	VÝSLEDKY A DISKUZE	- 21 -
IV.1	ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ PARAMETRY	- 21 -
IV.2	PRŮMĚRNÁ MOLEKULOVÁ HMOTNOST ORGANICKÝCH LÁTEK.....	- 21 -
IV.3	DISTRIBUCE KOVŮ (ICP/MS)	- 27 -
IV.4	SROVNÁNÍ ANALYTICKÝCH METOD	- 31 -
V	ZÁVĚR	- 36 -

VI	LITERATURA.....	- 37 -
VII	PŘÍLOHY	- 43 -
VII.1	SEZNAM OBRÁZKŮ V PŘÍLOHÁCH	- 43 -
VII.2	SEZNAM TABULEK V PŘÍLOHÁCH	- 44 -

I Úvod a cíl práce

V přírodních vodách je přítomno velké množství různých látek. Velkou část tvoří rozpuštěné organické látky, které svými komplexačními vlastnostmi ovlivňují obsah rozpuštěného fosforu a kovů jako jsou například železo nebo hliník.

Gelovou filtrační chromatografií (obecnější a frekventovanější název je size-exclusion chromatografie – SEC) lze využít k měření průměrné molekulové hmotnosti organických látek ve vodě a k rozlišení vysokomolekulární a nízkomolekulární frakce. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP/MS) je technikou, kterou lze stanovit celkový obsah fosforu, železa a hliníku. Kombinací obou analytických technik je možno stanovit koncentraci fosforu, železa a hliníku navázaných na organické látky společně s určením, zda se váží na vysokomolekulární nebo nízkomolekulární organické látky.

Cílem této práce bylo vyzkoušet kombinaci size-exclusion chromatografie s ICP-hmotnostním spektrometrem pro charakterizaci organických látek a jejich vazeb s kovy v přírodních sladkých vodách a aplikovat ji na sadu vzorků různého charakteru. Dále pak porovnat výsledky s kolorimetrickými metodami a zjistit, zda jsou výsledky odpovídající.

II Teoretická část:

II.1 Organické látky v přírodních vodách

Přírodní organické látky (NOM – Natural Organic Matter) jsou součástí všech přírodních vod. Výrazně ovlivňují jejich chemické vlastnosti, hrají roli v acidobazické rovnováze, sorpci kovů i ve fotochemii vody (Brezonik & Arnold, 2011). Jsou také základem potravního řetězce ve vodě, obsahují rozpuštěný uhlík, živiny a kovy. Ovlivňují také optické vlastnosti vody (Findlay & Sinsabough, 2003).

Přírodní organické látky pochází jak z vodního prostředí, tak mohou být původu terestrického (Brezonik & Arnold, 2011). Podle toho se dělí na látky autochtonní a allochtonní. Autochtonní znamená, že látky byly vyprodukovány ve vodním prostředí metabolismem mikroorganismů, částečnou degradací rostlinné biomasy nebo životní činností rostlin a živočichů. Allochtonní organické látky (většinou terestrického původu) se do vody dostaly vyloučením z půdy a transportem z okolí (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011). Charakter organických látek určitého vodního zdroje závisí na aktivitě mikroorganismů, které NOM dále metabolizují na látky s nižší molekulovou hmotností a zároveň do vody vypouští své odpadní organické látky (Bertilsson & Jones, 2003).

Důležitou vlastností organických látek ve vodě je jejich schopnost absorbovat ultrafialové a viditelné záření, čímž jsou indukovány fotochemické procesy, které se významně podílejí na koloběhu uhlíku. Působením světla dochází k přeměně na nižší organické látky a k dekarboxylaci na CO₂ a CO. Tyto přeměny zvyšují dostupnost organických látek jako základní složky potravního řetězce v přírodních vodách (Brezonik & Arnold, 2011).

Organické látky v přírodních vodách se podle velikosti dělí na rozpuštěné (DOM – dissolved organic matter) a nerozpuštěné (POM – particulate organic matter). Hranici určuje velikost pórů filtračního média, obvykle je to 0,45 μm (Pitter, 1999). Podíl uhlíku v DOM se pohybuje kolem 50 hmotnostních procent (Brezonik & Arnold, 2011).

DOM je složitou směsí různých látek, tvoří je především huminové a fulvinové kyseliny, nízkomolekulární organické kyseliny, bílkoviny a další látky produkované organismy (Pitter, 1999). DOM tvoří aromatické a alifatické uhlovodíky s různými

funkčními skupinami – karboxylové, hydroxylové, thiolové, aminové a další (Aiken et al, 1985). Součástí organických látek ve vodě jsou také dusík, fosfor a organicky vázané kovy vyloučené z půd, které jsou zodpovědné za tmavé zbarvení vody, ovlivňují pH, ale také dostupnost těžkých kovů pro organismy (Strober, 1995, Reddy, 1999). Molekulová hmotnost organických látek ve vodě se pohybuje od jednotek Da až po desítky kDa (Leenheer & Croué, 2003).

II.2 Železo, hliník a fosfor v přírodních vodách

Železo, hliník a fosfor se ve vodách mohou nacházet ve formě anorganické i organicky vázané díky jejich schopnosti vázat se do komplexů s dalšími funkčními skupinami organických látek (COOH, OH). Stabilita komplexů je dána jak složením organických látek, tak pH a dalšími vlastnostmi vody (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011).

II.2.1 Železo

Železo se do vody dostává přirozeně loužením z povrchových hornin (např. pyrit, krevet, limonit...). Rozpuštění železa ve vodě napomáhá oxid uhličitý či huminové látky nebo také okyselení vody (Pitter, 1999).

V anorganické podobě se železo vyskytuje jako dvojmocný i trojmocný kation. Přičemž za anoxických (redukčních) podmínek je ve formě kationtu Fe^{2+} , který je většinou dobře rozpustný, zvláště v mírně kyselém prostředí, a vyskytuje se především jako $\text{Fe}(\text{OH})_2$ nebo FeCO_3 (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011). Za alkalických podmínek vznikají asociáty železa $[\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$ nebo $[\text{Fe}(\text{OH})_3]^-$ (Pitter, 1999).

V přítomnosti kyslíku se Fe^{2+} oxiduje na kation Fe^{3+} , který je většinou ve formě méně rozpustného $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Rozpuštěný ve vodě je jen ve formě hydroxokomplexů např. $[\text{Fe}(\text{OH})]^{2+}$ nebo $[\text{Fe}(\text{OH})_2]^+$. Samostatný trojmocný kation je ve vodě významný až pod pH 4 jako $\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{aq})$ a lze ho spíše popsat jako hydratovaný oxid železitý, $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011).

S organickými látkami železo ve formě Fe^{2+} i Fe^{3+} vytváří poměrně dobře rozpustné komplexy. Tyto komplexy tvoří hlavně s fulvinovými kyselinami, které mají nižší molekulové hmotnosti než huminové kyseliny, a komplexy jsou stabilnější (Pitter, 1999).

Železo je přirozenou součástí přírodních vod. Obvykle se vyskytuje v koncentracích kolem 0,5 mg/l (8,95 $\mu\text{mol/l}$), s vyšší koncentrací (až 1mg/l) v rašelinných vodách (Pitter, 1999).

V hlubších jezerech je obsah železa obvykle stratifikován. Především v zimě a v létě je u dna koncentrace rozpuštěného železa vyšší než v epilimniu (horní vrstva vodních nádrží, jejíž teplota je ovlivněna změnami slunečního záření). V anoxických podmínkách hypolimnia (spodní vrstva vodních nádrží s konstantní teplotou) je železo ve formě kationtu železnatého. Když dochází k jarní nebo podzimní cirkulaci vody, je dvojmocná forma železa oxidována na nerozpustný kation železitý, který je pak vylučován jako oranžovo-hnědý oxid železitý, který sedimentuje ke dnu (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011).

Železo je pro organismy esenciálním prvkem, ale příliš vysoké koncentrace ve vodách pitných i užitkových jsou nežádoucí kvůli většímu výskytu železitých bakterií a také kvůli ovlivnění senzorických a technologických vlastností vody (Pitter, 1999).

II.2.2 Hliník

Hliník se do půdy a následně do vody dostává vyloužením hlinitokřemičitanových hornin (např. živců, slíd...). Hliník se vyskytuje ve formě trojmocného kationtu a ve vodním prostředí podléhá hydrolyze na málo rozpustný $\text{Al}(\text{OH})_3$ (kolem 0,4mg/l), který může dále podléhat hydrolyze za vzniku mono i polynukleárních hydroxykomplexů, například $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ nebo $\text{Al}_{17}(\text{OH})_{17}^{4+}$ (Brezonik & Arnold, 2011, Essington, 2004). Se zvyšující se kyselostí se rozpustnost hlinitého kationtu zvyšuje. V kyselých vodách se vyskytuje především ve formě hexaaquahlinitanového komplexu $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ (Pitter, 1999).

Jako organicky vázaný se hliník vyskytuje ve formě komplexů s huminovými látkami, které tak zvyšují podíl hliníku ve vodě až na 1 mg/l. Stabilita komplexů je závislá

především na pH vody. Se zvyšujícím se pH se zvyšuje, ale jen do určité hodnoty, kdy začne převládat vliv OH^- iontů (Pitter, 1999). Nejstabilnější je při hodnotě pH 6 (Morgan, 1967). 1 g huminových látek je schopen navázat až 1,5 mmol Al (Backes & Tipping, 1987).

Ve vodě je hliník buď rozpuštěný, nebo tvoří koloidní částičky. Při použití filtru o velikosti otvorů 0,45 μm se obsah hliníku pohybuje obvykle v setinách až desetínách mg/l (Zýka, 1982). U acidifikovaných vod a vod s rozpuštěnou organickou hmotou jsou hodnoty vyšší (Pitter, 1999).

Komplexace organickými látkami způsobuje, že obsah hliníku je v přírodních nádržích stratifikován v závislosti na obsahu organických látek v profilu jezera (Backes & Tippnig, 1987).

Vysoké koncentrace hliníku ve vodě jsou nežádoucí. Hlinitý kation má neurotoxické účinky (Reiber, 1995). Působí také fyto toxicky a je jedovatý pro ryby a další vodní organismy, protože se ve formě $\text{Al}(\text{OH})_3$ usazuje na žábřácích a znesnadňuje tak dýchání. (Brezonik & Arnold, 1999).

II.2.3 Fosfor

Zdrojem fosforu ve vodě jsou přírodní fosforečnany – především apatity $[\text{3Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{F},\text{Cl})_2]$, variscit ($\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), strengit ($\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a další (Pitter, 1999). Zdrojem organického fosforu je živočišný odpad a rozkládající se biomasa (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011).

Fosfor obsažený ve vodě se dělí v závislosti na použitém filtru (standardně 0,45 μm) na rozpuštěný a nerozpuštěný (Horáková a kol., 2003), nerozpuštěný zahrnuje mimo fosforu vázaného na koloidní částice i fosfor vázaný ve sloučeninách (DNA, fosfoproteiny...) (Wetzel, 1983).

Rozpuštěná část fosforu se dělí na dvě frakce. Rozpuštěný reaktivní fosfor (RRP, pro tuto část se také používá termín orthofosforečnany). Ten se stanovuje molybdenanovou metodou - modrý fosforečnано-molybdenanový komplex je určen kolorimetricky (Murphy and Riley, 1962). RRP zahrnuje jednoduché i komplexní formy orthofosforečnanů, ale často i fosfor vázaný labilně na organických i anorganických

látkách. Rozpuštěný nereaktivní fosfor tvoří druhou část rozpuštěného fosforu. Tato část nelze stanovit molybdenanovou metodou a je tvořena hlavně organicky vázaným fosforem a polyfosforečnany (Hejzlar, 1994). Pro jejich stanovení se převádějí kyselou hydrolyzou nebo oxidačním rozkladem na orthofosforečnany (Pitter, 1999).

Termín biologicky dostupný (využitelný) fosfor je používán pro fosfor, který je schopen využít fytoplankton (Sharpley, 1993).

Formy orthofosforečnanů, které se běžně vyskytují ve vodách kolem neutrálního pH jsou například H_2PO_4^- , $[\text{CaHPO}_4]^0$, $[\text{MgHPO}_4]^0$. V přítomnosti Al^{3+} , Fe^{3+} a dalších vícemocných kationtů dochází k tvorbě komplexů. Polyfosforečnany existují například ve formě $\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-}$ nebo $[\text{CaP}_2\text{O}_7]^{3-}$ (Pitter, 1999, Brezonik & Arnold, 2011).

Neboť většina fosforečnanů (vápenatý, hořečnatý, železitý...) je ve vodě špatně rozpustná a sorbují se na tuhé fáze ve vodě (hlinitokřemičitany, sedimenty), které se pak ukládají u dna, jsou obvykle koncentrace fosforu ve vodě nízké. V povrchových vodách se pohybují hodnoty fosforu kolem 0,1 mg/l, při koncentraci nad 0,15 mg/l působí už fosfor eutroficky. Nádrže a jezera s koncentrací rozpuštěného reaktivního fosforu pod 10 $\mu\text{g/l}$ lze považovat za oligotrofní (vody s nízkým obsahem živin) (Pitter, 1999).

Fosfor není toxický prvek, ale náhlé zvýšení jeho koncentrace ve vodě může poukazovat na fekální znečištění (Pitter, 1999, Horáková a kol, 2003). Přesné hodnoty pro obsah fosforu v pitné vodě nejsou uváděny, ale pro vodárenské toky se koncentrace pohybuje do 15 mg/l a pro ostatní povrchové vody do 0,4 mg/l (Pitter, 1999).

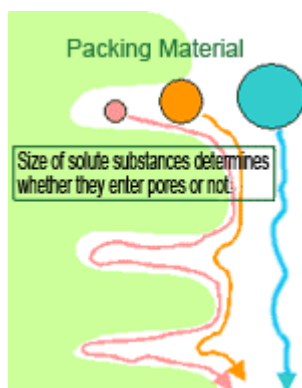
II.3 Princip size-exclusion chromatografie

Chromatografie je analytická technika využívaná k rozdělování dvou a více složek směsí na základě jejich odlišných vlastností (molární hmotnost, náboj, polarita...). Rozdělování probíhá na principu opakovaném ustanovování rovnováhy rozpuštěných látek mezi mobilní fází (rozpuštědlem) a stacionární fází (nepohyblivá tekutina uvnitř porů, povrch iontoměniče, adsorpční povrch náplně kolony...).

Size-exclusion chromatografie (obecnější název pro dvě podobné techniky známé

jako gelová permeační chromatografie – pro syntetické polymery, nebo gelová filtrační chromatografie – pro látky rozpustné ve vodě) je speciální typ kapalinové chromatografie, kde se nevyužívá chemické interakce mezi analytem a mobilní nebo stacionární fází, ale využívá se různé rychlosti průtoku analytu skrz pórovitou matrici v závislosti na velikosti analytu (molekulové hmotnosti), respektive opakované výměně analytu mezi rozpouštědlem a nepohyblivou kapalinou uvnitř pórů náplně kolony. Celý systém je oproti ostatním termodynamicky řízeným chromatografickým technikám, řízen entropií, přičemž hnací silou je koncentrační gradient mezi fázemi (Striegel a kol, 2009).

Látky s velkou molekulovou hmotností nedifundují do malých otvorů porézní matrice, prostupují kolonou s mobilní fází, tudíž se vylučují rychleji než látky s malou molekulovou hmotností, které mají díky difuzi i do malých pórů vyšší retenční čas. Výsledkem je, že nejprve projdou kolonou sloučeniny s vyšší molekulovou hmotností a látky s nižší hmotností se eluují až později (Obrázek 1). SEC technika je schopna rozdělit molekuly lišící se svou molekulovou hmotností až o 5 řádů od stovek g/mol až po $2 \cdot 10^7$ g/mol (Striegel a kol, 2009). Přičemž především velikost pórů náplně kolony určuje rozsah velikostí rozdělovaných molekul.



Obrázek 1: Princip size-exclusion chromatografie.

Při správném nastavení parametrů (náplň kolony – velikost pórů, teplota, složení mobilní fáze...) lze dosáhnout toho, že závislost retenčního času na molekulové hmotnosti je v určitém intervalu lineárně závislá. Výsledná křivka je tak skutečným rozdělením molekul v závislosti na hmotnosti. Aby bylo rozdělení závislé čistě na

velikosti molekul, je nutné minimalizovat jakoukoliv chemickou afinitu analytu k náplni kolony (Podzimek, 2011). Jako náplně kolony lze použít různé gely, například nejpoužívanější Sephadex (dextran zesíťovaný epichlorhydrinem) nebo Sepharose (vyráběný z agarózy) či Bio-Gel (na bázi akrylamidu).

SEC chromatograf se skládá ze stejných částí jako jiné druhy chromatografických aparatur. Ze zásobníku je mobilní fáze do systému přiváděna vysokotlakým čerpadlem, roztoky vzorků jsou do systému dávkovány automatickým dávkovačem, vlastní rozdělení probíhá v koloně naplněné gelem. Analyty rozdělené podle hmotnosti jsou přiváděny do detektoru (například DAD-diode array detector).

Techniku SEC lze využít pro mnoho účelů. Může být použita jako preparativní technika pro rozdělení molekulárních frakcí, případně může sloužit také jako odsolovací technika (místo dialýzy). SEC se také používá pro odhad molekulové asociační konstanty (zda vznikají komplexy malých molekul s makromolekulami, nebo agregáty z makromolekul) (Striegel a kol, 2009).

