

Stanovení dusičnanů v pitných vodách

Iva Parmová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Iva PARMOVÁ
Osobní číslo: T09126
Studijní program: B2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a technologie potravin
Forma studia: prezenční

Téma práce: Stanovení dusičnanů v pitné vodě

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Výskyt dusičnanů v pitné vodě.
2. Účinky dusičnanů na lidské zdraví.
3. Analytické metody pro stanovení dusičnanů v pitné vodě

II. Praktická část

1. Vyhledejte v literatuře vhodné analytické metody pro stanovení dusičnanů v pitné vodě.
2. Ve vybraných vzorcích pitné vody proveďte stanovení dusičnanů alespoň dvěma odlišnými analytickými metodami.
3. Dosažené výsledky kriticky zhodnoťte a přehledně písemně zpracujte.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] HORÁKOVÁ, Marta, Peter LISCHKE a Alexander GRÜNWARD. Chemické a fyzikální metody analýzy vod. Praha: SNTL, 1986.

[2] ČSN ISO 7890-3. Jakost vod. Stanovení dusičnanů. Část 3: Spektrometrická metoda s kyselinou sulfosalicylovou. Praha: Český normalizační institut, 1995.

[3] PŘÍRUČKA HYDROCHEMICKÝCH METOD [online]. [Cit. 23.1.2013]. Dostupné z: <http://www.blatna.cuni.cz/prirucka.rtf>.

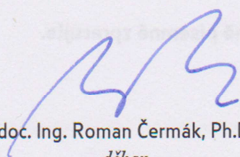
Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Vratislav Bednařík, Ph.D.**

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

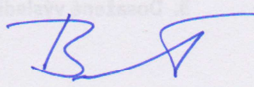
Datum zadání bakalářské práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Parmová Iva

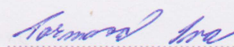
Obor: Chemie a technologie potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 15.4. 2013



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací

(1) Vysoká škola nevydávajícím zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

²⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:*

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).*

³⁾ *zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:*

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se v teoretické části zabývá problematikou dusičnanů v potravinách a v pitné vodě. Kromě koloběhu dusíku uvádí především účinky dusičnanů na lidské zdraví a dále pak přehled metod, které slouží k laboratornímu stanovení dusičnanů. Cílem této práce bylo stanovit dusičnany v různých balených pitných vodách různými metodami a tyto výsledky porovnat.

Klíčová slova:

Dusičnany, dusík, voda, methemoglobin, methemoglobinemie, mikroorganismy.

ABSTRACT

The theoretical part presents the problem of nitrates in food and drinking water. The thesis presents nitrogen cycle, primarily nitrate effects on human healthy and further overview of the methods that are used for laboratory determination of nitrate. The aim of this thesis was to determine nitrate from various bottled water by using different methods and compare results.

Keywords:

Nitrates, nitrogen, water, methemoglobin, methemoglobinemia, microorganisms.

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Vratislavu Bednaříkovi, Ph.D. za systematické odborné vedení a pomoc při zpracování této bakalářské práce. Stejně tak bych chtěla poděkovat laborantkám a to paní Věře Zbrankové a Ing. Lucii Slintákové za pomoc v laboratořích a vytvoření velmi dobrých pracovních podmínek. Rovněž děkuji rodičům, přátelům a kolegům za všestrannou pomoc při studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KOLOBĚH DUSÍKU V PŘÍRODĚ	12
1.1 MINERALIZACE	12
1.2 IMOBILIZACE	13
1.2.1 Biologická imobilizace.....	13
1.2.2 Nebiologická imobilizace.....	13
1.3 NITRIFIKACE A DENITRIFIKACE	14
2 VYUŽITÍ DUSIČNANŮ	17
3 PŮVOD DUSIČNANŮ VE VODÁCH	18
4 POŽADAVKY NA PITNOU VODU	20
5 VLIV DUSIČNANŮ NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA	22
5.1 AKUTNÍ ÚČINKY DUSIČNANŮ.....	22
5.2 NÁSLEDNÉ ÚČINKY DUSIČNANŮ	23
6 METODY STANOVENÍ DUSIČNANŮ	26
6.1 KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ KYSELINOU FENOLDISULFONOVOU.....	26
6.2 STANOVENÍ S KYSELINOU CHROMOTROPOVOU	27
6.3 STANOVENÍ S 2,6-XYLENOLEM.....	27
6.4 KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ SALICYLANEM SODNÝM	27
6.5 KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ BRUCINEM.....	28
6.6 POLAROGRAFICKÉ STANOVENÍ	28
6.7 STANOVENÍ ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIÍ V UV OBLASTI SPEKTRA.....	28
6.8 KOLORIMETRICKÉ STANOVENÍ PO REDUKCI NA DUSITANY	29
6.9 STANOVENÍ PO REDUKCI NA AMONIAK	29
6.10 NITRAČNÍ REAKCE S KYSELINOU FENARSAZINOVOU	29
II PRAKTICKÁ ČÁST	30
7 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE	31
8 POUŽITÉ PRACOVNÍ POSTUPY KE STANOVENÍ DUSIČNANŮ VE VODÁCH	32
8.1 STANOVENÍ DUSIČNANŮ VE VODĚ POMOCÍ SALICYLOVÉ KYSELINY	32
8.1.1 Kalibrace	32
8.1.2 Výsledky měření	33
8.2 STANOVENÍ DUSIČNANŮ VE VODĚ ABSORPČNÍ SPEKTROFOTOMETRIÍ V UV OBLASTI SPEKTRA.....	34
8.2.1 Kalibrace	34
8.2.2 Výsledky měření	35
8.3 STANOVENÍ DUSIČNANŮ POMOCÍ IONTOVĚ SELEKTIVNÍ ELEKTRODY	36
8.3.1 Kalibrace	36
8.3.2 Výsledky měření	36
8.3.3 Kalibrace s chloridem sodným.....	37
8.3.4 Výsledky měření s chloridem sodným	37

9 ZÁVĚR.....	39
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	41
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	43
SEZNAM OBRÁZKŮ	44
SEZNAM TABULEK.....	45
SEZNAM PŘÍLOH.....	46

ÚVOD

Dusík je esenciální prvek pro všechny formy života. Dusíkaté látky se vyskytují v různých formách v celém životním prostředí a určitá expozice lidské populace je vždy nevyhnutelná. Přírozený koloběh dusíku v přírodě je však s rozvojem chemizace v zemědělství stále více narušován. Jedná se především o nadměrný přísun dusíkatých hnojiv do půdy, působí i průmyslová exhalace oxidů dusíku do ovzduší a další řada důvodů. Za kritérium celkové zátěže životního prostředí dusičnanovými a dusitanovými ionty se považují jejich hladiny ve vodách, kde také bývají dlouhodobě monitorovány. (1) (2)

Koncentrace živin a pesticidů v podzemních i povrchových vodách se v uplynulých letech značně zvýšila a v současné době dosáhla hranice, která už zasluhuje zvýšenou pozornost. Jde především o růst makrofyt a fytoplanktonu ve vodě, což způsobuje tzv. eutrofizaci povrchových vod a zhoršování kvality pitné vody. Eutrofizaci lze jednoduše definovat jako reakci na zvýšené množství živin, hlavně fosforu ve sladké vodě a dusíku ve vodě mořské. Nejobvyklejším projevem eutrofizace je tedy výskyt řas, které mohou působit velké problémy v pitné vodě. Proto se redukce živin v povrchových vodách považuje za klíčový faktor v předcházení tohoto problému. (3) (4)

Přítomnost zvýšené koncentrace dusičnanů v pitné vodě se stala vážným problémem v celém světě v posledních desetiletích. Tato koncentrace nitrátů a pesticidů v pitné vodě si zasluhuje největší pozornost vzhledem k ovlivnění lidského zdraví. A proto je ochrana vody před znečištěním stále více ovlivňována legislativou. (3) (5)

Limitní množství dusitanů a dusičnanů v potravinách je dané vyhláškou č.306/2004 Sb., v pitné vodě vyhláškou č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví požadavky na pitnou vodu, rozsah a četnost její kontroly a v balené vodě vyhláškou č. 275/2004 Sb., kterou se stanoví požadavky na zdravotní nezávadnost balených vod a způsob jejich úpravy.

Tato práce má za cíl stanovit dusičnany v různých balených vodách různými metodami a výsledky porovnat.

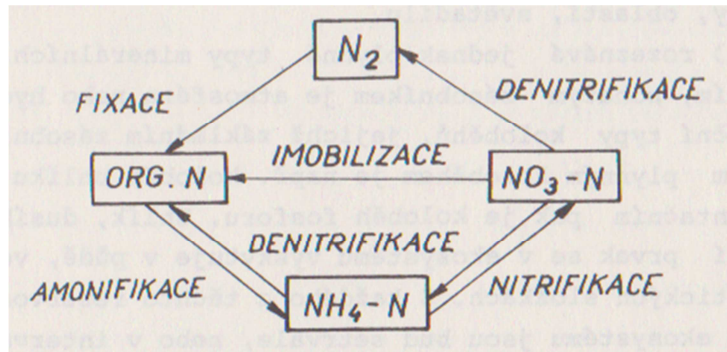
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOLOBĚH DUSÍKU V PŘÍRODĚ

Dusík je obsažen v organické hmotě všech živých tvorů. Organická hmota odumřelých jedinců nebo produktů jejich zpracování i produktů metabolismu živočichů a některých mikroorganismů je rozkládána dalšími mikroorganismy. Dusík je uvolňován ve formě amoniaku, který je oxidován na dusitany a dále na dusičnany. Amoniak a dusičnany jsou přijímány rostlinami ke stavbě buněčné hmoty. Tuto schopnost mají i mikroorganismy. Živočiškové přijímají dusík vázaný v organických sloučeninách, obsažený v rostlinné nebo živočišné stravě. (2) (6)

Koloběh dusíku je ve srovnání s koloběhy ostatních minerálních prvků (C, P, K, Ca) podstatně komplikovanější a variabilnější u různých typů ekosystémů a v různých oblastech nebo na různých lokalitách. Zahrnuje také největší množství přeměn, na nichž se zúčastňují mikroorganismy, často úzce specializované na určitý typ přeměny. (7)

Přeměny dusíku v půdě jsou systémového charakteru. Znamená to, že v dílčích úsecích na sebe bezprostředně navazují, a to tak těsně, že žádný z procesů není téměř možné hodnotit samostatně. (8)



Obrázek 1 Biochemické přeměny v koloběhu dusíku (7)

1.1 Mineralizace

Mineralizace a imobilizace jsou protichůdně a současně probíhající procesy.