Využití SEC jako analytické procedury je pro rozdělení molekul dle jejich velikosti a za použití kalibračních standardů následné získání průměrných molekulových hmotností. Protože mnoho syntetických i přírodních makromolekul je polydisperzního charakteru vzhledem k molekulovým hmotnostem, lze SEC v kombinaci s dalšími analytickými technikami použít pro určení distribuce chemické heterogenity, architektury, polyelektrického náboje nebo zesíťování polymerů (Striegel a kol., 2009). Při spojení s ICP/MS ji lze také využít k detekci různých kovů v biologických a přírodních vzorcích (Wrobel a kol, 2003).

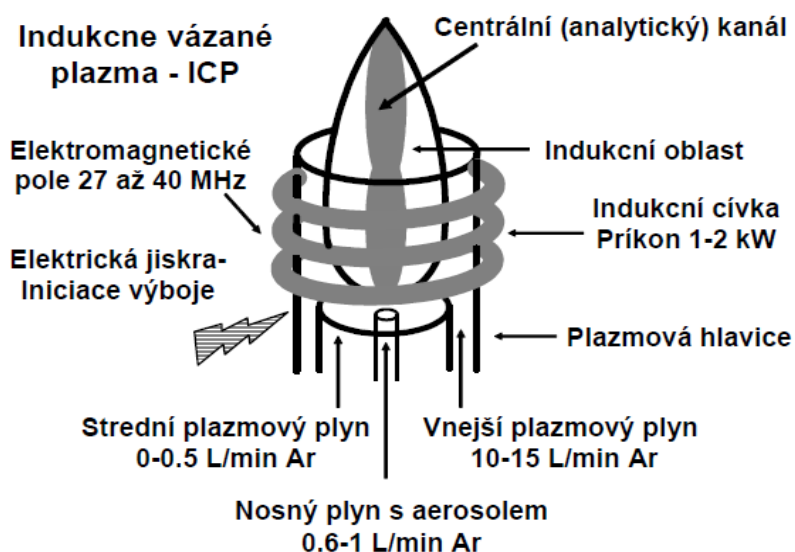
II.4 Princip ICP-MS

Inductively-coupled plasma/Mass spektrometry (ICP/MS) je analytická metoda která využívá spojení indukčně vázaného plazmatu s hmotnostním spektrometrem k multielementární stopové analýze vzorků.

Velkou výhodou ICP/MS oproti jiným technikám používaným v laboratořích k detekci prvků ve vzorcích (např. AES – atomová emisní spektrometrie nebo AAS –

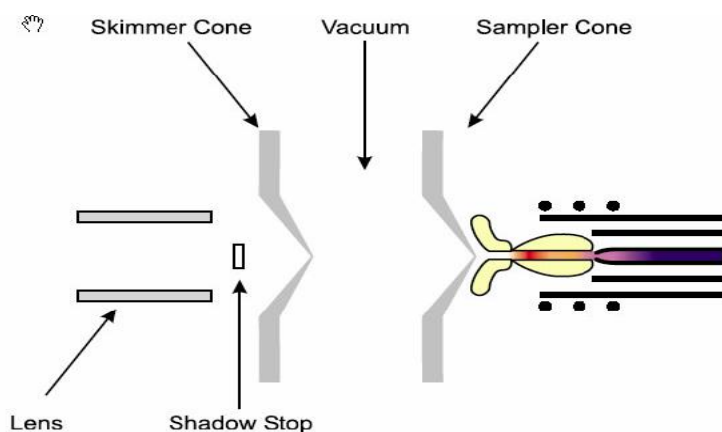
atomová absorpční spektrometrie) je simultánní detekce více různých prvků, přičemž ICP/MS umožňuje stanovovat téměř všechny prvky od lithia po uran.

K dalším výhodám ICP/MS patří také lepší nebo stejně dobrý detekční limit prvků než u AES či AAS, schopnost detekovat prvky i ze složitější matrice, a to především díky velmi vysoké teplotě plazmatu, nebo také obdržení informace o obsahu izotopů ve vzorku (díky spojení s hmotnostním spektrometrem) (Wolf, 2005).



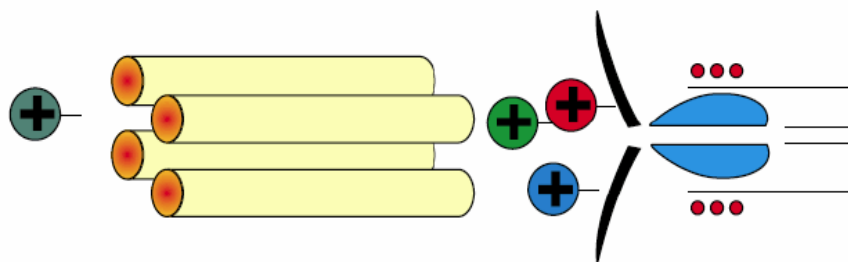
Obrázek 2: Schéma ICP zdroje.

Během stanovení je kapalný vzorek přiváděn peristaltickou pumpou do zmlžovacího zařízení, kde je rozprášen na jemný aerosol, který je následně tenkou tryskou veden do indukčně vázaného plazmatu argonu generovaného střídavým vysokofrekvenčním magnetickým polem (25–50 MHz) (Obrázek 2), vysoká energie je aerosolu předávána speciální cívkou umístěnou na vyústění zmlžovače (výkon až 1,8 kW). Cívka musí být po dobu analýzy chlazená deionizovanou vodou, aby nedocházelo k přehřívání. Pro tvorbu aerosolu vzorku, který má požadované vlastnosti pro analýzu, je nutné, aby bylo přiváděno určité množství argonu v závislosti na dané analýze. Teplota argonového výboje se pohybuje v rozmezí 6000 až 10000 Kelvinů. V argonovém plazmatu je vzorek atomizován, chemické vazby v molekulách sloučenin zanikají a vznikají kladně nabití ionty. Ionty jsou dále vedeny do hmotnostního spektrometru.



Obrázek 3: Rozhraní ICP a MS.

V hmotnostním spektrometru je udržováno velmi nízké vakuum ($<0,001$ Pa). Ionty z ICP zdroje jsou do hmotnostního spektrometru přiváděny fokusací elektromagnetickými čočkami. Při přechodu z ionizačního zdroje do vakua musí přejít přes dva velmi úzké vstupní prostory (několik desetin milimetru), které zajišťují stabilní vakuum ve spektrometru (Obrázek 3). Vakua se dosahuje činností celkem 4 vakuových pump. Ve vlastním spektrometru jsou ionty rozděleny podle podílu hmotnosti a náboje (mass to charge ratio, m/z). Ještě před vlastním rozdělením analyzovaných iontů je třeba odstranit nechtěné částice (například atomy argonu, kyslíku nebo vodíku), tyto elektricky neutrální částice se odstraňují mechanickou překážkou, na které se zastaví, ionizované částice se vychýlí a vstupují do analyzátoru. Nejčastěji používaný typ analyzátoru je kvadrupólový hmotnostní filtr (Obrázek 4), kde se aplikuje střídavé napětí na protilehlých tyčích kvadrupólu, prvky jsou rozděleny podle hmotností a nábojů – na povrch elektronásobiče dopadají v určitém čase pouze ionty o určité hmotnosti.



Obrázek 4: Schéma kvadrupólu.

Nejčastěji se využívají detektory se záporně nabitým povrchem, který přitahuje kladně nabité ionty. Po dopadu iontu na povrch se uvolní elektrony, vzniká elektrický proud, který je následně zesílen a signál předán výpočetnímu programu. Intenzita signálu je úměrná koncentraci iontů ve vzorku (Jarvis a kol, 1992).

III Materiál a metody

III.1 Lokalita

Vzorky povrchových vod použité v této bakalářské práci byly odebrány ze šumavských jezer a jejich přítoků koncem léta 2015 (Tabulka č. 1).

Tabulka 1: Seznam vzorků – použitá zkratka, název, datum odběru a hloubka, ze které byly vzorky odebrány. Číselné označení přítoků a zonace odpovídá dřívějším pracím (např. Kopáček et al, 2001a, Kopáček et al, 2001b, Kopáček et al, 2001c).

Zkratka	Název	Datum odběru	Hloubka (m)	Zkratka	Název	Datum odběru	Hloubka (m)
LA-VY	Laka - výtok	14.8.15	0	CN-HL	Černé jezero - hladina	7.9.15	0,5
LA-HL	Laka - hladina	31.8.15	0,5	CN-Z-1	Černé jezero - zonace 1	7.9.15	5
LA-dno	Laka - dno	31.8.15	2	CN-Z-2	Černé jezero - zonace 2	7.9.15	10
LA-I	Laka - přítok I	31.8.15	0	CN-Z-3	Černé jezero - zonace 3	7.9.15	20
LA-II	Laka - přítok II	31.8.15	0	CN-Z-4	Černé jezero - zonace 4	7.9.15	30
LA-III	Laka - přítok III	31.8.15	0	CN-dno	Černé jezero - dno	7.9.15	36
PR-VY	Prášilské jezero - výtok	16.8.15	0	CN-IV	Černé jezero - přítok IV	7.9.15	0
PR-HL	Prášilské jezero - hladina	31.8.15	0,5	CN-V	Černé jezero - přítok V	7.9.15	0
PR-Z-2	Prášilské jezero - zonace 2	31.8.15	4	CN-VI	Černé jezero - přítok VI	7.9.15	0
PR-Z-3	Prášilské jezero - zonace 3	31.8.15	8	CN-VII	Černé jezero - přítok VII	7.9.15	0
PR-Z-4	Prášilské jezero - zonace 3	31.8.15	12	CN-VIII	Černé jezero - přítok VIII	7.9.15	0
PR-dno	Prášilské jezero - dno	31.8.15	14	CT-VY	Čertovo jezero - výtok (1.)	20.8.15	0
PR-I	Prášilské jezero - přítok I	31.8.15	0	CT-VY-2	Čertovo jezero - výtok (2.)	3.9.15	0
PR-III	Prášilské jezero - přítok III	31.8.15	0	CT-HL	Čertovo jezero - hladina	7.9.15	0,5
PR-V	Prášilské jezero - přítok V	31.8.15	0	CT-Z-1	Čertovo jezero - zonace 1	7.9.15	5
GA-HL	Velké javorské - hladina	2.9.15	0,5	CT-Z-2	Čertovo jezero - zonace 2	7.9.15	10
GA-Z-2	Velké javorské - zonace 2	2.9.15	5	CT-Z-3	Čertovo jezero - zonace 3	7.9.15	20
GA-Z-3	Velké javorské - zonace 3	2.9.15	10	CT-Z-4	Čertovo jezero - zonace 4	7.9.15	30
GA-dno	Velké javorské - dno	2.9.15	15	CT-dno	Čertovo jezero - dno	7.9.15	33
GA-II	Velké javorské - přítok II	2.9.15	0	CT-II	Čertovo jezero - přítok II	7.9.15	0
GA-III	Velké javorské - přítok III	2.9.15	0	CT-IV	Čertovo jezero - přítok IV	7.9.15	0
GA-V	Velké javorské - přítok V	2.9.15	0	CT-V	Čertovo jezero - přítok V	7.9.15	0
GA-VI	Velké javorské - přítok VI	2.9.15	0	CT-VI	Čertovo jezero - přítok VI	7.9.15	0
GA-VII	Velké javorské - přítok VII	2.9.15	0	CT-VII	Čertovo jezero - přítok VII	7.9.15	0
KA-HL	Malé javorské - hladina	2.9.15	0,5	PL-VY	Plešné jezero - výtok (1.)	29.8.15	0
KA-Z-2	Malé javorské - zonace 2	2.9.15	3	PL-VY-2	Plešné jezero - výtok (2.)	9.9.15	0
KA-Z-3	Malé javorské - zonace 3	2.9.15	7	PL-HL	Plešné jezero - hladina	9.9.15	0,5
KA-dno	Malé javorské - dno	2.9.15	8	PL-Z-2	Plešné jezero - zonace 2	9.9.15	4
KA-II	Malé javorské - přítok II	2.9.15	0	PL-Z-3	Plešné jezero - zonace 3	9.9.15	9
KA-III	Malé javorské - přítok III	2.9.15	0	PL-Z-4	Plešné jezero - zonace 4	9.9.15	14
KA-IV	Malé javorské - přítok IV	2.9.15	0	PL-dno	Plešné jezero - dno	9.9.15	16
KA-V	Malé javorské - přítok V	2.9.15	0	PL-I	Plešné jezero - přítok I	9.9.15	0
RA-HL	Roklanské jezero - hladina	4.9.15	0,5	PL-II	Plešné jezero - přítok II	9.9.15	0
RA-Z-2	Roklanské jezero - zonace 2	4.9.15	4	PL-III	Plešné jezero - přítok III	9.9.15	0
RA-Z-3	Roklanské jezero - zonace 3	4.9.15	8	PL-IV	Plešné jezero - přítok IV	9.9.15	0
RA-Z-4	Roklanské jezero - zóna 4	4.9.15	10				
RA-dno	Roklanské jezero - dno	4.9.15	12				
RA-II	Roklanské jezero - přítok II	4.9.15	0				
RA-V	Roklanské jezero - přítok V	4.9.15	0				
RA-VII	Roklanské jezero - přítok VII	4.9.15	0				

Ježera na Šumavě, z nichž tři leží na bavorské straně (Roklanské, Velké Javorské a Malé Javorské jezero) a pět na české straně (Černé, Čertovo, Prášilské, Plešné a jezero Laka), jsou ledovcového původu z doby posledního zalednění Šumavy na konci třetihor. Ježera jsou napájena jak spodními prameny, tak povrchovými přítoky.

Ježera Černé a Čertovo jsou hlubší a mají větší objem než ostatní. Nejmenší, s maximální hloubkou 4 m, je jezero Laka, které je nejvýše položené a má poměrně velkou plochu povodí. Velká povodí mají i Javorská jezera. Všechna tři jezera mají malé objemy, ale jejich průtok je vysoký (Šobr & Jánský, 2016).

Pro všechna jezera je charakteristické podloží obsahující málo vápenatých iontů (svory, žuly, křemence a ruly), proto jsou jezera náchylná k okyselení. K acidifikaci jezer v minulosti přispěly antropogenní vlivy, především kyselý dešť způsobené oxidy síry ze spalování uhlí. Okyselení způsobilo úhyn ryb a většiny druhů planktonních korýšů. Díky regulaci emisí se jezera vrací do původního stavu (Vrba a kol, 2002).

Roklanské jezero je stále pod vlivem atmosférického znečištění. Vodu má průhlednou, protože hnědavě zabarvené huminové látky byly vysráženy. Naopak Plešné jezero, které je asi nejméně ovlivněno negativním působením člověka, má díky vysoké koncentraci fosforu z přítékající vody vysoký obsah fytoplanktonu a je zbarvené do zelena. Ostatní šumavská jezera mají díky přítomnosti rozpuštěných organických látek zbarvení nahnědlé (Vrba a kol, 2002).

Chemismus jezer se mění v průběhu roku. Až na mělké jezero Laka jsou všechna jezera dimiktická – míchají se dvakrát ročně – na jaře a na podzim. V zimě a v létě jsou jezera teplotně stratifikována a u dna se vytváří působením bakterií, které rozkládají organickou hmotu a spotřebovávají kyslík, anoxické podmínky. Směrem ke dnu se pH vody zvyšuje (Vrba a kol, 2002).

Kyselost jezer se pohybuje v rozmezí od pH 4,5 až do pH 5,9. Kyselými dešti jsou ovlivněna jezera Černé, Čertovo, Plešné, Roklanské, Velké Javorské a jezero Laka, další dvě ovlivněna už dnes prakticky nejsou (Kopáček et al, 1998a). Na kyselosti vody se mimo rozpuštěných síranových a dusičnanových iontů podílí i organické kyseliny vznikající rozkladem organických zbytků (Vrba a kol, 2002).

Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku se pohybují od 2 do 3 mg/l C.

Výjimku tvoří Roklanské jezero s vysráženou organickou hmotou (0,9 mg/l C) a Prášílské jezero a jezero Laka s vysokým obsahem biomasy (4 mg/l C) (Vrba a kol, 2002).

Přítoky jezer obsahují organického uhlíku více než vlastní jezero, a to především v létě, protože organická hmota podléhá fotochemickým reakcím, které degradují složité sloučeniny na jednodušší (Vrba a kol, 2002).

Důležitou roli ve vodě také hraje rozpuštěný hliník. Acidifikovaná voda způsobuje vyloučení hliníku z podloží. Hliník může být vázán na organické látky, ale ve vodě s pH pod hodnotou 5 je především ve formě komplexů. Pro vodní organismy je toxický hliník především ve formě Al^{3+} a hydroxykomplexů (Al-OH) (Pitter, 1999). Hliník také účinně váže fosfor, vznikající partikule se ukládají v sedimentu (Šantrůčková & Vrba, 2010). Proto i v Plešném jezeře, kam přitéká relativně dost fosforu, je fosfor limitujícím prvkem (Kopáček et al, 2000). V ostatních jezerech se koncentrace rozpuštěného reaktivního fosforu (RRP), který je využitelný mikroorganismy, pohybuje kolem 1 $\mu\text{g/l P}$ (Vrba a kol, 2002).

III.2 Metody

Vzorky byly odebírány do polyethyltereftalátových lahví, již při odběru byly vzorky filtrovány přes 40 μm nylonové sítko, aby byly odstraněny případné nečistoty (jehličí, listí, apod.) zvířené při manipulaci s odběrnou nádobou. Protože se stanovovalo jen rozpuštěné železo, nebylo třeba vzorek stabilizovat kyselinou dusičnou. Vzorky byly uloženy v přenosných chladičích taškách a neprodleně dopraveny do laboratoře, kde byly zfiltróvány přes skleněný filtr o porozitě 0,4 μm (Macherey Nagel GF-5, Německo) a skladovány v chladičím boxu (4°C).

V odebraných vzorcích byly změřeny následující chemické parametry (detailní popis stanovení není uváděn, neboť stanovení těchto parametrů nebylo cílem bakalářské práce, je možné jej nalézt v literatuře, například Kopáček et al, 2000):

- pH – stanovení potenciometricky skleněnou elektrodou (Titralab)
- DOC (dissolved organic carbon – uhlík v organických látkách procházející filtrem 0,4 μm) – organické látky se oxidují na CO_2 , který je následně měřen infračerveným detektorem (Shimadzu TOC 5000A, Japonsko)

- vodivost (konduktivita) – přibližná míra koncentrace elektrolytů ve vodě, nepřímo vyjadřuje obsah minerálních látek ve vodě, stanovení konduktometrem (WTW CON 720, Německo)
- absorbance (254 nm a 400 nm) – spektrofotometrické stanovení;aromatické látky absorbují v rozmezí 220-380 nm, protože huminové látky obsahují aromatická jádra, koreluje absorbance při 254 nm s obsahem huminových látek, absorbance při 400 nm určuje zabarvení vody (Hautala et al, 2000)
- koncentrace rozpuštěných iontů (Cl^- , F^- , NO_3^- , NO_2^- , SO_4^{2-} , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} a NH_4^+) – stanovení pomocí iontové chromatografie amperometrickým detektorem
- alkalita (kyselinová neutralizační kapacita) – stanovení pomocí Granovy titrace (Gran, 1950). Potenciometrem se stanoví pH po přidání silné kyseliny ke vzorku. Granovou metodou se určí bod ekvivalence (Stumm &Morgan, 1996).
- specifická UV absorbance (SUVA) – počítá se jako podíl absorbance při 254 nm [m^{-1}] a koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) v mg/l, uvádí se v jednotkách $\text{l} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ (Edzwald et al., 1985; Fram et al., 1999)

Fosfor (stanovení kolorimetricky molybdenanovou metodou):

- VP (veškerý fosfor, nefiltrované vzorky – nereaktivní část fosforu je převedena oxidací na reaktivní formu – orthofosforečnany)
- RP (rozpuštěný fosfor, vzorky filtrovány – nereaktivní formy se převedou na orthofosforečnany)
- RRP (rozpuštěný reaktivní fosfor – stanovení anorganického fosforu)

Hliník (stanovení kolorimetricky reakcí s pyrokatecholovou violetí za vzniku komplexu):

- TR-Al (total reactive, formy organické, anorganické i polymerní, nefiltrovaný vzorek)
- DR-Al (dissolved reactive, organické, anorganické i polymerní formy, filtrovaný vzorek).
- NL-Al (non-labile, formy hliníku, které nejsou zachycené katexem (Porcal et al., 2009))

Železo (spektrofotometrické stanovení koncentrace komplexu Fe s KSCN):

- T-Fe (total Fe, veškeré železo, nefiltrovaný vzorek)
- D-Fe (dissolved Fe, rozpuštěné železo, filtrovaný vzorek)
- NL-Fe (non-labile Fe, železo bez forem zachycených katexem (Porcal et al., 2009))

III.3 Size-exclusion chromatografie

SEC chromatografie byla použita v kombinaci s ICP/MS pro charakterizaci organických látek a výskytu Al, Fe a P v závislosti na měnící se molekulové hmotnosti DOM. HPLC chromatograf Dionex DX320 (Dionex, USA) byl vybaven kolonou PL-aquagel-OH 20 (Agilent, USA) s velikostí kapiláry 5 μm a s výrobcem udávaným rozsahem molekulových hmotností 100-20000 g/mol pro polyethylenglykolové standardy. Protože byl následně pomocí ICP/MS stanovován fosfor, nebylo při stanovení SEC použito fosfátového pufru, ale jako mobilní fáze byla použita demineralizovaná voda. Nástřik vzorku byl 200 μl , průtok chromatografem 0,9 ml/min, časový rozsah 0-20 minut. K detekci byl použit photodiode array detektor (ICS PDA DIONEX) v rozsahu 190–800 nm, pro další interpretaci byla použita vlnová délka 210 nm.

III.3.1 SEC – výpočet molekulové hmotnosti

Neboť byla metoda nejprve používána v průmyslu při stanovování podílů molekulových hmotností polymerů ve směsi, měřily se dva druhy molekulových hmotností: number-average molar mass, M_n , a weight-average molar mass, M_w (Podzimek, 2011).

Number-average molar mass, M_n , se využívá k měření průměrné délky řetězce v polymeru. Tato veličina byla v laboratořích měřena díky koligativním vlastnostem molekul a je definována jako hmotnost vzorku v gramech $\sum W_i$ nebo $\sum N_i \cdot M_i$ podělená počtem přítomných řetězců polymeru $\sum N_i$.

$$M_n = \frac{\sum N_i \cdot M_i}{\sum N_i} = \frac{\sum W_i}{\sum \frac{W_i}{M_i}} \quad (1)$$

Pro výpočet z SEC chromatogramu se používá rovnice:

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^N h_i}{\sum_{i=1}^N \left(\frac{h_i}{M_i} \right)} \quad (2)$$

kde h_i je výška křivky v SEC a M_i je molární hmotnost daného druhu molekul.

Hodnota M_n je ovlivněna spíše nízkomolekulárními členy (Podzimek, 2011).

M_w , weight-average molar mass, je definována jako

$$M_w = \frac{\sum N_i \cdot M_i^2}{\sum M_i \cdot N_i} = \frac{\sum W_i \cdot M_i}{\sum W_i} \quad (3)$$

Pro výpočet z SEC chromatogramu se používá rovnice:

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^N (h_i \cdot M_i)}{\sum_{i=1}^N h_i} \quad (4)$$

Tato veličina zdůrazňuje příspěvek polymerů s vyšší molekulovou hmotností (Podzimek, 2011).

V této práci jsou pro molekulovou hmotnost používány jednotky Dalton (Da), které jsou obvyklé pro průmyslové využití SEC chromatografie (Podzimek, 2011). Pro vyjádření v SI jednotkách lze použít jednoduchý přepočít, kdy 1 Da odpovídá 1 g / mol.

III.3.2 Kalibrace size-exclusion chromatogramu

Při vhodném nastavení parametrů lze získat kalibrační křivku pro stanovení molekulové hmotnosti. Obecný vztah pro vytvoření grafu kalibrační křivky v závislosti na molekulové hmotnosti (někdy kvůli velkému rozsahu molekulových hmotností v závislosti na dekadickém logaritmu) je tento:

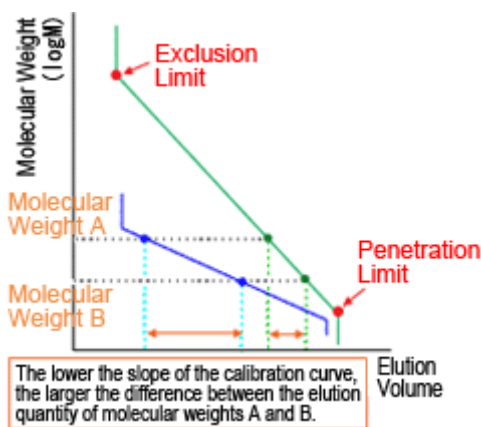
$$M = b - c \cdot V_e \quad (5)$$

kde b a c jsou konstanty získané z kalibrační křivky, M je molekulová hmotnost a V_e

eluční objem.

Pro kalibraci jsou používány molekuly se známou molekulovou hmotností a co nejvíce strukturně podobné molekulám analytu (Striegel a kol, 2009).

Molekuly, které jsou větší než velikost pórů, jsou vyloučeny společně s mobilní fází – vylučovací limit (exclusion limit). Naopak molekuly pod určitou hranicí velikosti pronikají do pórů a tíhnou k tomu být vyloučeny ve stejný čas – limit propustnosti (penetration limit) (Podzimek, 2011, Striegel a kol, 2009). Kalibrační křivka je platná mezi těmito limity (Obrázek 5).



Obrázek 5: Kalibrační křivka SEC.

Sklon kalibrační křivky lze ovlivnit velikostí pórů v matrici kolony. Čím menší jsou póry, tím pozvolnější je kalibrační křivka a také přesnější určení hmotnosti analytů. Ale je také nutné zohlednit rozsah velikostí analyzovaných molekul (Striegel a kol, 2009).

III.4 Stanovení ICP / MS

Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Agilent 8800 ICP-QQQ (Agilent, USA) provozovaný v O₂ reakčním módu byl přímo zapojen za výstup z detektoru HPLC chromatografu pro stanovení SEC a využit ke stanovení obsahu hliníku, železa a fosforu ve výstupu z SEC kolony. Nosným plynem byl argon (průtok 1 l/min), průtok plazmatu byl 15 l/min. Další parametry nastavení spektrometru jsou uvedeny v příloze v tabulce P25.

III.4.1 Kalibrace ICP/MS

Pro zjištění obsahu analytu ve vzorku, je nutné sestavit kalibrační křivku ze standardů pro daný prvek. V mnoha případech je závislost odezvy detektoru lineárně závislá na koncentraci analytu ve vzorku a lze ji popsat obecnou rovnicí:

$$y=k \cdot x+b \quad (6)$$

kde y je odezva detektoru, x je koncentrací analytu, k je sklon kalibrační křivky a b je hodnota odezvy detektoru na slepé stanovení. V ideálním případě, kdy samotná matrice analytu nedává žádnou odezvu detektoru, je b nulové a rovnice se zjednoduší na:

$$y=k \cdot x \quad (7)$$

V takovém případě prochází kalibrační křivka nulou.

V některých případech není odezva detektoru lineárně závislá na koncentraci analytu a v tom případě je nutné najít odpovídající rovnici.

Mezi podmínky ovlivňující správný průběh analýzy na ICP/MS patří například: průtok argonu, variabilita v účinnosti ionizace, složení matrice, forma analytu, ale i teplota a vlhkost v místnosti. Proto je nutné snažit se minimalizovat rušící vlivy a ostatní parametry držet na konstantní hodnotě (Jarvis a kol, 1992).

III.5 Zpracování výsledků

Z dat získaných z SEC chromatografu se pro jednotlivé vzorky vytvořily grafy absorbance při 210 nm. Při 210 nm odpovídaly vypočítané hodnoty molekulové hmotnosti údajům uváděným v literatuře a zároveň jako kontrola správnosti byl ve výsledném chromatogramu viditelný pík absorbance v oblasti pod separačním limitem kolony (100 Da), kde při 210 nm vykazují absorbanci dusičnany (Wozniak & Dera, 2007) a také některé nízkomolekulární organické látky (Silverstein a kol, 1991). Za stejných podmínek byla vytvořena kalibrační křivka se standardy. Protože ke kalibraci byl použit jako standard s nejvyšší molekulovou hmotností dextran (MW=2000kDa), který je mnohem větší než organické látky ve vodě, bylo maximum absorbance dextransu začátkem kalibrační křivky (exclusion limit). Nejnížší molekulová hmotnost standardu a

zároveň mez rozlišení kolony byla 100 Da. Kalibrační křivka je uvedena v přílohách (Obrázek P1).

Rovnice použité kalibrační křivky:

$$y = -7,1401x^3 + 767,26x^2 - 13668x + 67196 \quad (8)$$

Při určování molekulové hmotnosti organických látek ve vlastních vzorcích bylo všechno před časem 3,8 min položeno rovné nule (exclusion limit). Stejně tak byly hodnoty píků stanoveny rovné nule po čase 10,5 min (retenční čas standardu s nejnižší molekulovou hmotností – penetration limit), po tomto čase byly detekovány předpokládané anorganické látky.

S pomocí kalibrační křivky byla určena molekulová hmotnost organických látek v závislosti na retenčním čase. K výpočtu molekulové hmotnosti byly použity rovnice pro M_w a M_n uvedené v rovnicích 2 a 4.

Organické látky byly rozděleny do tří částí podle elučního času a odpovídající molekulové hmotnosti: podíl s hmotností menší než 2,5 kDa, podíl v rozmezí 2,5–10 kDa a podíl s nejvyšší molekulovou hmotností větší než 10 kDa.

Z dat získaných pomocí ICP/MS byl zjišťován celkový obsah rozpuštěného hliníku, železa a fosforu ve vodě. Nejprve byla udělána kalibrace pro standardy jednotlivých prvků. Dále byly pro jednotlivé vzorky vypočítány obsahy daných prvků. Mezi výstupem vzorku ze SEC chromatografu a vstupem do ICP/MS byl interval 5 s, a to bylo zohledněno ve výpočtu retenčního času. Díky tomu bylo možné určit podíl daného prvku v organické hmotě v závislosti na její molekulové hmotnosti. Získané hodnoty pro kombinaci SEC s ICP/MS byly porovnány s hodnotami získanými pro kolorimetrické metody.

IV Výsledky a diskuze

IV.1 Základní chemické parametry

Koncentrace DOC ve vzorcích se pohybovala v rozmezí od 0,7 do 15,3 mg/l. Nejvyšší koncentrace byla pozorována ve vzorku odebraném v povrchovém přítoku Plešného jezera (PL-I) a nejnižší byla v přítoku do Velkého Javorského jezera (GA-VII).

Obsah železa se pohyboval od 24 $\mu\text{g/l}$ do 4042 $\mu\text{g/l}$. Nejnižší naměřená koncentrace byla v Černém jezeře v hloubce pěti metrů (CN-Z-1) a nejvyšší u dna jezera Prášilského.

Koncentrace hliníku byla v rozsahu od 9 $\mu\text{g/l}$, a to v přítoku Velkého Javorského jezera (GA-VII), do 786 $\mu\text{g/l}$, která byla naměřena v přítoku Plešného jezera (PL-I).

Nejnižší koncentrace fosforu byla v jezeře Černém a Čertovo a pohybovala se od 1 do 2 $\mu\text{g/l}$. Nejvyšší obsah fosforu byl v povrchovém přítoku Plešného jezera (PL-I), kde byla naměřena hodnota 27 $\mu\text{g/l}$.

Naměřené hodnoty pH a alkality stanovované metodou podle Grana poukazují na přetrvávající acidifikaci šumavských jezer. Například u přítoků Plešného jezera (Tabulka P22) jsou hodnoty pH nižší než u vzorku ze samotného jezera. Také naměřená alkalita u přítoků dosahovala záporných hodnot. Důvodem je, že voda v přítocích vyplavuje dusičnanové a síranové anionty a zároveň není dostatečně vyvinutý uhličitanový pufrací systém (vanLoon & Duffy, 2011, Kopáček a kol, 2001).

Ostatní chemické parametry jsou uvedeny podle jednotlivých jezer v Tabulkách P1, P4, P7, P10, P13, P16, P19a P22 v přílohách.

IV.2 Průměrná molekulová hmotnost organických látek

Pro výpočet průměrné molekulové hmotnosti byly použity rovnice 2 a 4. Oba typy výpočtu molekulových hmotností M_n a M_w se liší tím, který druh molekul zohledňují. M_w zdůrazňuje příspěvek molekul, které mají vyšší molekulovou hmotnost. M_n zohledňuje spíše zastoupení nízkomolekulárních sloučenin. M_w je vždy větší než M_n s výjimkou monodisperzních systémů, kdy jsou obě průměrné hmotnosti stejné. Podíl M_w/M_n charakterizuje míru polydisperzity molekulových hmotností polymeru. (Podzimek, 2011).

Například ve finských jezerech (jezero Savojarvi a Mekkojarvi) se podíl M_w/M_n pohybuje od hodnoty 2,4 do 8,7 (Peuravuori & Pihlaja, 1997). Polydisperzita v měřených vzorcích se pohybovala od 7,9 u organických látek ze dna jezera Plešného do hodnoty 57,9 v přítoku jezera Laka (LA-II). Organické látky v přírodních vodách jsou složitou směsí molekul o různé molekulové hmotnosti (vanLoon & Duffy, 2011), proto polydisperzita v některých vzorcích dosahovala poměrně vysokých hodnot.

Z naměřených a vypočítaných hodnot ve sledovaných vzorcích lze říci, že hodnoty M_n jsou malé (60 g/mol (CN-Z-1, CN-VIII) až 1477 g/mol (PR-DNO)) a odpovídají spíše hodnotám molekulových hmotností nižších organických kyselin (např. kyselina octová – 60 g/mol, kyselina propanová – 74 g/mol). Důvodem je, že přírodní vody obsahují mnoho různých organických látek, které jsou biochemicky i fotochemicky degradovány na látky o nižší molekulové hmotnosti (Brezonik & Arnold, 2011, vanLoon & Duffy, 2011). M_n , průměrná hmotnost s ohledem na počet molekul, oproti M_w zdůrazňuje spíše příspěvek těchto nižších organických látek, které jsou ve vodě ve velkém množství, to je důvodem, proč jsou hodnoty poměrně malé. Z toho důvodu je pravděpodobně vhodnější a více odpovídající vlastnostem DOM výpočet M_w , kdy výsledné molekulové hmotnosti více zohledňují molekulové hmotnosti složitějších molekul. V následujícím textu bude molekulová hmotnost organických látek vyjadřována pomocí výpočtu M_w (rovnice 4), odpovídající hodnoty M_n jsou uvedeny v tabulkách P2, P5, P8, P11, P14, P17, P20 a P23 v příloze.