Mineralizace vede k biologické přeměně organických dusíkatých látek na minerální formy. Rozhodujícím prekurzorem minerálního dusíku v půdě je organická hmota, z které se za přítomnosti vzdušného kyslíku mineralizačními procesy uvolňuje amoniak, a proto se uvedený proces často označuje jako amonifikace (také amonizace). Velmi početný a druhově různorodý soubor mikroorganismů, který mineralizační procesy vykonává, se nazývá amonifikační mikroflóra. Amonifikace dusíkaté organické hmoty je proces velmi složitý.

Je katalyzovaný účastí mikrobiálních enzymů. Při rozkladu dusíkatých organických látek se složitý komplex amonifikačních mikroorganismů vnitřně mění. To znamená, že v počátečních fázích rozkladu dominují jiné druhy amonifikátorů jako na konci rozkladu. (2) (8)

Procesy amonifikace dusíku neprobíhají samostatně. V návaznosti na ně se uskutečňují další, které určují význam a podíl amonifikace na vlastnostech půd a jejich produkční schopnosti. Z hlediska kumulace dusičnanů v rostlinách jsou zvláště důležité procesy nitrifikace a imobilizace dusíku v půdě. (2)(8) (9)

1.2 Imobilizace

Imobilizace je protichůdně probíhající přeměna minerálního dusíku na organické sloučeniny. Podle základních principů mechanismu rozlišujeme v půdě dva typy imobilizace a to biologickou a nebiologickou. (8)

1.2.1 Biologická imobilizace

Biologická imobilizace je ve stručném vyjádření reprezentována mechanismy enzymatické přeměny minerálního dusíku do organických dusíkatých struktur. Probíhá jako výsledek asimilace minerálního dusíku, a to jednak rostlinami, ale především bohatě zastoupenou půdní mikroflórou. (8)

Imobilizace minerálního dusíku rostlinami je složitým procesem transportu a přeměny látek v rostlinném těle. Imobilizace dusíku půdními mikroorganismy probíhá jako výsledek asimilace minerální plazmy a možným postupným přechodem do frakce půdního humusu. (8)

1.2.2 Nebiologická imobilizace

Nebiologická imobilizace dusíku představuje neenzymatické mechanismy vazeb a přeměn minerálního (především amoniakálního) dusíku, které principiálně probíhají třemi hlavními způsoby, a to:

- fixací amoniaku na jílové minerály
- fixací amoniaku na organickou hmotu
- jinými fyzikálně-chemickými reakcemi

Oba procesy (mineralizace a imobilizace) zajišťují především živé organizmy. (8)

1.3 Nitrifikace a denitrifikace

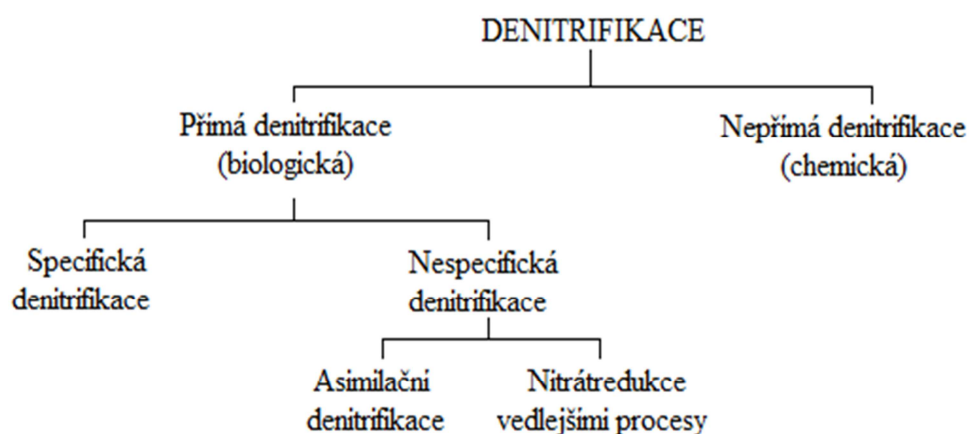
Nitrifikace je biologický enzymatický proces, při kterém se oxidují redukované dusíkaté látky s přechodným uvolňováním dusitanů a jejich následnou oxidací na dusičnany. Zdrojem dusíku na oxidaci jsou především amonné soli (autotrofní nitrifikace), případně i organické dusíkaté látky (heterotrofní nitrifikace). Uvedené procesy zajišťuje specializovaná fyziologická skupina mikroorganismů, která se nazývá nitrifikační mikroflóra, která procesem oxidace dusíku získává energii pro své životní pochody. V procesech autotrofní nitrifikace se rozlišují dva základní stupně. V prvním se oxiduje amoniak na dusitany (nitritace), v druhém pokračuje oxidace na dusičnany (nitratce). Nitrifikaci můžeme popsat následovně:



Na prvním stupni oxidace se podílejí nitrifikační bakterie (*Nitrosomonas*), na druhé etapě pak nitratační bakterie (*Nitrobacter*). Uvolněné vodíkové ionty okyselují půdu.

Na rozdíl od mineralizace jsou pro nitrifikaci rozhodující podmínky prostředí. (2)(8) (9)

Opakem nitrifikačního pochodu je denitrifikace. Reprezentuje ji několik typů mechanismu redukce oxidovaných forem minerálního dusíku. Přehledně tyto redukce ukazuje následné schéma:

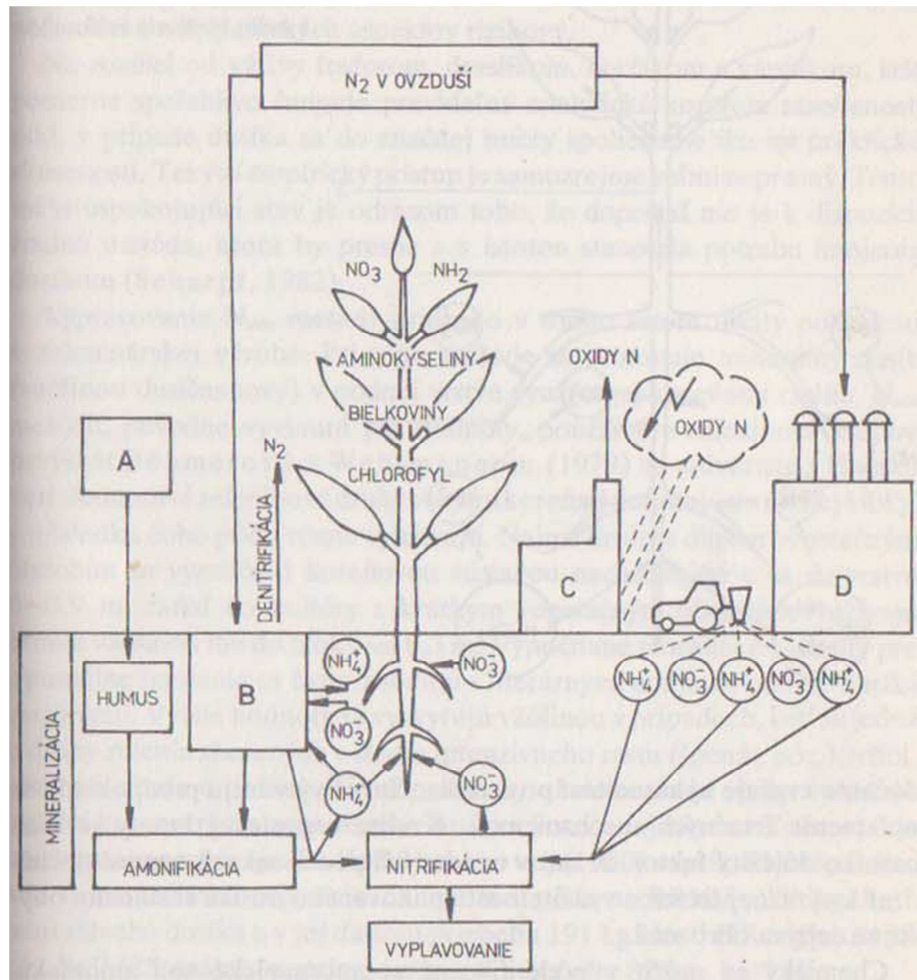


Obrázek 2 schéma rozdělení denitrifikace (8)

Nepřímá denitrifikace probíhá chemickými reakcemi, proto je také označována jako chemodenitrifikace. Přímá redukce minerálního dusíku probíhá uvnitř živých organismů dvojitým způsobem, a to specifickou a nespecifickou denitrifikací. Specifická redukuje oxidova-

né minerální dusíkaté látky s konečnou produkcí oxidů dusíku a také molekulárního dusíku. Nespecifická denitrifikace redukuje minerální dusík na amoniak, který se následně za-
budovává do proteinové struktury denitrifikujícího organismu. (2)(8) (9)

Který typ denitrifikace převládne, závisí na konkrétních podmínkách.