Molekulová hmotnost M_w se ve všech vzorcích pohybovala v rozmezí od 632 Da ve vzorku z hladiny Černého jezera do 13 223 Da ve vzorku odebraném nade dnem Prášilského jezera.

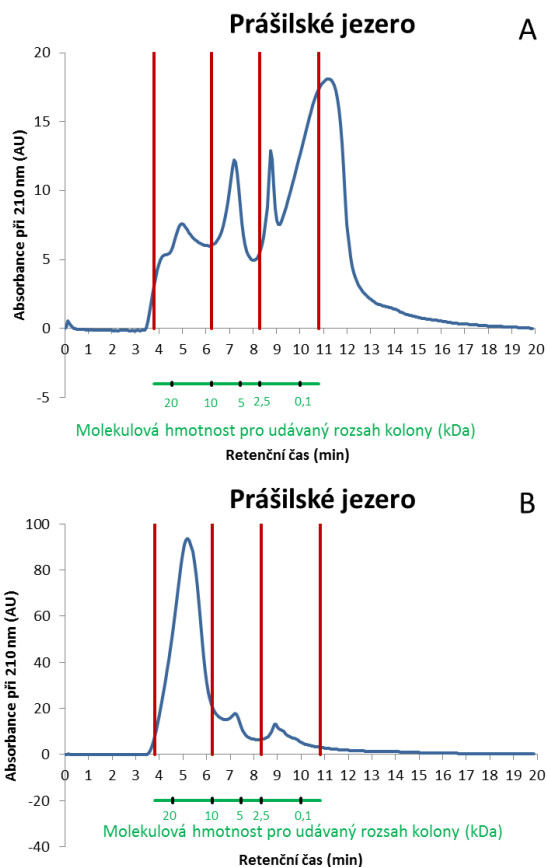
Distribuce molekulové hmotnosti charakterizovaná průběhem SEC chromatogramu byla determinována ve všech vzorcích (Tabulky P 2, P 5, P 8, P 11, P 14, P 17, P 20 a P 23). Pro grafické přiblížení interpretace byly vybrány vzorky, u kterých je nejvíce patrná jejich odlišnost. Pro porovnání rozdílů v distribuci molekulové hmotnosti na hladině a nade dnem bylo vybráno Prášilské jezero (Obrázek 6), kde M_w na hladině byla 6751 Da a nade dnem byla 13 223 Da. Pro ilustraci rozdílů mezi povrchovým a podpovrchovým přítokem byly vybrány přítoky do Plešného jezera (PL-I a PL-IV)

(Obrázek 7).

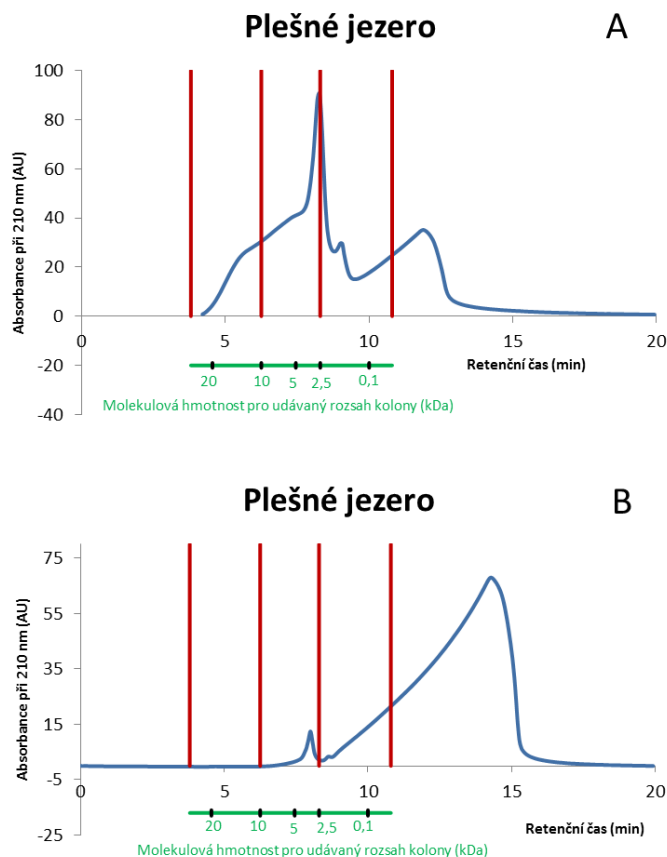
Organické látky na hladině Prášilského jezera mají větší zastoupení nízkomolekulárních organických látek (Obrázek 6A) než nade dnem, kde je podíl vysokomolekulárních látek vyšší (Obrázek 6B). Procentuální podíl vysokomolekulárních látek ($> 10\text{kDa}$) byl na hladině 27 %, kdežto u dna byl 74 %. Podíl nízkomolekulárních látek ($< 2,5\text{ kDa}$) byl na hladině 43 % a nade dnem jen 10 %. Hodnoty M_w rostou od 6751 Da po 13 223 Da. Koncentrace DOC vzrostla z 5,1 mg/l na hladině na hodnotu 8,9 mg/l nade dnem.

Hodnoty specifické UV absorbance (SUVA) rostly s hloubkou od koncentrace 4,3 do 8,2 $\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$. Specifická UV absorbance je jedním z parametrů, kterými lze charakterizovat aromaticitu organických látek ve vodě (Edzwald et al., 1985, Weishaar et al., 2003). Absorbance při 254 nm je ukazatelem aromatických sloučenin uhlíku (Traina et al., 1990) a spolu s DOC ji lze použít k určení obsahu aromatických sloučenin na jednotku koncentrace uhlíku. S aromatickým charakterem také obvykle roste i molekulová hmotnost DOM (Edzwald et al., 1985). Hodnoty SUVA jsou uvedeny v příloze v tabulkách pro jednotlivá jezera.

Podobné odlišnosti jako mezi vzorky odebranými v různých hloubkách lze pozorovat i v přítocích v závislosti na jejich charakteru. Přítoky Plešného jezera jsou povrchové (PL-I a PL-II) a podpovrchové (PL-III a PL-IV) (Kopáček et al., 2001c). V PL-I je mnohem více vysokomolekulárních látek (18 % část $>10\text{ kDa}$ a 49 % část 10–5 kDa) a M_w dosahuje hodnoty 5 644 Da. Naproti tomu v podpovrchovém přítoku PL-IV je M_w jen 1 052 Da a převážná část organických látek je nízkomolekulárních (82 % $<2,5\text{ kDa}$). Rozdílná byla i koncentrace DOC, v přítoku PL-I byla 15,3 mg/l a v PL-IV jen 1,8 mg/l. Hodnoty SUVA byly 4,8 $\text{l}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ pro PL-I a 3,01 $\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$ pro PL-IV.



Obrázek 6: Size-exclusion chromatogram s pomocnou osou x s odpovídající distribucí molekulové hmotnosti organických látek pro Prášilské jezero: A. hladina, B. dno. Červené čáry definují oblasti retenčních časů, podle kterých byly organické látky rozděleny do vysoko- a nízkomolekulární frakcí (>10 kDa, 10–2,5 kDa, < 2,5 kDa).



Obrázek 7: Size-exclusion chromatogram s pomocnou osou x s odpovídající distribucí molekulové hmotnosti organických látek pro přítoky do Plešného jezera: A. PL-I, B. PL-IV. Červené čáry definují oblasti retenčních časů, podle kterých byly organické látky rozděleny do vysoko- a nízkomolekulární frakcí (>10 kDa, 10–2,5 kDa, < 2,5 kDa).

V přítocích jezer se M_w pohybovala v rozmezí od 779 Da u vzorku CN-VIII do 9 722 Da ve vzorku LA-I. Tomu odpovídal procentuální podíl vysokomolekulární části od 0 % (CN-VIII) do 50 % (LA-I). Procentuální podíl nízkomolekulární části organických látek byl v rozsahu od 26 % (LA-I) po 90 % ve vzorku GA-VII. Důvodem je, že struktura a distribuce organických látek ve vodě je závislá na mnoha faktorech (Wershaw, 2004) a charakter přítoku každého jezera je odlišný (Vrba a kol, 2002).

Hodnoty M_w hladinových vzorků se pohybují od 632 Da ve vzorku z Černého jezera. V tomto vzorku je také téměř nulový procentuální podíl vysokomolekulárních organických látek. Nejvyšší hodnota je naopak ve vzorku LA-HL, kdy dosahuje M_w až 7437 Da. To odpovídá nejvyššímu podílu organických látek větších než 10 kDa – 31%. Nízkomolekulárních organických látek je ve vzorcích z hladin podstatně více. Hodnoty se

pohybují od 42 % (Plešné jezero) do 93 % (Černé jezero). Vzorky z hladin jezer a z výtoků jsou vzhledem k charakteru organické hmoty velmi podobné. Ani když byly vzorky odebrány v rozmezí několika dnů, tak se získané hodnoty příliš neliší.

Pro dnové vzorky je charakteristické, že mají velký podíl vysokomolekulárních látek a hodnoty M_w jsou v porovnání s ostatními vzorky vyšší. M_w se pohybovala od 1379 Da ve vzorku z Černého jezera (vysokomolekulární podíl tvořil 2 % z celkového obsahu organických látek; Tabulka P17) po 13 223 Da ve vzorku PR-DNO. Ten měl naopak podíl organických látek větších než 10 kDa 74 %. U podílu nízkomolekulárních látek se hodnoty pohybovaly od 10 % v Prášílském a Roklanském jezeře do 82 % ve vzorku z jezera Černého.

V rámci jednotlivých jezer (především u jezer teplotně stratifikovaných) lze vidět trend růstu hodnoty M_w s rostoucí hloubkou. U hladiny je mnohem více žijících organismů. Dochází zde k uvolňování extracelulární produkce. M_w tedy klesá. Další pochody, které u hladiny probíhají, jsou odbourávání organické hmoty planktonem. Dalším významným faktorem ovlivňujícím strukturu organické hmoty je fotochemická degradace (Wershaw, 2004).

Například u Plešného jezera má vzorek z hladiny hodnotu M_w 4 776 Da vzorek ze dna 6 820 Da. Podíl vysokomolekulárních látek roste od 44 do 51 %. Trend u nízkomolekulárních látek je obrácený. Ve vzorku z hladiny je podíl 42 % ve vzorku ze dna 24 %. Lze také pozorovat změny koncentrace DOC s hloubkou. Hodnoty rostou od 5,4 mg/l u vzorku z hladiny na hodnotu 7,3 mg/l ve vzorku ze dna.

Podobný trend lze najít i u jezera Černého. M_w roste z 632 na 1 379 Da, podíl látek >10 kDa se u hladiny blíží nule a u dna dosahuje hodnoty 2 %, podíl nízkomolekulárních látek naopak klesá od 93% po 82 % u dna, hodnota DOC vzrůstá jen mírně z 1,4 na 1,5 mg/l.

U Čertova jezera je trend vzrůstající M_w a tedy i podílu vysokomolekulárních organických látek jasně viditelný. M_w roste z hodnoty 1 928 Da na 5 710 Da u dna, podíl vysokomolekulárních látek roste ze tří procent na hodnotu 20 % (pro podíl s hmotností menší než 2,5 kDa jsou hodnoty 75 % pro hladinu a 40 % pro dno). Hodnota DOC také roste. U hladiny je hodnota 2,7 mg/l a postupně vzrůstá až k 4,1 mg/l ve vzorku ze dna.

V Roklanském jezeře hodnota M_w organických látek s rostoucí hloubkou také roste. U hladiny bylo M_w 5 183 Da a u dna 13 162 Da (podíl vysokomolekulárních látek rostl od 17 % na 69 %, podíl látek nízkomolekulárních klesal od 44 % na hodnotu 10 % u dna jezera). DOC rostlo z 5,3 mg/l na hodnotu 6,2 mg/l u dna.

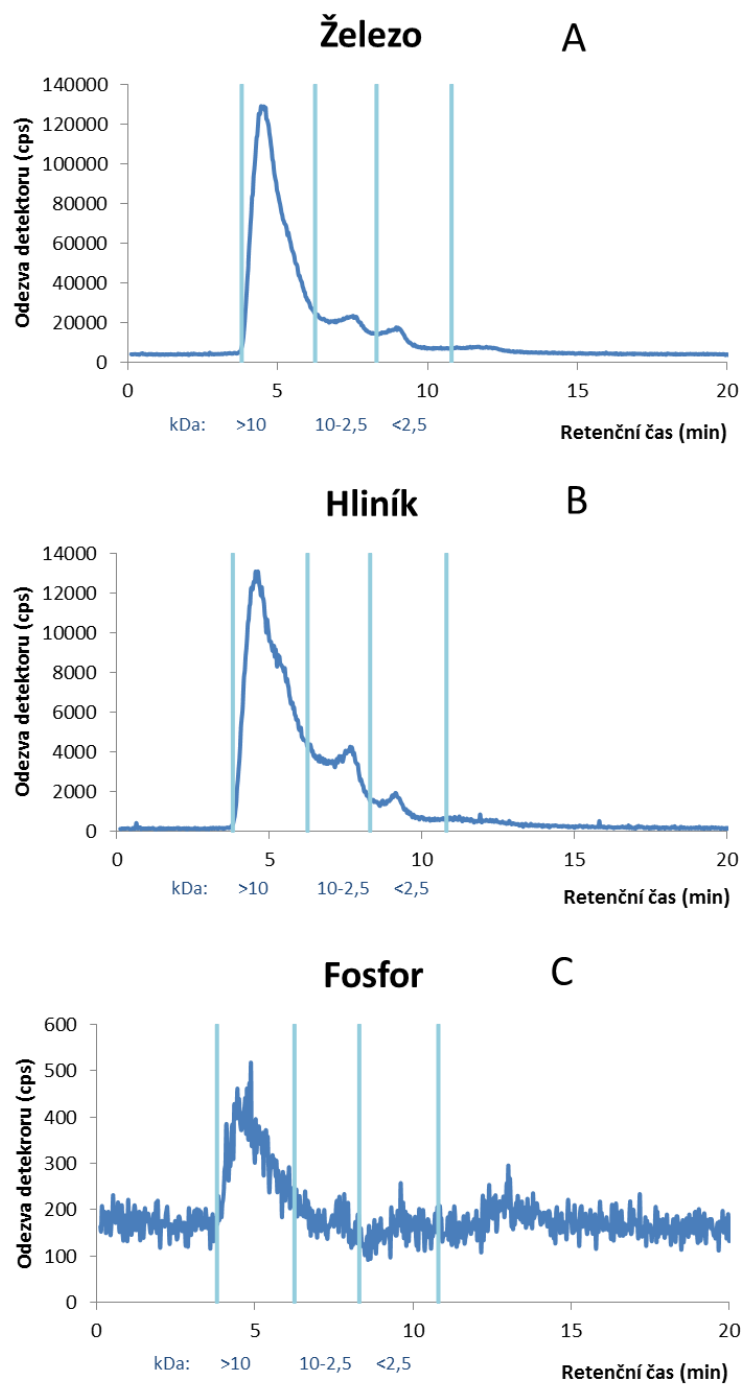
Jezero Laka je příliš mělké, proto se molekulová hmotnost organických látek v profilu jezera nemění. Javorská jezera také žádný trend růstu molekulové hmotnosti s rostoucí hloubkou nevykazují.

IV.3 Distribuce kovů (ICP/MS)

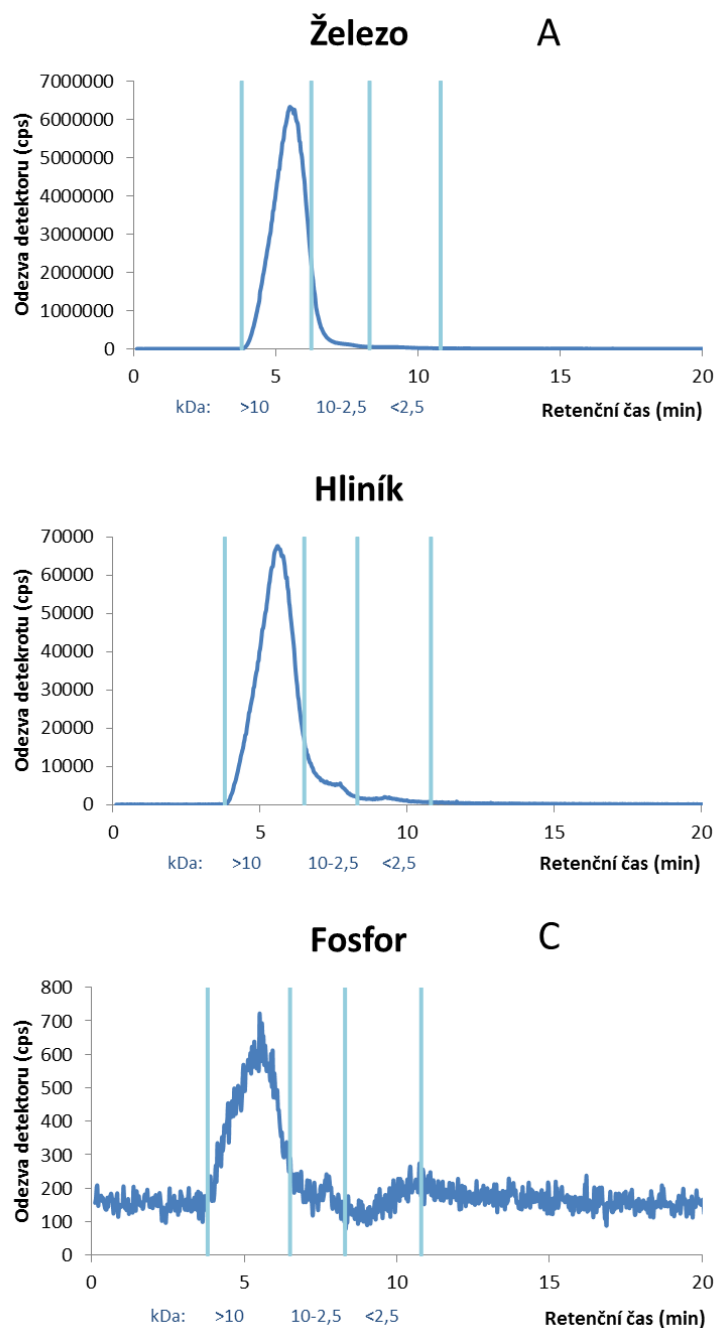
Pro reprezentaci absorpance železa, hliníku a fosforu ve vzorcích byly jako ukázky grafů získaných z ICP hmotnostního spektrometru vybrány stejně jako u SEC vzorky ze dna a hladiny Prášilského jezera. Rozdělení obsahu Fe, Al a P podle frakcí molekulové hmotnosti organických látek proběhlo na základě retenčního času.

Koncentrace kovů a fosforu se značně lišila ve vzorku z hladiny (Obrázek 8) a ze dna (Obrázek 9). Pro hladinu byly získány hodnoty: Fe: 177 $\mu\text{g/l}$, Al: 159 $\mu\text{g/l}$, P: 6 $\mu\text{g/l}$. U dna byly naměřeny hodnoty: Fe 4042 $\mu\text{g/l}$, Al: 594 $\mu\text{g/l}$, P: 11 $\mu\text{g/l}$.

Distribuce železa, hliníku a fosforu byla ve vzorku z hladiny i ze dna podobná. Hlavním rozdílem bylo, že ve vzorku ze dna byl téměř všechen analyt vázán na vysokomolekulární látky (Fe: 86 %, Al: 80 %, P: 72 %). U vzorku z hladiny bylo železo a hliník také součástí organických látek s nižší molekulovou hmotností (vysokomolekulární část obsahovala: Fe: 73 %, Al: 65 %) (Obrázek 8).



Obrázek 8: Prášilské jezero – hladina. ICP/MS: Odezva detektoru na obsah A. železa, B. hliníku, C. fosforu. Modré čáry vymezují oblasti rozdělení do různých organických a anorganických frakcí (>10 kDa, 10–2,5 kDa, <2,5 kDa, anorganická frakce – po čase 10,8 min).



Obrázek 9: Prášílské jezero – dno. ICP/MS: Odezva detektoru na obsah A. železa, B. hliníku, C. fosforu. Modré čáry vymezují oblasti rozdělení do různých organických a anorganických frakcí (>10 kDa, 10–2,5 kDa, <2,5 kDa, anorganická frakce – po čase 10,8 min).

Obsah kovů je ovlivněn podložím a dalšími faktory (geografie, biomasa...), proto jsou hodnoty naměřené pro vzorky vody z přítoků jezer do značné míry odlišné (Pitter, 1999). Nejnižší hodnota Al (9 μ g/l) byla naměřena v přítoku Velkého Javorského jezera –

GA-VII. Nejnižší hodnota Fe (41 μ g/l) byla ve vzorku CN-VIII. Nejvyšší hodnoty koncentrací Al i Fe byly ve vzorku PL-I (pro Al 786 μ g/l a pro Fe 417 μ g/l).

Koncentrace rozpuštěných kovů u hladiny závisí na obsahu organických látek, fotochemických reakcích a také na biochemických pochodech mikroorganismů. Nejvyšší koncentrace Al byla naměřena u vzorku z Plešného jezera – PL-HL (196 μ g/l), nejnižší ve vzorku CN-HL (11 μ g/l). Koncentrace železa byla nejvyšší ve vzorku z Malého Javorského jezera (312 μ g/l) a nejnižších hodnot dosahovala v Čertově jezeře (28 μ g/l).

Koncentrace kovů ve výtocích jezer byla podobná obsahu kovů na hladině. I vzorky, které byly odebrány několik dní po sobě, se mezi sebou liší málo nebo téměř vůbec.

Vzorky ze dna vykazovaly obecně vyšší koncentrace rozpuštěných kovů. Souvisí to s faktem, že většina kovů byla vázána organicky. Tyto organické látky dopadají ke dnu a tvoří sediment jezera (vanLoon & Duffy, 2011). Nejvyšší hodnoty Al i Fe byly naměřeny v Prášílském jezeře (Al: 594 μ g/l, Fe: 4042 μ g/l) a nejnižší v Černém jezeře (Al: 23 μ g/l, Fe: 30 μ g/l).

Obsah fosforu se lišil především v přítocích jezer. Hodnoty se pohybovaly od 1 μ g/l (CN-IV a CN-VIII) až po 27 μ g/l (PL-I). V rámci jednotlivých jezer se koncentrace příliš nelišila. Nejnižší hodnoty byly v jezerech Černém a Čertově, kdy koncentrace nepřekročila 2 μ g/l. V ostatních jezerech se obsah průměrně pohyboval od 2 do 8 μ g/l. Výjimkami jsou vzorky ze dna jezera Prášílského a Roklanského, kdy byly hodnoty 11 μ g/l (PR-DNO) a 13 μ g/l (RA-DNO). Tyto vysoké hodnoty byly pravděpodobně způsobeny anoxickými podmínkami u dna, které způsobily uvolnění fosforu adsorbovaného na sedimenty v jezeře (vanLoon & Duffy, 2011).

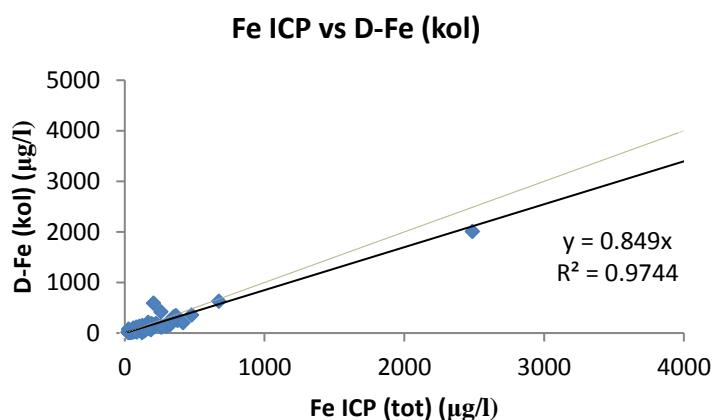
Koncentrace Fe a Al v profilu jezera se liší podle hloubky. Obecným trendem je, že podíl kovů s hloubkou roste, například v Roklanském, Čertově nebo Plešném jezeře je tento trend jasně viditelný. Důvod je ten, že v těchto poměrně hlubokých jezerech se vody z epilimnia a hypolimnia v době letní stratifikace nepromíchávají. U dna tak působením mikroorganismů vznikají anoxické podmínky. Železo a hliník se postupně uvolňují ze sedimentů a jejich koncentrace v hloubce je vyšší než u hladiny. Získané hodnoty kovů tak odpovídají podmínkám na závěr léta. U jezer, kde ke stratifikaci nedochází, závisí

koncentrace kovů a fosforu na jejich obsahu v přítocích, na průtočnosti jezera, biochemických a fotochemických reakcích. (vanLoon & Duffy, 2011, Pitter, 1999)

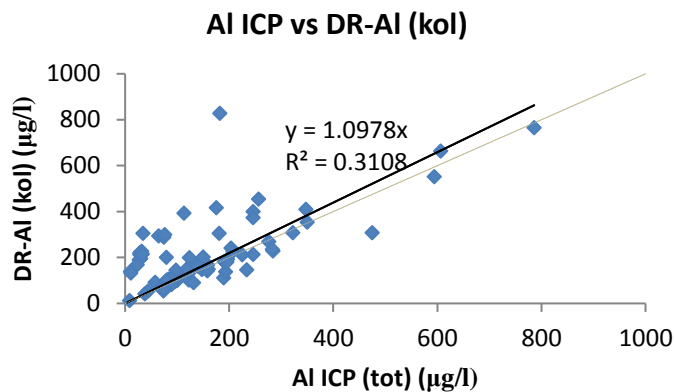
Naměřené koncentrace železa, hliníku a fosforu ve všech vzorcích jsou uvedeny v příloze v Tabulkách P 3, P 6, P 9, P 12, P 15, P 18, P 21 a P 24.

IV.4 Srovnání analytických metod

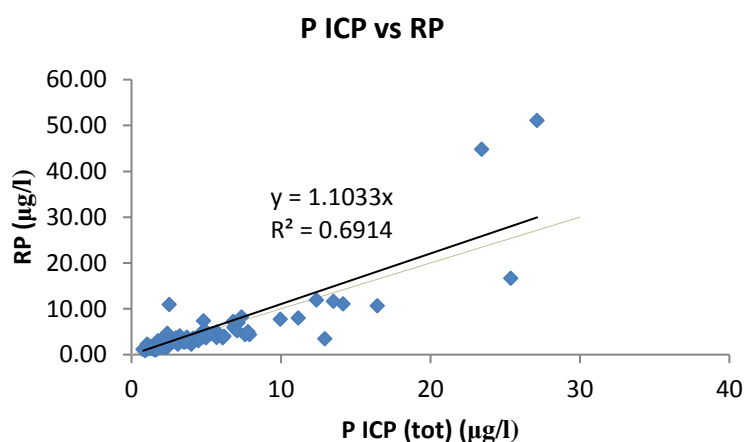
Naměřené koncentrace železa, hliníku a fosforu získané kombinací SEC a ICP/MS odpovídaly hodnotám koncentrací získaným pomocí kolorimetrických metod. Nejlépe souhlasily hodnoty pro obsah železa (Obrázek 10). Hodnoty pro hliník byly více rozptýlené (Obrázek 11). Hodnoty fosforu se liší hlavně pro vyšší hodnoty (Obrázek 12).



Obrázek 10: Porovnání obsahu železa naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (rozpuštěné železo). Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0]. Šedá linka představuje vztah 1:1.



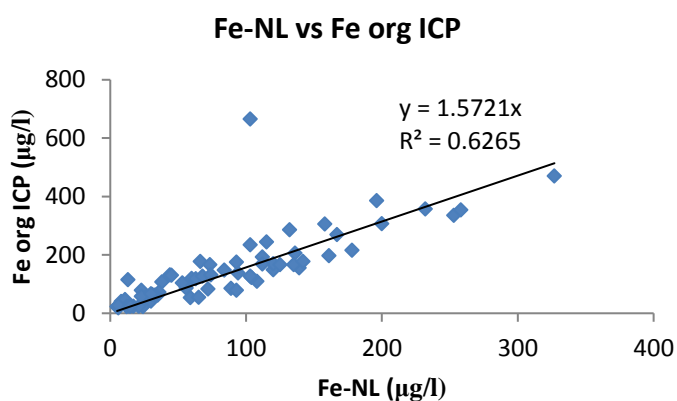
Obrázek 11: Porovnání obsahu hliníku naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (rozpuštěný reaktivní hliník). Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0]. Šedá linka představuje vztah 1:1.



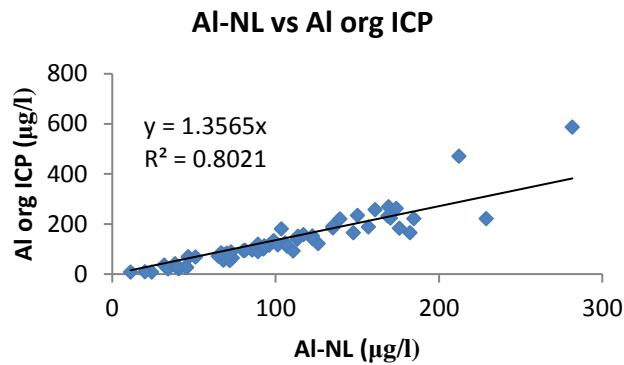
Obrázek 12: Porovnání obsahu fosforu naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (rozpuštěný fosfor). Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0]. Šedá linka představuje vztah 1:1.

Kombinace ICP/MS s SEC chromatografií umožnila sledovat distribuci jednotlivých kovů v závislosti na rozdělení látek podle molekulové hmotnosti (Obrázky 13 a 14). Výsledky získané pro koncentraci nelabilního železa a hliníku (kolorimetrické

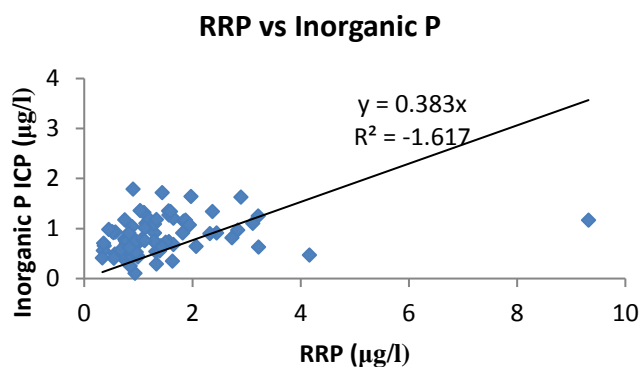
stanovení bez forem zachycených katexem) odpovídají hodnotám předpokládaných organických forem získaných z SEC a ICP/MS. Důvodem přibližně 50% rozdílu hodnot je, že při průchodu vzorku katexem jsou zachyceny kladně nabitě formy, mezi které mohou patřit i organické formy. Dalším důvodem může být to, že na ICP/MS je hranice mezi anorganickými a organickými formami určena arbitrárně na základě separačních vlastností SEC kolony. Hodnoty získané pomocí ICP/MS pro určení organicky vázaných kovů jsou pravděpodobně přesnější, protože výsledky obecně dosahují vyšších hodnot, než metody kolorimetrické (na katexu jsou zachyceny i kladně nabitě organicky vázané formy kovů).



Obrázek 13: Porovnání obsahu předpokládaného organického železa naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (nelabilní železo) bez forem zachycených na katexu. Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0].



Obrázek 14: Porovnání obsahu předpokládaného hliníku naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (nelabilní hliník) bez forem zachycených na katexu. Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0].



Obrázek 15: Porovnání obsahu předpokládaného anorganického fosforu naměřeného na ICP/MS v kombinaci s SEC s hodnotami naměřeným kolorimetricky (rozpuštěný reaktivní fosfor). Počet vzorků, $n=73$. Lineární spojnice trendu (černá barva) s rovnicí a hodnotou R^2 . Počátek spojnice trendu [0;0].

Při porovnávání hodnot z ICP/MS s jinými metodami se nejvíce lišily koncentrace anorganického fosforu a rozpuštěného reaktivního fosforu (orthofosforčenaný) (Obrázek 15). Důvodem je, že hranice anorganického fosforu získaného z ICP/MS je určená arbitrárně.

Hodnoty koncentrace kovů a fosforu naměřené na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem ve vzorcích odpovídají hodnotám naměřeným pomocí kolorimetrických metod. Výsledky pro celkové železo, hliník a fosfor naměřené na ICP / MS souhlasí s výsledky pro rozpuštěné železo, hliník a rozpuštěný fosfor. Stejně i předpokládané organicky vázané železo a hliník odpovídá koncentracím kovů naměřeným po průchodu vzorku katexem (tj. bez kladně nabitých forem). Uměle určené hranice anorganického fosforu získaná z ICP / MS je důvodem výsledků odlišných od hodnot RRP v některých vzorcích. Kombinace obou analytických metod, ICP/MS a size-exclusion chromatografie, je použitelná a vhodná pro popsání distribuce organických látek a současného měření koncentrace vybraných kovů a fosforu a zjištění jejich formy (organicky či anorganicky vázané).

V Závěr

Z dat naměřených na size-exclusion chromatografu lze říci, že ve většině jezer molekulová hmotnost organických látek roste s hloubkou. Důvodem jsou fotochemické reakce u hladiny a přítomnost mikroorganismů, které organické látky degradují a zároveň uvolňují metabolity. Do větších hloubek už světlo nedopadá a vlivem anoxických podmínek se také liší složení mikroorganismů, vysokomolekulární látky sedimentují, a proto je jejich koncentrace u dna vyšší než u hladiny. Získaná data a zjištěné trendy odpovídají údajům uváděným v literatuře (Reche et al, 1999, Wershaw, 2004).