Obrázek 3 Koloběh dusíku v přírodě:

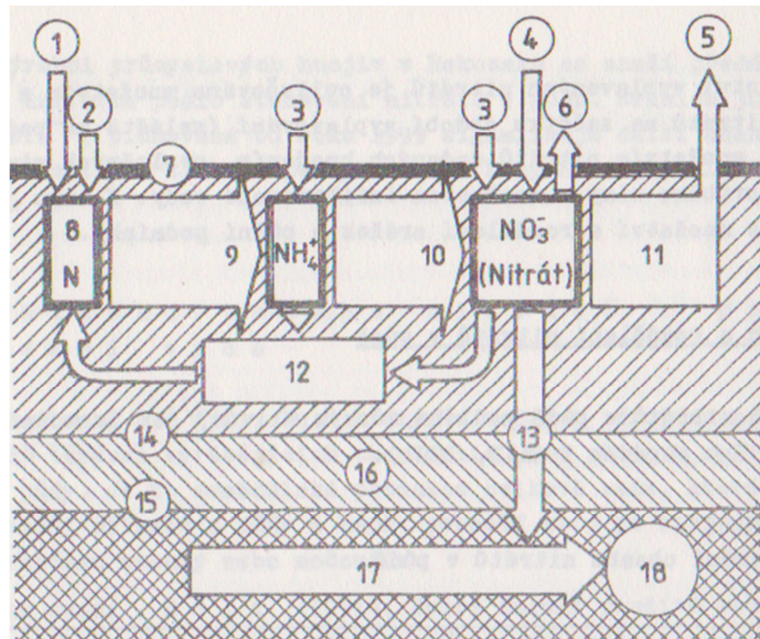
A- rostlinné a živočišné produkty, komposty, B – vázání dusíku, mikro-
organizmy, mobilizace a imobilizace, C – spalování uhlíku, nafty, atd.,

D – dusíkaté hnojiva (2)

V podzemní vodě jsou velkým problémem nitráty vyplavované z povrchu půdy. Dusík se vyplavuje z půdy v podobě nitrátů, protože není, na rozdíl od amonné složky, vázán na půdní částice, ale rozpouští se v půdní vodě. Množství vyplavených nitrátů je ovlivňováno množstvím a rozdělením nitrátů na začátku vyplavování (zvláště na podzim a v zimě) množstvím nitrátů dodaných hnojením, uvolněných mineralizací v průběhu zimy a množ-

stvím infiltrované vody. K tomu ještě přistupuje množství a rozdělení srážek a půdní podmínky. (3)

Obsah nitrátů v půdě podléhá různým vlivům, jak je vidět na obrázku 3.



Obrázek 4 Schéma přeměny dusíku v půdě (3)

Legenda k obrázku 3:

1 – organické hnojení, 2 – biologické vázání dusíku, 3 – minerální hnojení, 4 – vyplavování NO_3^- srážkami, 5 – plynné ztráty dusíku (N_2 , N_2O , NO), 6 – odběr rostlinami, 7 – Půdní povrch, 8 – organicky vázaný dusík, 9 – mineralizace, 10 – nitrifikace, 11 – denitrifikace, 12 – imobilizace, 13 – vyplavování, 14 – spodní hranice prokořenění, 15 – hladina podzemní vody, 16 – pokles koncentrace nitrátů a zředění v podzemní vodě, 17 – horizontální transport vody, 18 – možné obohacování nitráty v oblasti pitné vody (3)

2 VYUŽITÍ DUSIČNANŮ

Dusičnany se používají pro zlepšení dusíkaté výživy pěstovaných plodin, a tím i zvyšování jejich úrody používáním dusíkatých hnojiv. V potravinářské technologii se dusitany a dusičnany používají především ke konzervaci masa a masových výrobků na zlepšení senzorické kvality a k inhibici růstu bakterií *Clostridium botulinum*, produkujících vysoce toxické botulotoxiny. V mlékárenské výrobě se dusičnany používají k zabránění nežádoucího nadouvání sýrů plyny vznikajícími činností některých kmenů *Clostridium*. Mléko a mléčné výrobky jsou však jen nevýznamnými zdroji dusičnanů v lidské stravě. (2) (10)

3 PŮVOD DUSIČNANŮ VE VODÁCH

Dusitany a dusičnany se jako součást koloběhu dusíku v přírodě vyskytují v mnoha potravinách rostlinného i živočišného původu. Do potravin rostlinného původu se dostávají z půdy, do potravin živočišného původu z krmiv a dále také jako aditivní látky. (10)

Dusičnany, vzhledem k jejich vysoké rozpustnosti ve vodě, jsou možná nejrozšířenějším podzemním kontaminantem ve světě a způsobují vážnou hrozbu pro lidské zdraví a přispívají k eutrofizaci. (5)

Dusičnany se vyskytují ve všech typech vod. V čistých přírodních vodách jsou obvykle v malých koncentracích (řádově jednotky mg/l jako ionty NO_3^-), v přírodních vodách ze zemědělských oblastí jsou v dnešní době ve větších koncentracích (řádově desítky mg/l jako ionty NO_3^-). Také odtoky z biologických čistíren odpadních vod i některé průmyslové odpadní vody obsahují dusičnany rovněž ve vyšších koncentracích (řádově desítky mg/l jako ionty NO_3^-). Protože dusičnany jsou konečným produktem biochemické oxidace organicky vázaného dusíku, může být jejich větší koncentrace v přírodních (hlavně podzemních) vodách důkazem staršího znečištění organického původu. (11)

Dusičnany v pitné vodě pochází z různých zdrojů, z nichž mnohé jsou do jisté míry závislé na lidské činnosti. (12)

Bez zásahu člověka se dusičnany mohou dostat do vody několika způsoby. V malých množstvích může přicházet ve formě kyseliny dusičné vzniklé rozpouštěním oxidu dusičného produktu elektrických výbojů (blesků). Dalším zdrojem a to nejvýznamnějším je produkce dusičnanů bakteriemi. Přímou vazbou vzdušného dusíku zajišťují bakterie hlavně v symbióze s motýllokvětnými rostlinami. Jinou běžnější formou vzniku dusičnanů je pochod nitrifikační, kdy po rozkladu bílkovin z živé hmoty a vzniku amonných sloučenin dochází k jejich biochemické oxidaci na nitráty. Poslední možností je rozpouštění pevných solí dusičnanů vodou. Tato možnost nemá u nás ve střední Evropě prakticky význam, neboť výskyt pevných solí dusičnanů je zcela výjimečný. (13)

Zásahem člověka se dusičnany do vod dostávají především používáním průmyslových hnojiv na bázi ledku, ale také amonných hnojiv, která jsou v půdě mikrobiálně oxidována na dusičnany. Tato dusíkatá hnojiva jsou do půd doplňována z toho důvodu, že přirozené zdroje dusičnanů v půdě při tak intenzivní zemědělské výrobě nepostačují k zajištění optimální výživy rostlin. Dusičnan není snadno vázán k půdě a to způsobuje, že je velmi citlivý na vyluhování. Také může docházet ke zvyšování koncentrace dusičnanů hromaděním

odpadů organického původu. Nejvýznamnějším znečišťovatelem je zemědělství, hlavně s velkokapacitními chovy dobytka a skladováním fekálií. Kromě toho oxidy dusíku vznikají během spalování řady fosilních paliv (ropy, zemního plynu a uhlí), ve velkých aglomeracích hustoty provozu motoru je zajištěno, že motorové výfuky jsou hlavním zdrojem oxidů dusíku, zatímco v průmyslových oblastech jsou hlavním zdrojem továrny. Tyto oxidy se pak rozpustí v dešťové vodě a jsou dále oxidovány na kyselinu dusičnou. Také intenzivní sluneční světlo zvyšuje rychlost přeměny oxidů dusíku na kyselinu dusičnou, která je hlavním přispěvatelem ke kyselému dešti. Tyto srážky přispívají pouze 2,5% z celkového počtu dusíku v pitné vodě. Nicméně, měření dusičnanů v souvislosti s kyselými dešti ukazují, že koncentrace se zvyšuje. (5) (13) (12) (14)

4 POŽADAVKY NA PITNOU VODU

Požadavky kladené na jakost vyrobené vody se řídí účelem jejího použití. Úpravárenský proces a upravená voda musí splňovat tyto požadavky:

- Voda musí mít vyhovující jakost
- Musí být dodávána v dostatečném množství
- Celkové výrobní náklady musí být minimální

Jakost upravené vody musí odpovídat příslušným normám nebo směrnicím. Požadavek vyhovující jakosti je základní a musí být vždy splněn. (15)

Hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu, četnost a rozsah kontroly pitné vody stanovuje vyhláška č. 252/2004 Sb., která udává limitní obsahy dusičnanů a dusitanů v pitné vodě, jak je vidět v tabulce 1:

Tab. 1 Limitní obsah dusitanů a dusičnanů v pitných vodách (16)

Č.	ukazatel	symbol	jednotka	limit	Typ limitu
23	Dusičnany	NO ₃ ⁻	mg/l	50	NMH
24	Dusitany	NO ₂ ⁻	mg/l	0,50	NMH

NMH – nejvyšší mezní hodnota

Musí být dodržena podmínka, aby součet poměrů zjištěného obsahu dusičnanů v mg/l děleného 50 a zjištěného obsahu dusitanů v mg/l děleného 3 byl menší nebo rovný 1. Součet poměrů odpovídá svým významem nejvyšší mezní hodnotě. Obsah dusitanů v pitné vodě na výstupu z úpravny musí být nižší než 0,1 mg/l. (16)

Přísnější požadavky než na vodu pitnou jsou kladeny na vodu balenou. Pod pojmem balená voda rozumíme:

- Balené kojenecké vody
- Balené stolní vody
- Balené pitné vody
- Balené přírodní minerální vody (17)

Požadavky na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a způsob jejich úpravy stanovuje vyhláška č. 275/2004 Sb., která udává limitní obsahy dusičnanů a dusitanů v balených vodách podle druhu balené vody, jak je vidět v tabulkách 3 a 4:

Balené přírodní minerální vody

Tab. 2 Limitní obsah dusitanů a dusičnanů v balených vodách (18)

Č.	ukazatel	symbol	jednotka	limit	Typ limitu
20.	Dusičnany	NO ₃ ⁻	mg/l	50	NMH
21.	Dusitany	NO ₂ ⁻	mg/l	0,1	NMH

Kojenecké a pramenité vody

Tab. 3 Limitní obsah dusitanů a dusičnanů v kojeneckých a pramenitých vodách (18)

Č.	ukazatel	symbol	jednotka	limit	Typ limitu
22.	Dusičnany	NO ₃ ⁻	mg/l	10 ²⁾ 25 ³⁾	NMH
23.	Dusitany	NO ₂ ⁻	mg/l	0,02	NMH

Vysvětlivky: 2) kojenecká voda

3) pramenitá voda (17) (18)

5 VLIV DUSIČNANŮ NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Dusičnany nejsou v neredukujícím prostředí a v nízkých koncentracích pro dospělého a zdravého člověka škodlivé. Primárně jsou dusičnany tedy pro člověka málo závadné, neboť se vylučují močí, ale sekundárně (po bakteriální redukci v gastrointestiálním traktu) jako dusitany jsou pro lidský organismus toxické a zejména pro kojence. (2) (4) (11) (13)

Potenciální toxicita vyšší hladiny dusičnanů v potravinářských surovinách a výrobcích spočívá v tom, že za určitých podmínek se můžou redukovat na dusitany, které jsou původcem některých vážných zdravotních poruch, a to nejen u dětí útlého věku, ale i u dospělých osob. (2)

Dusičnany se mikrobiálně nebo chemicky snadno redukují na dusitany, které mohou vstupovat do oxidativní reakce s krevním barvivem za vzniku methemoglobinu, nebo mohou spolu s nitrozovatelnými látkami vytvářet při nitrosační reakci karcinogenní N-nitrososloučeniny. (1)

5.1 Akutní účinky dusičnanů

Vzniklé dusitany po vstřebání střevní stěnou do krevního oběhu reagují s železnatým iontem v prostetické skupině hemu za vzniku železitého a nitrátového iontu.



Změna valence železa v hemoglobinu způsobuje významnou funkční poruchu hemoglobinu. Vzniklý methemoglobin ztrácí schopnost přenosu kyslíku. Za fyziologicky normálního stavu představuje podíl oxidované formy, která nemá schopnost přenášet kyslík, asi 2%. Reduktázy červených krvinek dospělého člověka (difosfopyridinnukleotidreduktázy) mají schopnost přeměnit vytvořený methemoglobin zpět na hemoglobin. (2) (13)

Dusitany jsou akutně nebezpečné zejména pro kojence v nejtělejší věku. Děti v prvních 2-4 měsících života nemají totiž ještě dostatečně vyvinutý vlastní enzymatický systém v erythrocytech, kterým se uvedená zpětná redukce reguluje. Kromě toho je v žaludku velmi malých kojenců nižší koncentrace kyselin, tedy vyšší pH, jako ve vyšším věku. Proto se v jejich žaludku i v horních částech střevního aparátu můžou rozmnožit některé jinak nepatogenní mikroorganismy, které mohou redukovat dusičnany na dusitany dříve, než se dusičnany stačí absorbovat normálním způsobem. Dochází k tomu při poruchách trávení, kdy se střevní mikroflóra přesouvá do horní části trávicího ústrojí, kde zastihne část ještě ne-

vstřebaných dusičnanů. Dusitany se potom dostávají do krve, prostřednictvím které negativně působí na mnohé orgány. Jejich hlavní negativní vlastností však zůstává možnost zapříčinění methemoglobinemie. Vnější projevem je šedomodré až modrofialové zabarvení sliznic a pokožky okrajových částí těla, především rtů, spojené s poklesem krevního tlaku, zvýšenou tepovou frekvencí a dýcháním. První symptomy se objevují při koncentraci 6-7% methemoglobinu v krvi. Koncentrace 10-20% způsobuje už onemocnění lehčího rázu, 20-40% pak středně závažné a nad 40% methemoglobinu těžké onemocnění, které může vést až k smrti. (2)

Problematika vzniku a prevence výskytu alimentární dusičnanové methemoglobinemie kojenců byla u nás i ve světě řešena v 60. a 70. letech. V zemích s dobrou úrovní zdravotní péče a dostupností náhradních zdrojů pitné vody a dětské výživy s nízkým obsahem dusičnanů je výskyt tohoto onemocnění vzácný, nebo indikuje selhání preventivní péče o kojence v raném rizikovém období života. (1)

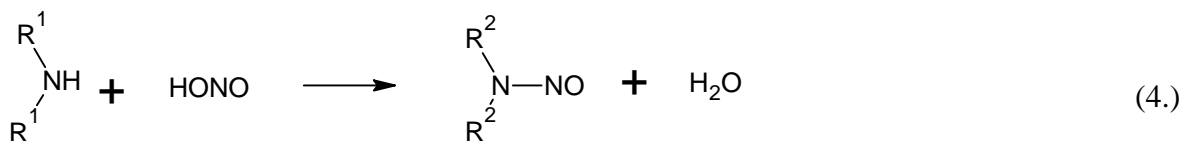
Methemoglobinemie se ještě donedávna považovala za nebezpečí pouze pro děti nejútlejšího věku. Bylo však dokázané, že i u starších dětí a dokonce i u dospělých osob se může vyskytnout asymptomatická (klinicky bezpříznaková) forma methemoglobinemie. Kromě toho dusičnany mohou (zejména ve vyšších koncentracích) ovlivňovat enzymy trávicí soustavy, vstřebávání určitých živin, metabolismus vitamínu A a funkci štítné žlázy. Průvodními znaky mohou být změny v EKG a v centrální nervové soustavě. Není možné s jistotou vyloučit ani možnost akumulace dusičnanů v lidském organismu.

Výzkumy uskutečňované v posledních letech v oblasti medicíny jsou však mnohem více zaměřené na rizika spojené s následnými účinky dusičnanů a dusitanů. (1) (2)

5.2 Následné účinky dusičnanů

Nejzávažnější nebezpečí těchto látek vyplývá z toho, že dusičnany resp. dusitany vzniklé jejich redukcí působí jako prekurzory nitrosaminů a jiných N-nitrososloučenin. N-nitrososloučeniny jsou pro člověka potenciálním karcinogenem. Obecně jde o látky, z nichž některé jsou známé jako silně karcinogenní, teratogenní a mutagenní. N-nitrososloučeniny jsou látky, u kterých je společným znakem nitrososkupina vázaná na 1 atom dusíku. Vznikají reakcí dusitanů, přítomných v potravě, nebo vzniklých z dusičnanů, především se sekundárními, terciálními, ale i kvarterními aminy. Aminy jsou přítomné prakticky všude. Vyskytují se v zelenině, v masových, mléčných a obilných výrobcích, ve

vejcích, v pivě a víně, v lécích, pesticidech, tabákovém dýmu atd. Vlastním nitrozujícím reagentem je skupina NO^+ :



Jako R1 a R2 mohou být alkyly, aryly, nebo i heterocyklické sloučeniny. (2) (4) (13)

Experimentálně bylo opakovaně prokázáno, že tyto vysoce účinné karcinogeny mohou za vhodných fyzikálních a chemických podmínek vznikat nejen v životním prostředí (zvláště v potravinách), ale i v živém organismu téměř všech živočišných druhů. Předpokládá se, že stejně jako u experimentálních zvířat mohou být N-nitrososloučeniny na různých místech organismu (především v trávicím traktu) s výjimkou kostí jednou z příčin vývoje karcinomu u člověka. Nebezpečí ještě zvyšuje skutečnost, že ke vzniku rakoviny dochází při pravidelném přijímání i celkem nepatrných množství těchto látek. Ukazuje se, že působení častých menších dávek je nebezpečnější, jako působení větších jednorázových dávek. Většina nitrosaminů se v živočišném organismu projevuje také hepatotoxicky, tzn. onemocněním jater. (1)

Hlavním zdrojem dusičnanů-dusitanů pro člověka je zeleninová strava, kde vinou rostoucí chemizace rostlinné výroby obsah těchto iontů stoupá. Dalším významným zdrojem dusičnanů pro člověka je pitná voda. Podíl tohoto zdroje na celkovém denním přívodu NO_3^- závisí na koncentraci a na množství konzumované vody. Tradičně se počítá s dvoulitrovou spotřebou na osobu, potřeba tekutin je však věkově diferencovaná. Tab. 1 uvádí příjem dusičnanů v závislosti na věku a koncentraci. (1)

Tab. 4 Příjem dusičnanů v závislosti na věku a koncentraci (1)

věk	Tělesná hmotnost v kg	Příjem vody ml/kg	Dusičnany v mg/l				
			15	30	50	100	200
<1	3	150	6,7	13,5	22,5	45	90
1	10	150	22,5	45	75	150	300
>1	10	125	18,7	37,5	62,5	125	250
3	13	125	24,4	48,7	82,1	162,	325
4	16,5	100	24,3	48,6	81	162	324
6	20	100	30	60	100	200	400
7	22	75	24,7	49,5	82,5	165	330
9	30	75	33,6	67,5	112,	225	450
10	35	50	25,2	52,5	87,5	175	350
15	50	50	37,5	75	125	250	500
18	60	40	36,0	72	120	240	480
Dosp.	80	40	48,0	96	160	320	640

6 METODY STANOVENÍ DUSIČNANŮ

Stanovit dusičnany je nutno v den odběru; není-li to možné, je nutno vzorky vody konzervovat.