Podle údajů získaných měřeními na size-exclusion chromatografu a jejich následnou kombinací s údaji získanými na ICP hmotnostním spektrometru se podařilo potvrdit, že značná část hliníku a železa a významný podíl fosforu, které jsou rozpuštěné ve vodě, jsou vázány na organické látky, a to především ve vysokomolekulární části. Na uvolňování kovů ze sedimentů se do značné míry podílí anoxické prostředí u dna některých šumavských jezer, které vzniká v důsledku letní stratifikace. Naměřené hodnoty koncentrací Al, Fe a P těmto podmínkám pozdního léta odpovídají.

Výsledky získané z ICP/MS odpovídají hodnotám naměřeným kolorimetricky. Kombinace ICP/MS se size-exclusion chromatografií je tedy vhodná pro popsání distribuce organických látek v profilu jezera a současného měření koncentrace vybraných kovů a fosforu a zjištění jejich formy, zda jsou organicky nebo anorganicky vázané, jak bylo prokázáno na 73 vzorcích. Metoda kombinace SEC s ICP/MS je tudíž porovnatelná s jinými běžně používanými metodami.

VI Literatura

- Aiken, G. R., D. M. McKnight, Wershaw, R. L., MacCarthy, P. (1985). Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Geochemistry, Isolation, and Characterization. New York: John Wiley & Sons.
- Backes, C. A., Tipping, E. (1987). Aluminium complexation by aquatic humic fraction under acidic conditions, *Water Resources* 22, 211
- Bertilsson, S. & Jones, J. B. (2003). 'Supply of dissolved organic matter to aquatic ecosystems: Autochthonous sources', Academic Press, Amsterdam, Netherlands
- Brezonik, P. L., & Arnold, W. A. (2011). Water Chemistry. Oxford: Oxford University Press.
- Essington, M. E. (2004). Soil and Water Chemistry An Integrative Approach. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.
- Edzwald, J. K., Becker, W. C., Wattier K. L. (1985). Surrogate parameters for monitoring organic matter and THM precursors. *Journal of American Water Works Association* 77 (4):122–32.
- Findlay, S. E., & Sinsabaugh, R. L. (2003). Aquatic Ecosystems Interactivity of Dissolved Organic Matter. San Diego: Academic Press.
- Fram, M. S., Fujii, R., Weishaar, J. L. Bergamaschi, B. A., Aiken, G. (1999). How DOC composition May Explain the Poor Correlation Between Specific trihalomethane Formation Potential and Specific UV Absorbance; *Water-resources Investigations Report*. 99-4018B; Charleston, SC, 422–430.
- Gran, G. (1950): Determination of the equivalence point in potentiometric titrations, *Acta Chemica Scandinavica*, 4, 559–577.
- Hautala, K., Peuravuori, J. & Pihlaja, K. (2000). 'Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analysis', *Water Reseach*, 34(1), 246–258.

- Hejzlar J., Nedoma J. a Kopáček J. (1994) Formy fosforu v procesu eutrofizace údolních nádrží. Sborník: *Aktuální otázky vodárenské biologie*, Praha: ČVTVS MŽP ČR, str. 29
- Horáková a kol. (2003). *Analytika vody*. Praha: VŠCHT Praha.
- Jarvis K. E., Gray A. L., Houk R. S. (1992) *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Blackie Academic and Professional Chapman & Hall, London and New York
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Stuchlík, E., Fott, J. & Veselý, J. (1998a). Reversibility of acidification of mountain lake after reduction in nitrogen and sulphur emissions in Central Europe. *Limnology and Oceanography*, 43: 357–361
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Borovec, J., Porcal, P., Kotorová, I. (2000) Phosphorus inactivation by aluminum in the water column and sediments: Lowering of in-lake phosphorus availability in an acidified watershed-lake ecosystem. *Limnology and Oceanography*, 45: 212–225
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P. (2001a). Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: I. Čertovo Lake *Silva Gabreta*, 6:35–52
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P., Pšenáková, P., Vrba, J. (2001b). Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: II. Černé Lake. *Silva Gabreta*, 6:53–72
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Kaňa, J., Porcal, P. (2001c). Element budgets in three Bohemian Forest lakes and their watersheds in the 2000 hydrological year: III. Plešné Lake. *Silva Gabreta*, 6:73–86
- Kopáček J., Hejzlar J., Kaňa J., Porcal P., (2001): Faktory ovlivňující chemismus šumavských jezer. In: *Konference Aktuality šumavského výzkumu*, (63–66)
- Lellák, J., Kubíček, F. (1991). *Hydrobiologie*. Praha: UK Praha.
- Leenheer, J. A., Croué, J. P. (2003). *Characterizing Dissolved Aquatic Organic Matter*.

Environmental Science and Technology, 37: 18–26.

Morgan, J. J. (1967). Chemical Equilibria and Kinetic Properties of Manganese in Natural Waters, In: Faust, S. D., Hunter, J. V. (Edits): Principles and Applications of Water Chemistry. New York: Wiley & Sons, Inc

Murphy, J., Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 30.

Pace, M. L. & Cole, J. J. (2002). Synchronous variation of dissolved organic carbon in lakes, *Limnology and Oceanography*, 47(2), 333–342.

Peuravuori, J., Pihlaja, K. (1997). Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances, *Analytica Chimica Acta* 337 133–149

Pitter, P. (1999). Hydrochemie. Praha: Vydavatelství VŠCHT.

Podzimek, S. (2011). Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc

Porcal, P., Amirbahman, A., Kopáček, J., Novák, F., Norton, S. A. (2009) Photochemical release of humic and fulvic acid-bound metals from simulated soil and stream water. *Journal of Environmental Monitoring*, 11:1064–1071

Reddy, K. R., R. H. Kadlec, E. Flaig, and P. M. Gale. (1999). Phosphorus retention in streams and wetlands: a review *Critical Review of Environmental Science Technology* 29:83–146.

Reche, I., Pace, M. L. & Cole, J. J. (1999). Relationship of trophic and chemical conditions to photobleaching of dissolved organic matter in lake ecosystems, *Biogeochemistry*, 44, 259–280.

Reiber, S., Kukull, W., Standish-Lee, P. (1995), Drinking Water Aluminium and Bioavailability, *Journal of American Water Works Association* 88: 86

Sharpley, A. N. (1993), An innovative approach to estimate bioavailable orthophosphate in agricultural runoff using iron oxide-impregnated paper. *Journal of*

- Silverstein, R. M., Bessler, G. C., Morrill, T. C. (1991). Spectrometric identification of organic compounds (Fifth Edition). New York: John Wiley & Sons, Inc
- Stevenson, F. J. (1982). Humus Chemistry. New York: John Wiley & Sons, Inc
- Striegel, A. M., Yau, W. W., Kirkland, J. J., Bly, D. D. (2009). Modern Size-Exclusion Liquid Chromatography, 2nd edition. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc
- Strober, Q. J., R. D. Jones, and D. J. Scheidt. (1995). Ultra-trace level mercury in the place Everglades ecosystem: a multi media canal pilot study. *Water Air Soil Pollution* 80:991-1001.
- Stumm, W. and Morgan, J. J. (1996): Aquatic chemistry, 3rd Ed.; John Wiley & Sons, New York.
- Šantrůčková, H., Vrba, J. (2010). Co vyprávějí šumavské smrčiny. Správa NP a CHKO Šumava
- Šobr, M., Jánský, B. (2016). The morphometric parameters of glacial lakes in the Bohemian Forest, *Silva Gabreta* 22
- Traina, S. J., Novak, J., Smeck, N. E., (1990). An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids: *Journal of Environmental Quality*, 19, 151–153.
- VanLoon, G. W., Duffy, S. J. (2011). Environmental chemistry a global perspective, 3rd editio; Oxford University Press, New York
- Vrba, J., Kopáček, J., Fott, J. (6/2002). Šumavská ledovcová jezera na přelomu tisíciletí. *Živa*, 265–269
- Wershaw, R. L. (2004). Natural Organic Matter (Humus) From a Consideration of the Chemical and Biochemical Processes of Humification, *Scientific Investigations Report* 2004–5121
- Wetzel, R. G. (1983). Limnology, 2"d Edition. Philadelphia: Saunders College Publishing

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 and Technology* 37, 4702–4708

Wolf, R. E. (2005) What is ICP-MS? USGS Crustal Geophysics and Geochemistry Science Center, USA

Wozniak, B., Dera, J. (2007) Light Absorption in Sea Water, Springer: USA

Wrobel, K., Sadi, B. B. M., Wrobel, K., Castillo, J. R., and Caruso, J. A. (2003) Effect of metal ions on the molecular weight distribution of humic substances derived from municipal compost: ultrafiltration and size exclusion chromatography with spectrophotometric and inductively coupled plasma – MS detection, *Analytical Chemistry*, **75**, 761

Zýka V.(1982): Geochemie pitných vod ČSR. — Slovník geologických věd, 18, UUG Praha

Zdroje obrázků

Obrázek 1:

<http://www.shimadzu.com/an/hplc/support/lib/lctalk/55/55intro.html>

Obrázek 2:

http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/AES/ICP-OES.pdf

Obrázek 3:

<http://crustal.usgs.gov/laboratories/icpms/intro.html>

Obrázek 4:

<http://crustal.usgs.gov/laboratories/icpms/intro.html>

Obrázek 5:

<http://www.shimadzu.com/an/hplc/support/lib/lctalk/55/55intro.html>

Obrázek P2:

osobní komunikace s prof. RNDr. Jaroslavem Vrbou CSc.

VII Přílohy

VII.1 Seznam obrázků v přílohách

Obrázek P1: Kalibrační křivka SEC, polyethylenglykolové standardy, křivka prochází dextranem (nezobrazeno).

Obrázek P2: Batymetrické mapy šumavských jezer: Prášílské jezero, Plešné jezero, Čertovo jezero, Roklanské jezero, Velké Javorské jezero, Malé Javorské jezero, jezero Černé a jezero Laka. U jezer jsou vyznačeny přítoky a výtoky.

VII.2 Seznam tabulek v přílohách

Jezero Laka

Tabulka P1: Chemické parametry ve vzorcích z jezera Laka a jeho přítoků.

Tabulka P2: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro jezero Laka a jeho přítoky.

Tabulka P3: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z jezera Laka a jeho přítoků.

Prášilské jezero

Tabulka P4: Chemické parametry ve vzorcích z Prášilského jezera a jeho přítoků.

Tabulka P5: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Prášilské jezero a jeho přítoky.

Tabulka P6: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Prášilského jezera a jeho přítoků.

Velké Javorské jezero

Tabulka P7: Chemické parametry ve vzorcích z Velkého Javorského jezera a jeho přítoků.

Tabulka P8: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Velké Javorské jezero a jeho přítoky.

Tabulka P9: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Velkého Javorského jezera a jeho přítoků.

Malé Javorské jezero

Tabulka P10: Chemické parametry ve vzorcích z Malého Javorského jezera a jeho přítoků.

Tabulka P11: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Malé Javorské jezero a jeho přítoky.

Tabulka P12: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Malého Javorského jezera a jeho přítoků.

Roklanské jezero

Tabulka P13: Chemické parametry ve vzorcích z Roklanského jezera a jeho přítoků.

Tabulka P14: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Roklanské jezero a jeho přítoky.

Tabulka P15: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Roklanského jezera a jeho přítoků.

Černé jezero

Tabulka P16: Chemické parametry ve vzorcích z Černého jezera a jeho přítoků.

Tabulka P17: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro jezero Černé jezero a jeho přítoky.

Tabulka P18: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Černého jezera a jeho přítoků.

Čertovo jezero

Tabulka P19: Chemické parametry ve vzorcích z Čertova jezera a jeho přítoků.

Tabulka P20: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Čertovo jezero a jeho přítoky.

Tabulka P21: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Čertova jezera a jeho přítoků.

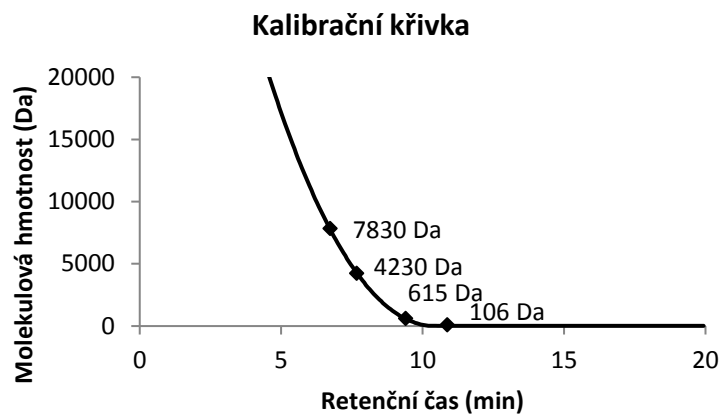
Plešné jezero

Tabulka P22: Chemické parametry ve vzorcích z Plešného jezera a jeho přítoků.

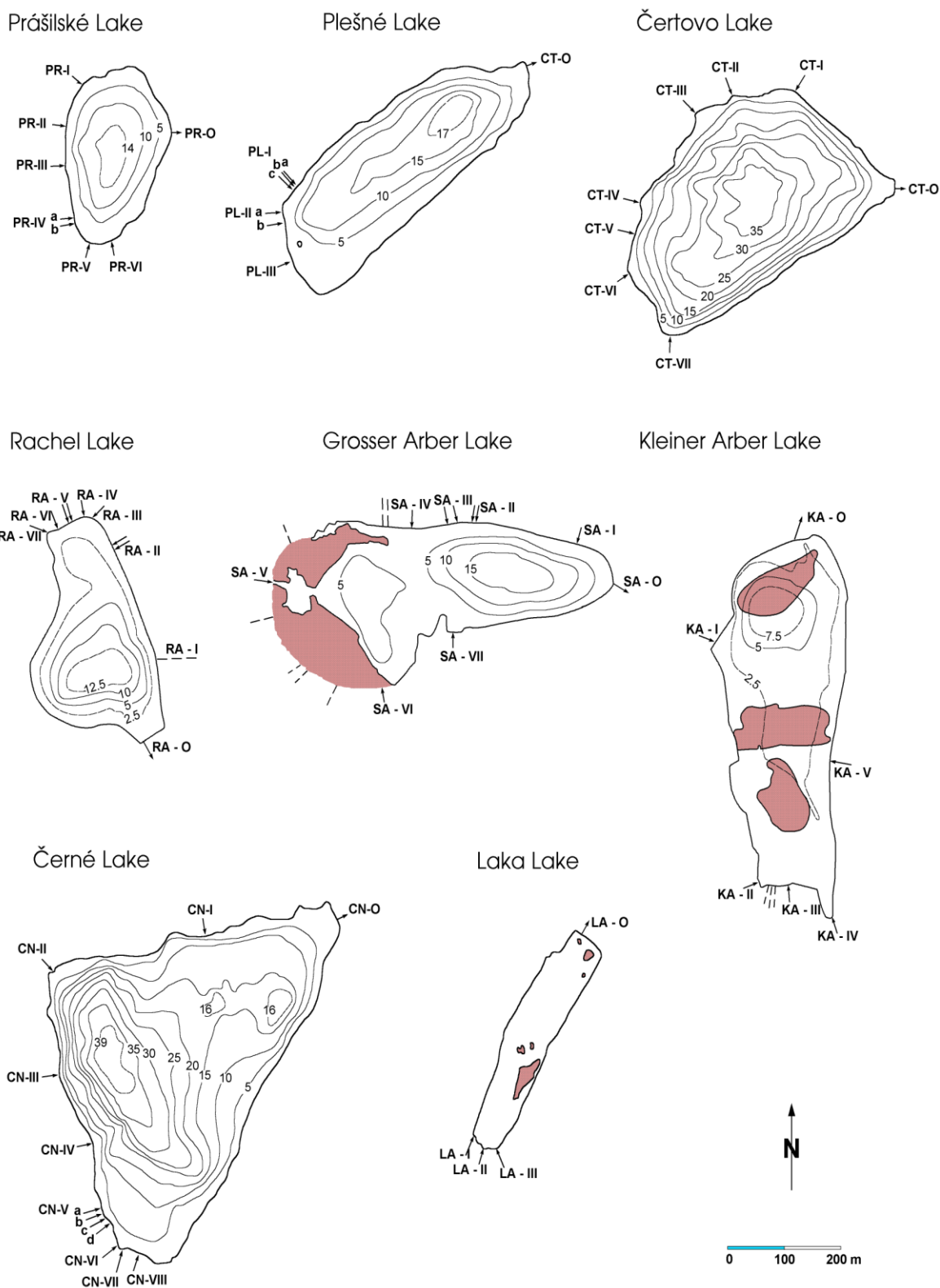
Tabulka P23: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Plešné jezero a jeho přítoky.

Tabulka P24: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Plešného jezera a jeho přítoků.

Tabulka P25: Nastavení ICP / MS spektrofotometru



Obrázek P1: Kalibrační křivka SEC, polyethylenglykolové standardy, křivka prochází dextranem (nezobrazeno).



Obrázek P2: Batymetrické mapy šumavských jezer: Prášílské jezero, Plešné jezero, Čertovo jezero, Roklanské jezero, Velké Javorské jezero, Malé Javorské jezero, jezero Černé a jezero Laka. U jezer jsou vyznačeny přítoky a výtoky.