Dusičnany se stanovují ve všech typech vod. Obsah dusičnanů ve vodách se udává zpravidla hmotnostní koncentrací a to jako NO_3^- nebo N-NO_3^- , v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. (11)

Pro stanovení dusičnanů ve vodách existují desítky metod. Každá metoda má ještě mnoho modifikací, a tak počet doporučených postupů na stanovení dusičnanů lze počítat řádově na stovky. Žádnou z dosud navrhovaných metod nelze označit za absolutně nejsprávnější a za univerzální. Při různých metodách se totiž rušivě uplatňují různé složky vody. Jednotlivé metody mají i různou citlivost a různý rozsah stanovení. (11)

Největší skupinu v praxi používaných metod na stanovení dusičnanů ve vodách tvoří absorpční spektrofotometrické metody. Tyto spektrofotometrické metody lze rozdělit na dvě velké podskupiny metod, a to na metody přímého stanovení dusičnanů a na nepřímé metody stanovení dusičnanů, kde jsou dusičnany spektrofotometricky vyhodnocovány jako dusitany či amoniakální dusík. (11)

U čistých vod lze také pro stanovení dusičnanů použít metodu polarografickou nebo se také v posledních letech používá i potenciometrická metoda stanovení dusičnanů s použitím dusičnanové iontové selektivní elektrody. (11)

6.1 Kolorimetrické stanovení kyselinou fenoldisulfonovou

Dusičnany reagují s kyselinou fenoldisulfonovou za vzniku intenzivního žlutého zabarvení. Principem je nitrace kyseliny fenoldisulfonové. Nitroderivát poskytuje žlutou amonnou nebo draselnou sůl, jejíž roztok má absorpční maximum při 410 nm. Bez ředění lze stanovit 0,5 až 50 mg NO_3^- v 1 litru.

Obsahuje-li vzorek přibližně stejné množství NH_3 a NO_3^- , doporučuje se zalkalizovat jej kapkou 30% KOH, aby se zabránilo ztrátám NO_3^- .

Stanovení ruší Cl^- , které se odstraňují ekvivalentním množstvím Ag^+ (0,44g Ag_2SO_4 ve 100 ml; 1 ml sráží 1mg Cl^-). Ruší také CO_3^{2-} a různé organické látky.

Za předpokladu, že se dodrží postup a že nepůsobí žádné rušivé vlivy, je přesnost stanovení asi $\pm 5\%$. (19) (20)

6.2 Stanovení s kyselinou chromotropovou

Toto stanovení spočívá rovněž na principu nitrace. V původním provedení bylo stanovení rušeno řadou iontů. Modifikovaným postupem je eliminován rušivý vliv Cl^- , Cl_2 , NO_2^- , Fe(III) a ostatních oxidujících látek.

Přímo ve vzorku lze stanovit 0,2 – 2,0 mg/l NO_3^- . Měří se při 410 nm. (19)

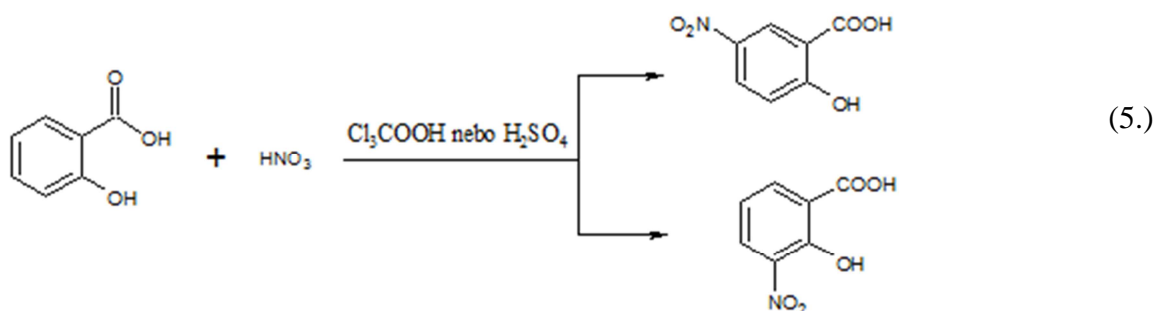
6.3 Stanovení s 2,6-xylenolem

Princip stanovení spočívá opět v nitraci a to 2,6-xylenolu v kyselém prostředí. Vznikající 4-nitro-2,6-xylenol dává s NaOH žlutou sůl, jejíž vodný roztok má absorpční maximum 432 nm.

Ruší NO_2^- , které dávají 4-nitroso-2,6-xylenol; odstraňují se kyselinou amidosulfonovou. Cl^- pravděpodobně redukuje NO_3^- na nitrosylchlorid, který vede rovněž ke vzniku 4-nitroso-2,6-xylenolu a ke ztrátám při stanovení. Cl^- se vylučují přidávkou HgSO_4 nebo Ag_2SO_4 . Také organické látky způsobují nižší výsledky. (19)

6.4 Kolorimetrické stanovení salicylanem sodným

Stanovení je založeno na reakci dusičnanů se salicylanem sodným v prostředí kyseliny sírové nebo trichloroctové, kdy vznikají žlutě zbarvené soli kyseliny nitrosalicylové.



Absorpční maximum je 410 nm. Bez ředění lze stanovit asi 0,1 až 20 mg NO_3^- v 1 litru. Cl^- nad 200 mg/l se odstraňují Ag_2SO_4 , kovové ionty iontoměničem. NO_2^- nad 1-2 mg/l způsobují pozitivní chybu, proto se ruší odpařením vzorku s $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ do sucha. Kromě toho ruší i organické látky. (11)(19) (20)

6.5 Kolorimetrické stanovení brucinem

Dusičnany reagují s brucinem v prostředí kyseliny sírové za vzniku žlutého až hnědočerveného zbarvení. Závislost koncentrace dusičnanů na intenzitě zbarvení neodpovídá přesně Beerovu zákonu. S každou řadou vzorků je nutno zároveň připravit řadu standardů k sestrojení kalibrační křivky. Absorpční maximum je 410 nm. Rozsah stanovitelné koncentrace bez ředění vzorku je od 1 do 20 mg NO_3^- v 1 litru. Brucinovou metodou lze stanovit dusičnany s přesností 0,5 mg/l. Rušící NO_2^- se odstraňují sulfanilovou kyselinou obsaženou v brucinovém činidle. Ruší všechny silně oxidující a redukující látky, dále Fe(II), Fe(III) a Mn(IV) v koncentracích nad 1 mg/l Cl^- neruší. Podle pramenů lze brucinovým činidlem odlišit NO_3^- a NO_2^- pomocí různé koncentrace H_2SO_4 . Jiná práce tuto možnost popírá. (19) (20)

6.6 Polarografické stanovení

Na rtuťové kapkové elektrodě se dusičnany redukují v slabě kyselém prostředí za katalytického působení uranylových iontů. Nosným elektrolytem je roztok chloridu draselného a kyseliny chlorovodíkové, který obsahuje malé množství octanu uranylu.

Při polarografii samotného elektrolytu vzniknou dvě vlny, z nichž první odpovídá redukci. (20)

6.7 Stanovení absorpční spektrofotometrií v UV oblasti spektra

Jedná se o metodu stanovení, které je založeno na přímém měření absorbance dusičnanů v ultrafialové oblasti spektra při vlnové délce 220 nm.

Stanovení je rušeno zákalem a barvou vzorku a přítomností organických látek, které rovněž absorbují v UV oblasti spektra. Může být tedy použito pro vody s velmi nízkým obsahem organických látek nebo pro vody, ve kterých byly organické látky odstraněny, např. mineralizací organických látek při stanovení celkového dusíku. Rušivý vliv zbylých organických látek se odstraňuje odečtením hodnoty absorbance při 250 nm.

Stanovení je méně citlivé než stanovení po redukci na dusitany, může být použito v rozmezí 0,5-2,0 mg/l $\text{NO}_3^- \text{N}$, vyšší koncentrace je nutné ředit. (21)

6.8 Kolorimetrické stanovení po redukci na dusitany

Toto stanovení je založeno na redukci dusičnanů na dusitany hydrazinem v alkalickém prostředí při teplotě 28°C. Redukce je katalyzována měďnatými ionty. Obsah dusičnanů se stanovuje kolorimetricky. Přímo lze stanovit s použitím 1 cm kyvet 0,05 až 2,0 mg dusičnanů v 1 litru vzorku. Chyba stanovení činí asi ± 2 %. (20)

6.9 Stanovení po redukci na amoniak

Toto stanovení je založeno na redukci dusičnanů na amoniak vodíkem ve stavu zrodu, vznikajícím reakcí hydroxidu draselného s Edvardovou slitinou. Z reakční směsi se oddestiluje amoniak a jímá se do předlohy s kyselinou sírovou, kde se stanoví buď odměrně, nebo kolorimetricky. Použití kolorimetrického zakončení celého postupu je vhodné u koncentrací dusičnanů do 10 mg/l, odměrně se stanovují koncentrace nad 5 mg NO_3^- v 1 litru. (20)

6.10 Nitrační reakce s kyselinou fenarsazinovou

Tato metoda se používá pro stanovení stopového množství NO_3^- . V alkalickém prostředí vzniká intenzivně červené zabarvení, které se měří světlezeleným filtrem. Halogenidy se odstraňují Ag_2SO_4 rušící kationty iontoměničem. NO_2^- reagují podobně. Lambertův-Beerův zákon je splněn mezi 0,1 – 0,7 mg/l NO_3^- .

Zředěním silně kyselého roztoku fenantroxazinu vodou se vylučuje modrá sraženina. Po jejím rozpuštění v H_2SO_4 se přidavkem NO_3^- mění barva směsi na červenofialovou o absorpčním maximu 730 nm. Absorpce je úměrná množství NO_3^- . Reakce lze využít ke stanovení 3 – 40 mg NO_3^- ve vzorku. (19)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE

U všech použitých metod stanovení dusičnanů byly použity následující chemikálie:

Dusičnan sodný p.a.

Hydroxid sodný p.a.

Chlorid sodný p.a.

Kyselina salicylová p.a.

Kyselina sírová koncentrovaná p.a.

Dále byly použity i následující přístroje a pomůcky:

Spektrofotometr Spekol 11, Carl Zeiss Jena, Německo

Spektrofotometr Unicam UV500, Thermo Spectronic, Velká Británie

Voltmetr CPH51

Dusičnanová iontově selektivní elektroda Mettler Toledo

Analytické váhy Kern 770

8 POUŽITÉ PRACOVNÍ POSTUPY KE STANOVENÍ DUSIČNANŮ VE VODÁCH

8.1 Stanovení dusičnanů ve vodě pomocí salicylové kyseliny

10ml vzorku vody bylo odpipetováno do odpařovací misky a bylo přidáno 0,2 ml 30% roztoku NaOH a 1 ml salicylanu sodného. Po promíchání krouživým pohybem misky byl obsah misky odpařen na plotýnce do sucha. K odparku byl přidán 1 ml H₂SO₄ a dále bylo zahříváno ještě 2 – 3 minuty. Po mírném ochlazení bylo přidáno asi 20 ml destilované vody, a dále 7 ml 30% roztoku NaOH. Obsah misky byl opět promíchán krouživým pohybem a poté byl kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 50 ml. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla odměrná baňka doplněna destilovanou vodou po rysku. Nakonec byla měřena na spektrofotometru absorbance při $\lambda = 415$ nm proti destilované vodě.

Stejně bylo postupováno u stanovení kalibračních roztoků dusičnanů o koncentraci 1-60 mg/l. Hledaná koncentrace dusičnanů byla vyhodnocena z kalibračního grafu.

8.1.1 Kalibrace

Pro správné stanovení dusičnanů ve vodě bylo třeba provést kalibraci.

Tab. 5 Kalibrace dusičnanů ve vodě

c (mg/l)	měření 1	měření 2	měření 3	průměr
0	0,016	0,016	0,015	0,0157
1	0,033	0,033	0,032	0,0327
5	0,180	0,180	0,179	0,1797
10	0,251	0,251	0,251	0,2510
20	0,607	0,607	0,605	0,6063
30	0,779	0,778	0,782	0,7797
40	1,064	1,065	1,071	1,0667
50	1,292	1,292	1,291	1,2917

8.1.2 Výsledky měření a diskuse

Pro přesnější výpočet koncentrace, byla použita průměrná hodnota vypočítaná z třech měření. Závislost absorbance na koncentraci NO_3^- zobrazuje graf č. 1 uveden v příloze č.1.

Tab. 6 Seznam výsledků pro jednotlivé vzorky

	měření 1	měření 2	měření 3	Průměr [ø]	c (mg/l)
Saguaro	0,070	0,071	0,068	0,0697	1,671855
Odyseus	0,057	0,058	0,063	0,0593	1,26978
Bonny	0,059	0,060	0,063	0,0607	1,32166
Pitna voda	0,142	0,142	0,142	0,1420	4,486381
San terra	0,251	0,250	0,250	0,2503	8,701686
Rajec	0,158	0,158	0,160	0,1587	5,13489
Magnesia	0,039	0,038	0,040	0,0390	0,478599
Bonaqua	0,070	0,070	0,067	0,0690	1,645914
Aquila	0,141	0,141	0,137	0,1397	4,39559
Aqua anna	0,118	0,118	0,118	0,1180	3,552529
Toma natura	0,159	0,162	0,161	0,1607	5,212711
Studna	1,906	1,906	1,907	1,9063	73,13748

Pro ověření správnosti metody s kyselinou salicylovou byla provedena reprodukovatelnost této metody. Výsledky srovnání reprodukovatelnosti jsou v níže uvedené tabulce.

Tab. 7 Reprodukovatelnost

	měření 1	měření 2	měření 3	průměr [ø]	c (mg/l)
Pitná voda	0,344	0,349	0,346	0,3463	12,43709
	0,390	0,395	0,399	0,3947	14,31777
	0,303	0,302	0,301	0,3020	10,71206
	0,280	0,283	0,279	0,2807	9,881971
	0,280	0,283	0,284	0,2823	9,946822
Magnesia	0,116	0,116	0,115	0,1157	3,461738
	0,116	0,114	0,115	0,1150	3,435798
	0,107	0,106	0,107	0,1067	3,111543
	0,130	0,125	0,127	0,1273	3,915694
	0,102	0,103	0,103	0,1027	2,955901

Ze statistického hlediska se typické případy ze souboru dat pitné vody od sebe navzájem liší. Hodnota směrodatné odchylky je 1,7006. U Magnesie se hodnoty koncentrace tolik neliší. Hodnota směrodatné odchylky je 0,3312. Lze tedy konstatovat, že u vyšší koncentrace dusičnanů je odchylka větší než u nižší koncentrace.

8.2 Stanovení dusičnanů ve vodě absorpční spektrofotometrií v UV oblasti spektra

Vzorek byl nalit do kyvety z křemenného skla o délce 1 cm a byla změřena absorbance při 220 nm a následně i při 250 nm.

Koncentrace byla vypočítána podle vztahu:

$$CV = (AV_{220} - AV_{250}) \cdot CS / (AS_{220} - AS_{250})$$

Kde CV je koncentrace vzorku, CS je koncentrace standardu, AV_{220} a AV_{250} jsou absorbance vzorku při 220 nm a 250 nm a AS_{220} a AS_{250} jsou absorbance standardu při 220 nm a 250 nm. (21)

8.2.1 Kalibrace

Pro správné stanovení dusičnanů ve vodě bylo opět třeba provést kalibraci.

Tab. 8 Kalibrace dusičnanů ve vodě

c (mg/l)	A220	A250	A220-A250
0,2	0,0079	-0,002	0,0099
0,5	0,023	-0,0048	0,0278
1	0,0581	-0,0011	0,0592
5	0,3293	0,0136	0,3157
10	0,5972	-0,0011	0,5983
20	1,1866	0,0065	1,1801
30	1,715	0,0027	1,7123
40	2,1569	0,0055	2,1514
50	2,442	0,0066	2,4354

Závislost absorbance na koncentraci NO_3^- zobrazuje graf č. 2 uveden v příloze č.2.

8.2.2 Výsledky měření a diskuse

Na základě dat získaných z kalibračního grafu se sestavila kvadratická rovnice přímky pro výpočet neznámé koncentrace vzorku.

Tab. 9 Seznam výsledků pro jednotlivé vzorky

vzorek	A220	A250	A220-A250	c (mg/l)
Saguaro	0,0975	-0,001	0,0985	1,61
Odysseus	0,0028	-0,0073	0,0101	0,19
Bonny	0,0005	-0,0128	0,0133	0,24
Pitna voda	0,7399	-0,008	0,7479	12,42
San terra	0,7338	-0,0025	0,7363	12,22
Rajec	0,4779	0,0019	0,476	7,81
Magnesia	0,0292	0,0179	0,0113	0,21
Bonaqua	0,3905	0,0125	0,378	6,18
Aquila	0,373	0,0102	0,3628	5,93
Aqua anna	0,3942	-0,0023	0,3965	6,48
Toma natura	0,3991	-0,0016	0,4007	6,55
Studna	2,7194	0,0436	2,6758	50,06

Pro ověření správnosti metody absorpční spektrofotometrie v UV oblasti spektra byla opět provedena reprodukovatelnost. Výsledky srovnání reprodukovatelnosti jsou v níže uvedené tabulce.

Tab. 10 Reprodukovatelnost

Magnesia		Pitná voda	
A220	c (mg/l)	A220	c (mg/l)
0,0238	0,4306	0,7272	11,9641
0,023	0,4180	0,7277	11,9726
0,0242	0,4369	0,7271	11,9624
0,0239	0,4322	0,7275	11,9692
0,0245	0,4417	0,727	11,9607
0,0242	0,4369	0,726	11,9436
0,0237	0,4290	0,7287	11,9897
0,0239	0,4322	0,7293	12,0000
0,0235	0,4259	0,7293	12,0000
0,0246	0,4432	0,7308	12,0256

Podle mého názoru se jednotlivé měření shodují. Byla vypočítána směrodatná odchylka s hodnotou 0,007124.