Jezero Laka

Tabulka P1: Chemické parametry ve vzorcích z jezera Laka a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
LA-VY	6,14	18,9	78	0,54	0,56	0,99		0,02	1,30	0,05	0,50	1,19	0,56
LA-HL	6,62	19,0	86	0,63	0,45	0,93		0,02	1,38	0,02	0,57	1,30	0,58
LA-dno	6,31	18,9	88	0,59	0,52	0,93		0,03	1,35	0,01	0,56	1,28	0,60
LA-I	5,66	17,8	33	0,52	0,89	0,95		0,04	1,31	0,01	0,45	1,12	0,44
LA-II	5,89	21,6	53	0,57	0,99	1,53		0,04	1,41	0,01	0,59	1,20	0,60
LA-III	6,35	24,4	61	0,58	1,43	1,20	0,00	0,02	1,42	0,01	0,60	1,55	0,74

Tabulka P2: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro jezero Laka a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
LA-VY	160	7319	29	26	45	4,23	4,6
LA-HL	159	7437	31	24	45	4,64	4,1
LA-DNO	158	8322	38	21	41	4,19	4,5
LA-I	270	9722	49	25	26	6,45	6,0
LA-II	138	7966	38	21	41	3,14	5,4
LA-III	88	4589	21	10	69	1,43	5,1

Tabulka P3: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z jezera Laka a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS	Kolor.
						(μg/l)	(μg/l)
LA-VY	Al	66%	21%	8%	5%	58	92
	P	75%	10%	5%	10%	7	5,88
	Fe	63%	17%	10%	10%	122	110
LA-HL	Al	73%	17%	6%	4%	74	86
	P	77%	5%	2%	16%	7	7,21
	Fe	67%	16%	9%	8%	161	124
LA-DNO	Al	71%	19%	6%	4%	88	94
	P	74%	6%	2%	18%	7	6,97
	Fe	71%	15%	7%	7%	231	179
LA-I	Al	54%	35%	7%	4%	197	192
	P	71%	16%	3%	10%	12	11,86
	Fe	57%	26%	8%	9%	298	169
LA-II	Al	51%	35%	8%	6%	94	106
	P	67%	10%	3%	20%	5	7,33
	Fe	45%	29%	11%	15%	140	63
LA-III	Al	55%	33%	7%	5%	44	54
	P	71%	7%	7%	15%	2	4,60
	Fe	38%	26%	10%	26%	84	40

Prášilské jezero

Tabulka P4: Chemické parametry ve vzorcích z Prášilského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
PR-VY	5,94	13,1	34	0,55	0,32	1,22		0,04	0,78	0,02	0,58	0,69	0,40
PR-HL	6,07	12,6	35	0,56	0,28	1,10		0,02	0,78	0,01	0,58	0,68	0,40
PR-Z-2	5,24	18,2	26	0,55	0,57	1,63	0,00	0,02	0,67	0,11	0,65	0,66	0,39
PR-Z-3	5,57	17,8	60	0,60	0,24	1,71		0,02	0,72	0,34	0,68	0,75	0,46
PR-Z-4	5,64	17,7	69	0,62	0,10	1,71		0,04	0,74	0,36	0,70	0,72	0,46
PR-dno	6,17	30,5	234	0,60	0,00	0,61		0,02	0,74	0,64	0,70	0,76	0,46
PR-I	5,82	12,9	33	0,44	0,32	1,62		0,01	1,07	0,01	0,21	0,64	0,27
PR-III	4,87	15,8	6	0,45	0,13	2,00		0,01	0,85	0,01	0,12	0,51	0,25
PR-V	5,20	15,9	15	0,70	0,55	1,09		0,01	1,03	0,01	0,42	0,64	0,42

Tabulka P5: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Prášilské jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
PR-VY	169	6319	25	30	45	4,70	4,5
PR-HL	178	6751	27	29	44	5,06	4,3
PR-Z-2	181	6914	29	32	39	4,73	4,9
PR-Z-3	214	7305	32	32	36	5,28	5,2
PR-Z-4	239	7301	32	31	37	5,15	5,3
PR-DNO	1477	13223	74	16	10	8,93	8,2
PR-I	113	5379	24	19	57	2,19	4,2
PR-III	260	7351	33	35	32	6,01	5,3
PR-V	272	8783	43	30	27	6,50	5,7

Tabulka P6: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Prášilského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS	Kolor.
						(µg/l)	(µg/l)
PR-VY	Al	61%	26%	8%	6%	147	148
	P	67%	7%	3%	24%	5	4,63
	Fe	68%	19%	8%	5%	145	109
PR-HL	Al	65%	23%	8%	4%	159	167
	P	69%	7%	3%	21%	6	4,89
	Fe	73%	15%	6%	4%	177	132
PR-Z-2	Al	44%	38%	11%	7%	131	176
	P	51%	11%	3%	35%	3	3,04
	Fe	57%	26%	10%	7%	222	187
PR-Z-3	Al	46%	36%	12%	6%	150	202
	P	45%	12%	6%	37%	5	4,11
	Fe	59%	26%	10%	5%	353	326
PR-Z-4	Al	48%	36%	11%	5%	140	162
	P	52%	12%	3%	33%	4	3,62
	Fe	61%	25%	10%	4%	368	347
PR-DNO	Al	80%	16%	3%	1%	594	552
	P	72%	10%	4%	14%	11	7,98
	Fe	86%	12%	1%	1%	4042	3537
PR-I	Al	41%	43%	10%	6%	83	106
	P	38%	11%	8%	43%	3	2,77
	Fe	45%	36%	12%	7%	124	14
PR-III	Al	32%	50%	13%	5%	234	146
	P	39%	22%	6%	33%	5	4,59
	Fe	37%	43%	14%	6%	258	135
PR-V	Al	44%	44%	8%	4%	246	214
	P	67%	18%	3%	12%	7	8,20
	Fe	55%	31%	8%	6%	379	250

Velké Javorské jezero

Tabulka P7: Chemické parametry ve vzorcích z Velkého Javorského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
GA-HL	6,43	14,4	55	0,41	0,04	2,07	0,00	0,02	0,84	0,00	0,18	1,02	0,46
GA-Z-2	5,95	16,0	39	0,46	0,35	2,22	0,00	0,02	0,74	0,00	0,28	1,08	0,47
GA-Z-3	5,77	18,0	50	0,50	0,38	2,22	0,00	0,01	0,76	0,16	0,32	1,09	0,46
GA-dno	5,87	20,5	98	0,50	0,08	2,31	0,00	0,02	0,80	0,40	0,34	1,36	0,53
GA-II	6,74	26,6	137	0,61	0,56	1,94	0,00	0,02	1,54	0,01	0,36	2,51	0,71
GA-III	6,61	22,5	102	0,66	0,41	1,93	0,00	0,02	1,20	0,01	0,50	2,23	0,57
GA-V	6,06	16,5	35	0,62	0,34	2,26	0,00	0,02	1,12	0,01	0,31	0,95	0,41
GA-VI	6,41	19,7	57	0,58	0,55	2,24	0,00	0,02	1,24	0,00	0,30	1,00	0,65
GA-VII	6,94	31,1	174	0,46	0,50	2,80	0,00	0,04	1,59	0,01	0,48	2,75	0,77

Tabulka P8: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Velké Javorské jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
GA-HL	415	6707	26	31	43	3,77	3,7
GA-Z-2	136	5130	20	29	51	3,22	4,0
GA-Z-3	135	4978	19	30	51	3,20	3,9
GA-DNO	422	5848	23	36	41	3,07	3,7
GA-II	149	7124	34	22	44	2,82	5,1
GA-III	255	8529	42	29	29	5,83	5,5
GA-V	177	6872	31	29	40	4,27	4,6
GA-VI	132	6101	28	23	49	2,68	4,6
GA-VII	67	1598	5	5	90	0,71	3,5

Tabulka P9: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Velkého Javorského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS	Kolor.
						(µg/l)	(µg/l)
GA-HL	Al	70%	19%	8%	3%	96	96
	P	65%	6%	6%	23%	6	3,75
	Fe	71%	18%	9%	2%	201	165
GA-Z-2	Al	39%	44%	11%	6%	123	132
	P	46%	10%	6%	38%	2	1,56
	Fe	46%	36%	11%	7%	126	68
GA-Z-3	Al	35%	47%	12%	6%	103	120
	P	38%	14%	10%	38%	2	1,60
	Fe	39%	40%	13%	8%	105	58
GA-DNO	Al	33%	48%	14%	5%	71	75
	P	32%	14%	15%	39%	3	3,66
	Fe	35%	44%	17%	4%	90	81
GA-II	Al	47%	38%	9%	6%	74	55
	P	61%	16%	5%	18%	5	5,16
	Fe	46%	34%	11%	9%	144	55
GA-III	Al	48%	38%	9%	5%	190	111
	P	67%	19%	3%	11%	10	7,72
	Fe	51%	32%	11%	6%	326	172
GA-V	Al	43%	42%	10%	5%	158	141
	P	52%	22%	5%	21%	8	4,32
	Fe	50%	33%	11%	6%	205	122
GA-VI	Al	46%	40%	9%	5%	100	100
	P	61%	13%	5%	21%	3	3,32
	Fe	42%	36%	12%	10%	119	43
GA-VII	Al	34%	31%	21%	14%	9	12
	P	35%	10%	9%	46%	3	10,94
	Fe	21%	45%	19%	15%	48	27

Malé Javorské jezero

Tabulka P10: Chemické parametry ve vzorcích z Malého Javorského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
KA-HL	6,29	13,9	38	0,52	0,08	2,25	0,00	0,02	0,85	0,03	0,22	0,80	0,31
KA-Z-2	5,71	14,8	30	0,51	0,14	2,25	0,00	0,02	0,71	0,10	0,21	0,78	0,32
KA-Z-3	5,62	16,8	32	0,56	0,27	2,52	0,00	0,02	0,68	0,18	0,24	0,94	0,32
KA-dno	5,63	17,2	54	0,55	0,05	2,45	0,00	0,02	0,68	0,29	0,24	0,86	0,33
KA-II	5,58	16,7	11	0,59	0,41	2,76	0,00	0,01	1,06	0,01	0,21	0,76	0,43
KA-III	5,92	14,4	18	0,67	0,44	1,79	0,00	0,01	0,97	0,00	0,24	0,63	0,32
KA-IV	5,81	15,9	22	0,71	0,15	2,86	0,00	0,02	1,11	0,01	0,22	0,85	0,34
KA-V	6,41	25,3	70	0,71	0,39	4,34	0,00	0,02	1,32	0,02	0,31	2,58	0,59

Tabulka P11: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Malé Javorské jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
KA-HL	181	6543	27	25	48	4,24	3,7
KA-Z-2	218	7776	35	28	37	5,61	4,1
KA-Z-3	129	4921	20	27	53	3,20	4,0
KA-DNO	301	5646	23	30	47	3,07	4,3
KA-II	162	6850	32	26	42	3,57	4,9
KA-III	121	5841	27	22	51	2,36	4,3
KA-IV	194	6591	29	32	39	5,01	4,5
Ka-V	123	5235	22	18	60	2,96	4,8

Tabulka P12: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Malého Javorského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS	Kolor.
						(µg/l)	(µg/l)
KA-HL	Al	74%	16%	7%	3%	122	102
	P	68%	11%	5%	16%	8	4,33
	Fe	78%	14%	6%	2%	312	216
KA-Z-2	Al	57%	32%	8%	3%	190	181
	P	66%	11%	4%	19%	6	3,64
	Fe	74%	19%	5%	2%	480	359
KA-Z-3	Al	34%	46%	14%	6%	95	123
	P	32%	13%	8%	47%	2	1,73
	Fe	42%	38%	14%	6%	135	79
KA-DNO	Al	36%	46%	13%	5%	80	102
	P	30%	10%	9%	51%	2	3,03
	Fe	46%	37%	13%	4%	127	150
KA-II	Al	40%	43%	12%	5%	131	91
	P	53%	22%	6%	19%	3	2,97
	Fe	40%	38%	14%	8%	141	46
KA-III	Al	40%	47%	9%	6%	89	82
	P	51%	14%	4%	31%	2	2,40
	Fe	39%	38%	13%	10%	87	24
KA-IV	Al	35%	43%	17%	5%	193	138
	P	47%	24%	8%	21%	5	3,63
	Fe	41%	36%	17%	6%	186	102
Ka-V	Al	36%	29%	26%	9%	74	64
	P	47%	20%	14%	19%	7	5,19
	Fe	36%	29%	26%	9%	162	86

Roklanské jezero

Tabulka P13: Chemické parametry ve vzorcích z Roklanského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
RA-HL	5,89	10,5	18	0,32	0,00	2,06	0,00	0,01	0,55	0,00	0,23	0,50	0,29
RA-Z-2	5,63	11,6	13	0,33	0,20	2,14	0,00	0,01	0,53	0,00	0,25	0,55	0,30
RA-Z-3	5,42	15,1	31	0,35	0,19	2,28	0,00	0,01	0,61	0,16	0,28	0,64	0,34
RA-Z-4	5,68	17,7	83	0,35	0,01	2,10	0,00	0,09	0,72	0,31	0,35	0,92	0,45
RA-dno	5,95	27,6	211	0,37	0,00	0,85	0,00	0,00	0,70	0,88	0,37	1,29	0,48
RA-II	5,01	18,8	3	0,51	0,09	3,50	0,00	0,00	0,96	0,01	0,18	0,83	0,42
RA-V	4,75	21,6	-10	0,52	0,16	3,75	0,00	0,01	0,86	0,01	0,27	0,66	0,45
RA-VII	4,52	26,2	-22	0,74	0,25	3,62	0,00	0,01	0,80	0,01	0,22	0,65	0,37

Tabulka P14: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Roklanské jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
RA-HL	433	5183	17	39	44	5,31	1,8
RA-Z-2	160	5000	19	33	48	4,27	3,2
RA-Z-3	157	5050	19	34	47	4,33	3,5
RA-Z-4	1016	9294	43	36	21	4,68	4,5
RA-dno	1163	13162	69	21	10	6,21	5,9
RA-II	289	6804	30	33	37	7,58	4,3
RA-V	225	5532	21	34	45	7,24	3,8
RA-VII	205	5199	19	38	43	7,22	3,8

Tabulka P15: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Roklanského jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS (µg/l)	Kolor. (µg/l)
RA-HL	Al	34%	44%	17%	5%	38	42
	P	54%	7%	12%	27%	4	2,85
	Fe	36%	42%	19%	3%	48	17
RA-Z-2	Al	28%	53%	14%	5%	124	137
	P	46%	10%	8%	36%	2	1,66
	Fe	29%	49%	17%	5%	62	30
RA-Z-3	Al	27%	51%	16%	6%	118	149
	P	34%	18%	10%	38%	3	3,04
	Fe	33%	46%	15%	6%	110	83
RA-Z-4	Al	59%	32%	7%	2%	225	211
	P	44%	13%	11%	32%	3	2,26
	Fe	73%	22%	4%	1%	674	633
RA-dno	Al	80%	17%	2%	1%	475	308
	P	79%	9%	2%	10%	13	3,44
	Fe	88%	10%	1%	1%	2489	2014
RA-II	Al	28%	41%	25%	6%	284	229
	P	37%	30%	16%	17%	8	5,01
	Fe	38%	36%	21%	5%	301	139
RA-V	Al	19%	41%	33%	7%	276	269
	P	37%	27%	15%	21%	5	4,42
	Fe	25%	40%	29%	6%	189	72
RA-VII	Al	16%	44%	33%	7%	283	236
	P	34%	26%	15%	25%	5	3,76
	Fe	19%	44%	29%	8%	180	89

Černé jezero

Tabulka P16: Chemické parametry ve vzorcích z Černého jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
CN-HL	5,18	18,6	4	0,53	0,79	2,65	0,00	0,06	0,80	0,04	0,52	0,76	0,45
CN-Z-1	5,14	18,6	1	0,54	0,79	2,65	0,00	0,05	0,73	0,04	0,52	0,76	0,45
CN-Z-2	5,06	19,3	0	0,53	0,82	2,59	0,00	0,05	0,73	0,01	0,52	0,78	0,46
CN-Z-3	5,00	20,1	3	0,54	0,80	2,66	0,00	0,06	0,73	0,05	0,52	0,73	0,45
CN-Z-4	5,12	19,5	7	0,53	0,76	2,66	0,00	0,05	0,72	0,08	0,52	0,74	0,45
CN-dno	5,20	19,2	11	0,54	0,73	2,66	0,00	0,05	0,73	0,11	0,53	0,73	0,46
CN-IV	4,01	81,4	-109	0,97	3,68	3,51	0,00	0,08	1,14	0,01	2,07	0,91	0,74
CN-V	4,27	43,8	-54	0,67	1,38	3,29	0,00	0,03	1,15	0,01	0,68	0,57	0,51
CN-VI	4,44	31,2	-32	0,50	0,71	3,65	0,00	0,03	0,80	0,00	0,32	0,47	0,37
CN-VII	4,49	32,5	-30	0,57	1,09	3,50	0,00	0,04	0,87	0,01	0,40	0,62	0,50
CN-VIII	4,80	28,4	-9	0,63	1,49	2,89	0,00	0,06	1,12	0,01	0,52	0,92	0,60

Tabulka P17: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Černé jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
CN-HL	62	632	0	7	93	1,38	1,5
CN-Z-1	60	603	0	7	93	1,33	1,7
CN-Z-2	74	1669	3	17	80	1,73	2,7
CN-Z-3	71	1255	1	16	83	1,58	3,0
CN-Z-4	72	1385	2	17	81	1,57	2,9
CN-dno	71	1379	2	16	82	1,49	3,0
CN-IV	172	3871	9	45	46	7,09	3,6
CN-V	208	4476	12	48	40	7,59	4,0
CN-VI	143	3649	10	39	51	4,45	3,7
CN-VII	106	3021	7	35	58	2,96	3,7
CN-VIII	60	779	0	12	88	1,13	3,4