8.3 Stanovení dusičnanů pomocí iontově selektivní elektrody

Do kádinky byl nalit vzorek, do kterého se následně ponořila dusičnanová selektivní elektroda a byl změřen elektrický potenciál.

8.3.1 Kalibrace

Pro správné stanovení dusičnanů ve vodě bylo opět třeba provést kalibraci. Závislost absorbance na koncentraci NO_3^- zobrazuje graf č. 3 uveden v příloze č.3.

Tab. 11 Kalibrace

c (mg/l)	log c	E [mV]
50	1,69897	39
40	1,60206	46
30	1,477121	54
20	1,30103	66
10	1	87
5	0,69897	102
1	0	145
0,5	-0,30103	159

8.3.2 Výsledky měření a diskuse

Ze známé koncentrace byl vypočítán logaritmus nutný pro sestavení grafu závislosti elektrického potenciálu na logaritmu koncentrace. Výsledné body v grafu byly proloženy přímkou, z které se určila rovnice přímky. Podle této rovnice byla vypočítána neznámá koncentrace dusičnanů ve vzorcích.

Tab. 12 Seznam výsledků pro jednotlivé vzorky

vzorky	E[mV]	kal2	c (mg/l)
Saguaro	82	1,0217	10,5128
Odyseus	83	1,0051	10,1190
Bonny	113	0,5078	3,2195
Pitná voda	46	1,6185	41,5465
San Terra	59	1,4030	25,2940
Rajec	55	1,4693	29,4666
Magnesia	115	0,4746	2,9829
Bonaqua	58	1,4196	26,2782
Aquila	59	1,4030	25,2940
Aqua Anna	55	1,4693	29,4666
Toma	63	1,3367	21,7122
Studna	-1	2,3977	249,8689

8.3.3 Kalibrace s chloridem sodným

Z experimentálních důvodů byl do vzorků přidán chlorid sodný. Proto bylo třeba provést novou kalibraci. Viz. Tabulka níže.

Tab. 13 Kalibrace (s chloridem sodným)

c (mg/l)	log c	E [mV]
0,1	-1	80
0,2	-0,69897	79
0,5	-0,30103	78
1	0	70
5	0,69897	63
10	1	53
20	1,30103	39
30	1,47712	32
40	1,60206	27
50	1,69897	22

Závislost absorbance na koncentraci NO_3^- zobrazuje graf č. 4 uveden v příloze č.4.

8.3.4 Výsledky měření s chloridem sodným a diskuse

Tab. 14 Seznam výsledků pro jednotlivé vzorky

vzorky	E [mV]	log c	c (mg/l)
Saguaro	41	1,2704	18,6372
Odyseus	52	0,9615	9,1507
Bonny	55	0,8668	7,3586
Pitná voda	25	1,6489	44,5517
San Terra	28	1,5826	38,2510
Rajec	28	1,5826	38,2510
Magnesia	63	0,5811	3,8118
Bonaqua	28	1,5826	38,2510
Aquila	28	1,5826	38,2510
Aqua Anna	27	1,6049	40,2649
Toma	40	1,2961	19,7751
Studna	-10	2,3165	207,2748

Pro ověření správnosti metody pomocí iontově selektivní elektrody byla opět provedena reprodukovatelnost. Výsledky srovnání reprodukovatelnosti jsou v níže uvedené tabulce.

Tab. 15 Reprodukovatelnost (s chloridem sodným)

Pitná voda			Magnesia		
E [mV]	log c	c (mg/l)	E [mV]	log c	c (mg/l)
25	1,6489	44,5517	63	0,5811	3,8118
25	1,6489	44,5517	64	0,5409	3,4744
26	1,6270	42,3641	64	0,5409	3,4744
25	1,6489	44,5517	64	0,5409	3,4744
26	1,6270	42,3641	61	0,6581	4,5510

Podle mého názoru se jednotlivé měření pitné vody od sebe liší. Hodnota směrodatné odchylky je 0,7920 a u jednotlivých měření vody Magnesia se od sebe hodnoty neliší. Hodnota směrodatné odchylky je 0,0953.

Tab. 16 Reprodukovatelnost (bez chloridu sodného)

Pitná voda			Magnesia		
E [mV]	log c	c (mg/l)	E [mV]	log c	c (mg/l)
46	1,618534	41,5465	113	0,507792	3,219525
46	1,618534	41,5465	112	0,52437	3,344799
46	1,618534	41,5465	112	0,52437	3,344799
45	1,635113	43,16311	111	0,540948	3,474948
45	1,635113	43,16311	113	0,507792	3,219525

Hodnota směrodatné odchylky výsledné koncentrace pitné vody je 1,0717 a u vody Magnesia je hodnota směrodatné odchylky 0,4179. Z těchto výsledků vyplývá, že použití chloridu sodného nám nijak nepomohlo.

9 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit dusičnany v různých balených pitných vodách třemi různými metodami a výsledky použitých metod vzájemně porovnat. Byly použity následující metody:

- Spektrofotometrické stanovení dusičnanu pomocí kyseliny salicylové.
- Absorpční spektrofotometrické stanovení dusičnanů v UV oblasti spektra
- Potenciometrické stanovení dusičnanů iontově selektivní elektrodou.

V této kapitole bych ráda zhodnotila a srovnala výsledky jednotlivých metod. Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že u všech analyzovaných vzorků vod byl obsah dusičnanů slučitelný s normou kromě vody odebrané ze studny. Proto tuto vodu nemůžeme zařadit mezi pitné vody.

Výsledky jednotlivých metod se od sebe navzájem lišily, proto nelze jednoznačně určit, která z metod je pro toto stanovení nejvhodnější. Podle mého názoru se stanovení dusičnanu absorpční spektrofotometrií v UV oblasti spektra nejvíce přiblížilo hodnotám uvedených na etiketách výrobků. Celkový přehled srovnání výsledků je zobrazen v níže uvedené tabulce.

Tab. 17 Srovnání zjištěných koncentrací NO_3^- (v mg/l) u jednotlivých vod

	UV	Elektroda	Kys. Salicylová	Kys. Salicylová s NaCl	Výrobce
Saguaro	1,61	10,5	1,56	18,64	5,66
Odyseus	0,19	10,1	1,186	9,15	neuveďeno
Bonny	0,24	3,2	1,235	7,36	< 2,00
Pitna voda	12,42	41,54	4,19	44,55	neuveďeno
San terra	12,22	25,3	8,13	38,25	11,70
Rajec	7,81	29,5	4,798	38,25	7,30
Magnesia	0,21	2,98	0,447	3,81	neuveďeno
Bonaqua	6,18	26,27	1,538	38,25	6,18
Aquila	5,93	25,29	4,1	38,25	6,09
Aqua anna	6,48	29,47	3,32	40,26	6,15
Toma natura	6,55	21,7	4,872	19,78	5,90
Studna	50,06	249,9	68,35	207,27	neuveďeno

Při porovnání časové náročnosti jednotlivých testů, můžeme konstatovat, že nejmenší časová náročnost je u metody absorpční spektrofotometrie v UV oblasti spektra. Největší časová náročnost je u metody využívající kyselinu salicylovou. Časová náročnost této me-

tody spočívala v nutnosti přípravy jednotlivých činidel, v odpařování vzorku, který bylo nutno odpařovat minimálně 10 minut a v neposlední řadě také v sestavení kalibrační přímky. Celková doba tohoto měření proto trvá kolem jedné hodiny.

Dále bych chtěla zhodnotit výhody a nevýhody jednotlivých metod. Výhodou potenciometrického stanovení dusičnanů iontově selektivní elektrodou je, že patří mezi poměrně rychlé metody použitelné přímo v terénu. Jeho nevýhodou je však vyšší pořizovací cena elektrody. Další rychlou alternativou je absorpční spektrofotometrie v UV oblasti spektra, avšak nevýhodou této metody je téměř nemožná práce v terénu z důvodu složité přenositelnosti zařízení. Poslední metoda využívající kyselinu salicylovou je nejlevnější ze všech uvedených metod, ale metoda je velmi zdlouhavá s vysokou pravděpodobností výskytu chyby při práci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Československá hygiena: časopis společnosti čs. hygieniků sekce čs. lékařské společnosti. J.E.PURKYNĚ. Praha: SZDN, 1956-1993. ISSN 0009-0573.
- [2] PRUGAR, Jaroslav a PRUGAROVÁ, Anna. *Dusičnany v zelenine*. Vyd.1. Bratislava : s.n., 1985.
- [3] ZIMOVÁ, Dana. *Hnojení s ohledem na problematiku dusíku v pásmech pitných vod:(studijní zpráva)*. Praha: Ústav vědeckých informací pro zemědělství, 1992. 43s. Studijní informace ÚVTIZ. Ř. Rostlinná výroba
- [4] MIKUŠKA, P.; VEČEŘA, Z. *Simultaneous determination of nitrite and nitrate in water by chemiluminescent flow-injection analysis*. Brno : s.n., October 2003. pp. 225-232.
- [5] BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M. *A review of emerging absorbents for nitrates removal from water*. Porto, Portugal : s.n., April 2011. pp. 493-504.
- [6] MALÝ, Josef a MALÁ, Jitka. *Chemie a technologie vody*. 2., dopl. vyd. Brno : ARDEC s.r.o., 2006. xii, 331 s. ISBN 80-86020-50-9.
- [7] ÚLEHLOVÁ, Blanka. *Koloběh dusíku v travních ekosystémech*. Vyd.1. Praha, 1989.
- [8] BIELEK, Pavol. *Dusík v půdě a jeho premeny*. Vyd.1. Bratislava : s.n., 1984.
- [9] UHLÍŘ, Zdeněk. *Agrochemie*. Vyd. 1. Pardubice : s.n., 1981.
- [10] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 1999. 342 s. ISBN 80-902391-5-3.
- [11] HORÁKOVÁ, Marta, Alexander GRÜNWARD a Peter LISCHKE. *Chemické a fyzikální metody analýzy vod.: Vysokoškol. příručka pro stud. vys. šk. chemickotechnol. stud. oboru 28-05-8 Technologie vody* . Praha, 1989.
- [12] HILL, Michael. *Nitrates and nitrites in food and water*. Cambridge : Woodhead Publishing, 1996. p. 208. ISBN 978-1-85573-282-7.
- [13] TUREK, Bohumil. *Hygienické problémy vyplývající ze zvyšování obsahu dusičnanů v poživatinách*. Praha : [s.n.], 1985. Sv. 1.
- [14] KVĚT, Radovan. *Současné poznatky o kontaminaci vod dusičnany*. Vyd.1. Olomouc : s.n., 1974.
- [15] ŽÁČEK, Ladislav. *Chemické a technologické procesy úpravy vody*. Vyd. 1. Brno : NOEL2000, 1999. 239 s. ISBN 80-86020-22-2.