Tabulka P18: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Černého jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS (µg/l)	Kolor. (µg/l)
CN-HL	Al	18%	40%	21%	21%	11	139
	P	36%	15%	10%	39%	1	1,28
	Fe	8%	47%	18%	27%	31	20
CN-Z-1	Al	18%	39%	22%	21%	11	132
	P	36%	8%	13%	43%	1	1,12
	Fe	8%	48%	19%	25%	24	21
CN-Z-2	Al	18%	48%	21%	15%	30	195
	P	36%	12%	9%	43%	1	1,84
	Fe	10%	46%	18%	26%	30	16
CN-Z-3	Al	11%	48%	25%	16%	28	220
	P	34%	12%	15%	39%	1	0,88
	Fe	7%	48%	20%	25%	30	22
CN-Z-4	Al	12%	51%	22%	15%	27	189
	P	31%	6%	15%	48%	1	1,13
	Fe	8%	49%	19%	24%	30	14
CN-dno	Al	13%	50%	23%	14%	23	169
	P	35%	13%	12%	40%	1	1,89
	Fe	9%	49%	20%	22%	30	31
CN-IV	Al	5%	39%	47%	9%	182	828
	P	17%	27%	46%	10%	1	2,26
	Fe	6%	39%	37%	18%	105	138
CN-V	Al	10%	44%	36%	10%	256	454
	P	27%	37%	22%	14%	2	3,14
	Fe	12%	42%	29%	17%	153	138
CN-VI	Al	9%	42%	39%	10%	176	417
	P	18%	33%	26%	23%	2	3,06
	Fe	10%	44%	32%	14%	97	65
CN-VII	Al	9%	43%	37%	11%	113	393
	P	19%	31%	23%	27%	2	1,78
	Fe	7%	43%	28%	22%	68	30
CN-VIII	Al	7%	53%	26%	14%	35	305
	P	25%	23%	19%	33%	1	1,16
	Fe	4%	43%	17%	36%	41	10

Čertovo jezero

Tabulka P19: Chemické parametry ve vzorcích z Čertova jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost	Alkalita	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NO ₂ ⁻	F ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
		μS/cm	μmol/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
CT-VY	4,87	17,1	-6	0,49	0,40	2,68	0,00	0,03	0,64	0,02	0,27	0,40	0,32
CT-VY	4,85	17,4	-5	0,50	0,41	2,66	0,00	0,03	0,64	0,02	0,28	0,39	0,32
CT-HL	4,87	17,2	-6	0,50	0,41	2,66	0,00	0,03	0,64	0,02	0,28	0,39	0,32
CT-Z-1	4,71	19,9	-8	0,50	0,47	2,58	0,00	0,04	0,61	0,01	0,29	0,36	0,31
CT-Z-2	4,77	19,9	-7	0,50	0,48	2,61	0,00	0,04	0,61	0,11	0,29	0,36	0,31
CT-Z-3	4,76	19,8	-7	0,51	0,48	2,63	0,00	0,05	0,62	0,11	0,32	0,37	0,31
CT-Z-4	5,00	17,3	5	0,51	0,29	2,70	0,00	0,04	0,61	0,23	0,30	0,36	0,33
CT-dno	5,27	19,8	28	0,52	0,03	2,66	0,00	0,04	0,61	0,49	0,32	0,36	0,36
CT-II	4,48	26,6	-30	0,61	0,26	3,54	0,00	0,03	0,98	0,01	0,19	0,28	0,32
CT-IV	4,18	42,0	-63	0,53	0,44	4,78	0,00	0,04	0,94	0,01	0,20	0,29	0,35
CT-V	4,26	37,0	-53	0,38	0,11	5,81	0,00	0,04	0,97	0,00	0,19	0,28	0,41
CT-VI	4,75	23,2	-10	0,72	0,46	3,79	0,00	0,03	1,36	0,00	0,25	0,42	0,47
CT-VII	4,83	18,7	-4	0,75	0,27	2,66	0,00	0,02	1,19	0,01	0,32	0,34	0,30

Tabulka P20: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Čertovo jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n	M_w	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	DOC	SUVA
	(Da)	(Da)	%	%	%	(mg·l ⁻¹)	(l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
CT-VY	71	1124	1	15	84	2,58	2,0
CT-VY-2	79	1815	3	19	78	2,60	2,3
CT-HL	79	1928	3	22	75	2,69	2,3
CT-Z-1	109	2931	6	33	61	3,26	3,5
CT-Z-2	112	3102	7	34	59	3,35	3,9
CT-Z-3	111	3101	7	34	59	3,42	3,8
CT-Z-4	112	3403	9	32	59	3,22	3,7
CT-dno	359	5710	20	40	40	4,14	4,8
CT-II	172	4480	13	42	45	5,64	4,3
CT-IV	194	3773	10	31	59	7,73	4,1
CT-V	194	3247	8	25	67	6,99	3,9
CT-VI	115	3480	10	33	57	3,10	3,8
CT-VII	175	5731	21	40	39	4,67	4,5

Tabulka P21: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Čertova jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	∑ICP-MS	Kolor.
						(µg/l)	(µg/l)
CT-VY	Al	15%	37%	28%	20%	28	213
	P	39%	10%	11%	40%	2	1,02
	Fe	15%	49%	22%	14%	28	29
CT-VY-2	Al	15%	40%	26%	19%	32	227
	P	40%	12%	11%	37%	2	1,04
	Fe	16%	49%	21%	14%	28	82
CT-HL	Al	12%	41%	28%	19%	33	215
	P	32%	27%	12%	29%	1	1,40
	Fe	16%	50%	21%	13%	28	32
CT-Z-1	Al	9%	49%	27%	15%	65	294
	P	30%	16%	10%	44%	2	1,09
	Fe	13%	51%	22%	14%	47	48
CT-Z-2	Al	11%	49%	27%	13%	74	289
	P	30%	20%	15%	35%	1	1,62
	Fe	19%	49%	20%	12%	61	91
CT-Z-3	Al	11%	51%	26%	12%	76	299
	P	32%	17%	17%	34%	1	1,72
	Fe	19%	49%	20%	12%	62	102
CT-Z-4	Al	17%	48%	25%	10%	79	201
	P	33%	18%	13%	36%	2	1,91
	Fe	32%	43%	18%	7%	84	117
CT-dno	Al	31%	44%	20%	5%	98	145
	P	38%	21%	10%	31%	2	3,26
	Fe	49%	34%	13%	4%	206	595
CT-II	Al	12%	44%	35%	9%	181	305
	P	24%	38%	20%	18%	3	4,10
	Fe	20%	45%	27%	8%	168	215
CT-IV	Al	8%	35%	47%	10%	246	399
	P	14%	32%	35%	19%	4	3,80
	Fe	10%	37%	42%	11%	187	168
CT-V	Al	7%	31%	53%	9%	246	374
	P	11%	29%	41%	19%	4	2,63
	Fe	9%	35%	48%	8%	192	191
CT-VI	Al	14%	45%	32%	9%	124	199
	P	28%	26%	19%	27%	2	2,04
	Fe	15%	48%	28%	9%	80	39
CT-VII	Al	23%	53%	18%	6%	204	241
	P	38%	38%	9%	15%	5	3,98
	Fe	31%	47%	16%	6%	177	166

Plešné jezero

Tabulka P22: Chemické parametry ve vzorcích z Plešného jezera a jeho přítoků.

Vzorek	pH	Vodivost μS/cm	Alkalita μmol/l	Cl ⁻ mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	SO ₄ ²⁻ mg/l	NO ₂ ⁻ mg/l	F ⁻ mg/l	Na ⁺ mg/l	NH ₄ ⁺ mg/l	K ⁺ mg/l	Ca ²⁺ mg/l	Mg ²⁺ mg/l
PL-VY	5,85	14,7	28	0,37	0,09	2,30	0,00	0,09	0,93	0,02	0,70	0,81	0,23
PL-VY	5,86	14,4	27	0,38	0,12	2,29	0,00	0,09	0,93	0,00	0,73	0,81	0,24
PL-HL	5,90	14,4	28	0,38	0,13	2,32	0,00	0,09	0,93	0,00	0,72	0,80	0,24
PL-Z-2	5,66	14,7	25	0,37	0,18	2,25	0,00	0,09	0,92	0,00	0,72	0,76	0,24
PL-Z-3	5,36	19,4	22	0,41	0,57	2,46	0,00	0,10	0,93	0,19	0,82	0,74	0,26
PL-Z-4	5,80	19,6	71	0,42	0,05	2,43	0,00	0,12	0,95	0,57	0,88	0,73	0,27
PL-dno	5,86	22,8	108	0,41	0,00	2,34	0,00	0,10	0,93	0,69	0,88	1,03	0,28
PL-I	4,38	33,1	-41	0,38	0,51	3,02	0,00	0,07	1,45	0,01	0,62	0,47	0,15
PL-II	4,35	36,6	-41	0,28	0,96	3,18	0,00	0,07	1,28	0,01	0,53	0,80	0,16
PL-III	4,74	29,6	-9	0,36	1,52	3,09	0,00	0,14	1,12	0,01	0,68	1,23	0,26
PL-IV	4,84	32,9	-3	0,38	1,82	3,94	0,00	0,13	1,28	0,00	0,65	1,64	0,36

Tabulka P23: Průměrné molekulové hmotnosti (M_w a M_n), procentuální zastoupení organických frakcí, koncentrace DOC a hodnoty SUVA pro Plešné jezero a jeho přítoky.

Vzorek	M_n (Da)	M_w (Da)	>10 kDa %	10-2,5 kDa %	<2,5 kDa %	DOC (mg·l ⁻¹)	SUVA (l·mg ⁻¹ ·m ⁻¹)
PL-VY	404	4411	11	46	43	5,33	3,7
PL-VY-2	267	4704	13	45	42	5,52	3,8
PL-HL	254	4776	14	44	42	5,40	3,8
PL-Z-2	194	4835	14	43	43	5,47	4,0
PL-Z-3	216	5664	19	46	35	6,90	4,3
PL-Z-4	464	5878	21	47	32	7,14	4,1
PL-dno	869	6820	25	51	24	7,29	4,7
PL-I	401	5644	18	49	33	15,32	4,8
PL-II	298	5313	16	53	31	11,20	4,3
PL-III	105	2864	5	35	60	3,11	3,4
PL-IV	73	1052	0	18	82	1,75	3,0

Tabulka P24: Koncentrace rozpuštěného Al, Fe a P stanovené ICP/MS a kolorimetrickými metodami, zastoupení Al, Fe a P v jednotlivých organických a anorganických frakcích ve vzorcích z Plešného jezera a jeho přítoků.

Vzorek	Prvek	>10 kDa	10-2,5 kDa	<2,5 kDa	Anorganický	Σ ICP-MS	Kolor.
						($\mu\text{g/l}$)	($\mu\text{g/l}$)
PL-VY	Al	36%	48%	13%	3%	160	149
	P	44%	25%	8%	23%	4	2,23
	Fe	32%	46%	18%	4%	61	24
PL-VY-2	Al	36%	48%	12%	4%	195	180
	P	47%	25%	8%	20%	4	3,03
	Fe	32%	48%	16%	4%	65	37
PL-HL	Al	36%	48%	12%	4%	196	181
	P	45%	25%	8%	22%	4	2,66
	Fe	30%	48%	17%	5%	67	59
PL-Z-2	Al	34%	50%	12%	4%	207	227
	P	38%	27%	8%	27%	3	2,76
	Fe	30%	50%	15%	5%	70	35
PL-Z-3	Al	25%	53%	16%	6%	348	410
	P	30%	39%	14%	17%	4	2,83
	Fe	30%	48%	14%	8%	141	78
PL-Z-4	Al	29%	49%	18%	4%	322	308
	P	31%	37%	14%	18%	4	3,03
	Fe	37%	42%	17%	4%	175	114
PL-dno	Al	35%	47%	15%	3%	350	354
	P	38%	39%	11%	12%	6	4,02
	Fe	38%	44%	14%	4%	259	426
PL-I	Al	13%	50%	31%	6%	786	765
	P	17%	52%	23%	8%	27	51,04
	Fe	16%	49%	28%	7%	417	211
PL-II	Al	12%	51%	31%	6%	607	664
	P	15%	51%	25%	9%	23	44,78
	Fe	13%	50%	26%	11%	262	121

Tabulka P25: Nastavení ICP / MS spektrofoteometru

Name	Value	Unit	Name	Value	Unit
Carrier Gas	0,989	L/min	PWR AMP Drain I	0,28	A
MU./Dil. Gas	0	L/min	PWR AMP Bias	2,06	V
Option Gas	0	%	OctP RF (Avg)	132,6	V
Plasma Gas	14,99	L/min	OctP RF Set	2,473	V
Aux Gas	0,901	L/min	OctP FET Bias Set	2,473	V
Ar Gas Tank Press	579,8	kPa	OctP RF(+)	128,6	V
OP Gas Tank Press	-5,4	kPa	OctP RF(-)	137,2	V
+5V (Press Gage)	4,996	V	OctP Bias	-7,78	V
Ar AMFC Temp	32,26	°C	Cell Temp.	65	°C
Carrier Gas(DP)	4,4607	kPa	Cell Heater Volt.	4,08	V
MU./Dil. Gas(DP)	-0,0772	kPa	Q1 +U Voltage	139,18	V
Aux Gas(DP)	10,3105	kPa	Q1 -U Voltage	-138,72	V
Plasma Gas(DP)	12,1675	kPa	Q1 V Voltage	1571,5	V
Carrier Gas(BP)	266,0967	kPa	Q1 QPRF Fader	0,94	V
MU./Dil. Gas(BP)	0	kPa	Q1 Pickup Temp	55,02	°C
Aux Gas(BP)	46,9219	kPa	Q1 PWR Amp Temp	0,096	V
Plasma Gas(BP)	41,404	kPa	Q1 +600V	602,24	V
S/C Temp (H)	26,23	°C	Q1 -120V	-132,92	V
S/C Temp (L)	1,93	°C	Q1 QP PS +48V	47,25	V
Peltier Voltage	4,651	V	Q1 QP PS +48V I	0,03	A
IF/BK Press	216,0324	Pa	Q1 -720V	-753,38	V
Analyzer Press	0,0002287	Pa	Q1 Prefilter Bias	-40,39	V
IG HV	179,8562	V	Q1 Postfilter Bias	-18,17	V
IG Emission	4,999	µA	Q1 Pickup Heater I	0,074	A
TMP1 Revolution	100	%	Q2 +U Voltage	407,19	V
TMP1 Rev (RAW)	101,081	%	Q2 -U Voltage	-414,44	V
TMP1 Current	2,64	A	Q2 V Voltage	1856,2	V
TMP2 Revolution	100	%	Q2 QPRF Fader	1,1	V
TMP2 Rev (RAW)	100,909	%	Q2 Pickup Temp	55,02	°C
TMP2 Current	0,28	A	Q2 PWR Amp Temp	0,092	V
Analog HV	-2248,53	V	Q2 +600V	600,75	V
Pulse HV	1230,4	V	Q2 -120V	-133,25	V
EM Gate	-48,78	V	Q2 QP PS +48V	47,6	V
EM Entrance	0,03	V	Q2 QP PS +48V I	0	A
Pulse Gate	257,16	V	Q2 -720V	-749,12	V
Analog -5V	-5,0864	V	Q2 Prefilter Bias	-4,99	V
Analog +15V	14,59	V	Q2 Pickup Heater I	0,075	A
Analog -15V	-14,44	V	H2 Gas	0,02	mL/min
Analog +5V	5,192	V	He Gas	0,02	mL/min
Shunt C Pos	1,6241	V	H2 Gas Press	0	kPa
Drain Volt.(max)	63,666	V	He Gas Press	0	kPa
RF PS +48V	47,223	V	ORS AMFC Temp	33,39	°C
Forward Power	1550,0549	W	3rd Cell Gas	0	%
Reflected Power	1,2472	W	4th Cell Gas	0	%
Plasma Freq.	27,104	MHz	Atmospheric Press	96,5	kPa
Drain I 1	11,349	A	Extract 1	-0,09	V
Drain I 2	10,821	A	Extract 2	-200,43	V
Drain I 3	11,096	A	Omega Bias	-99,88	V
Drain I 4	11,299	A	Omega Lens	7,95	V
Temp Sensor	2,4362	V	Cell Entrance	-39,82	V
Driver I	4,622	A	Cell Exit	-49,82	V
Igniter	0,05	V	Deflect	12,43	V
Driver Voltage Set	6,606	V	Plate Bias	-49,95	V
Unbalance Current	0,2086	A	Q1 Entrance	-5,85	V
PWM Threshold Set	0,1219	V	Q1 Exit	0,22	V
Driver Voltage	5,24	V	Cell Focus	0,45	V
PWM Threshold	0,1231	V	HV+530V	520,58	V
Phase Detector	1,953	mV	HV+240V	239,01	V
+24V	23,655	V	HV-360V	-361,12	V
Water Temp	29,34	°C	Inlet Temp	32,55	°C
Water RF/WC/IF	1,056	L/min	Internal Temp	38,3	°C