[16] vyhláška 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody

[17] STRNADOVÁ, Nina a JANDA, Václav. *Technologie vody I.* Vyd.2.,přepřac. Praha : VŠCHT, 1999. 226s ISBN 80-7080-348-7.

[18] vyhláška 275/2004 Sb., o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a způsobu jejich úpravy

[19] Metody stanovení dusičnanů. [Cit.23.1.2013]. Dostupné z WWW: <www.eurochem.cz>

[20] Jednotné metody chemického rozboru vod.1.vyd. Praha : s.n., 1965.

[21] PŘÍRUČKA HYDROCHEMICKÝCH METOD [online]. [Cit.23.1.2013]. Dostupné z: <http://www.blatna.cuni.cz/prirucka.rtf>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CV Koncentrace vzorku.

EKG Elektroardiogram.

UV Ultrafialové záření.

SEZNAM OBRÁZKŮ

OBRÁZEK 1 BIOCHEMICKÉ PŘEMĚNY V KOLOBĚHU DUSÍKU	12
OBRÁZEK 2 SCHÉMA ROZDĚLENÍ DENITRIFIKACE	14
OBRÁZEK 3 KOLOBĚH DUSÍKU V PŘÍRODĚ:	15
OBRÁZEK 4 SCHÉMA PŘEMĚNY DUSÍKU V PŮDĚ	16

SEZNAM TABULEK

TAB. 1 LIMITNÍ OBSAH DUSITANŮ A DUSIČNANŮ V PITNÝCH VODÁCH	20
TAB. 2 LIMITNÍ OBSAH DUSITANŮ A DUSIČNANŮ V BALENÝCH VODÁCH	21
TAB. 3 LIMITNÍ OBSAH DUSITANŮ A DUSIČNANŮ V KOJENECKÝCH A PRAMENITÝCH VODÁCH	21
TAB. 4 PŘÍJEM DUSIČNANŮ V ZÁVISLOSTI NA VĚKU A KONCENTRACI	25
TAB. 5 KALIBRACE DUSIČNANŮ VE VODĚ	32
TAB. 6 SEZNAM VÝSLEDKŮ PRO JEDNOTLIVÉ VZORKY	33
TAB. 7 REPRODUKOVATELNOST	33
TAB. 8 KALIBRACE DUSIČNANŮ VE VODĚ	34
TAB. 9 SEZNAM VÝSLEDKŮ PRO JEDNOTLIVÉ VZORKY	35
TAB. 10 REPRODUKOVATELNOST	35
TAB. 11 KALIBRACE	36
TAB. 12 SEZNAM VÝSLEDKŮ PRO JEDNOTLIVÉ VZORKY	36
TAB. 13 KALIBRACE (S CHLORIDEM SODNÝM)	37
TAB. 14 SEZNAM VÝSLEDKŮ PRO JEDNOTLIVÉ VZORKY	37
TAB. 15 REPRODUKOVATELNOST (S CHLORIDEM SODNÝM)	38
TAB. 16 REPRODUKOVATELNOST (BEZ CHLORIDU SODNÉHO)	38
TAB. 17 SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ	39

SEZNAM PŘÍLOH

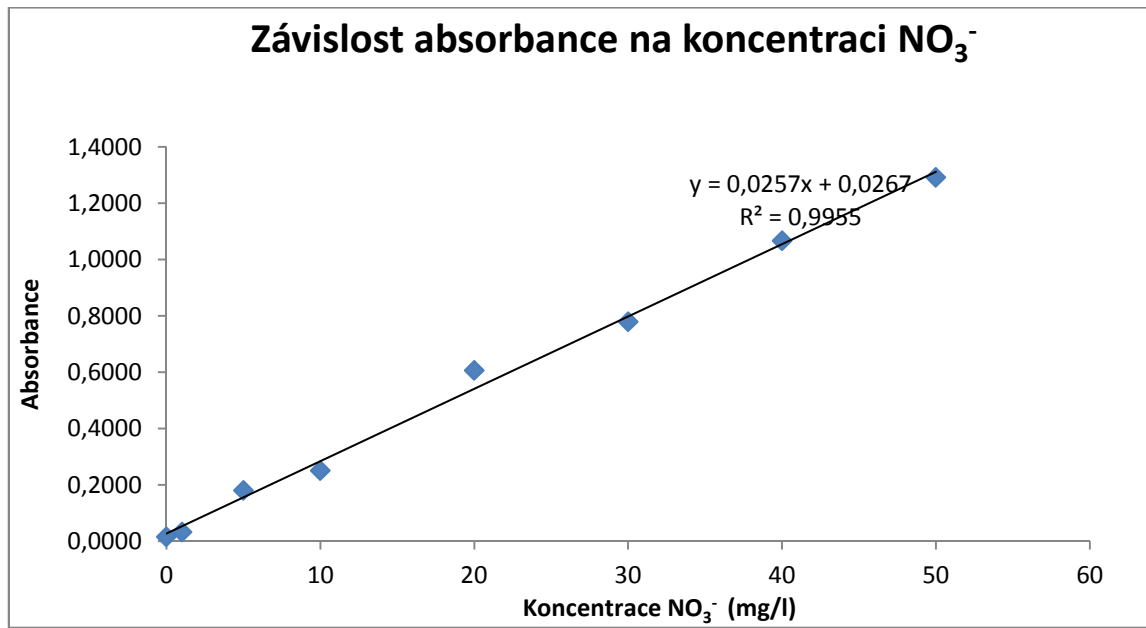
Příloha P I: Závislost absorbance na koncentraci NO_3^-

Příloha P II: Závislost absorbance na koncentraci NO_3^-

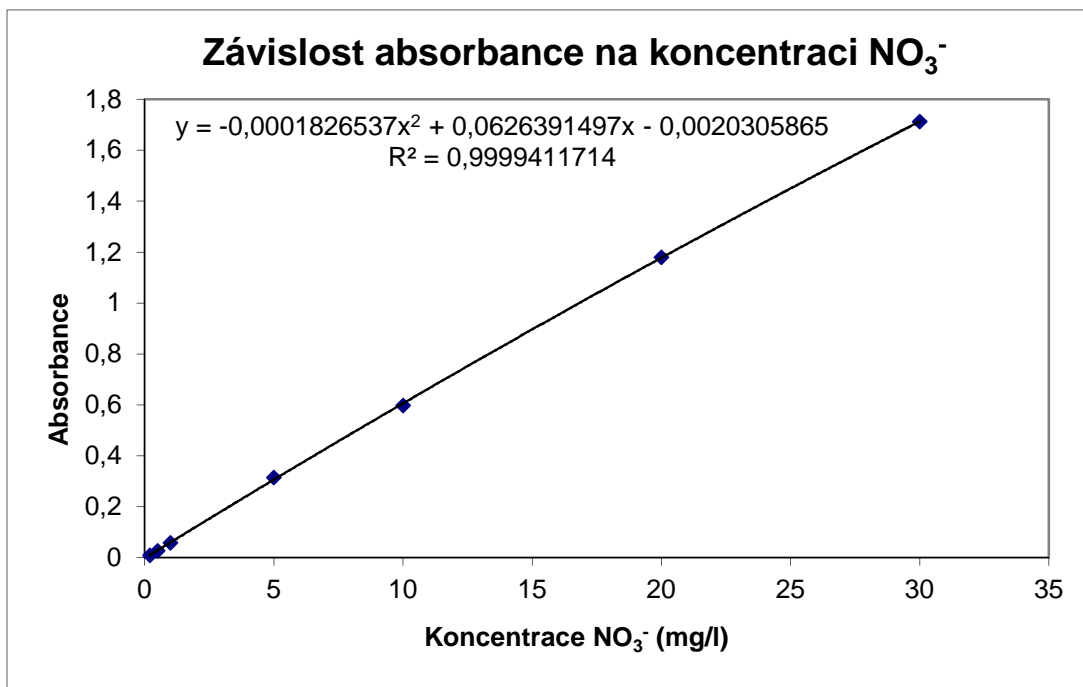
Příloha P III: Závislost elektrického potenciálu na logaritmu koncentrace NO_3^-

Příloha P IV: Závislost elektrického potenciálu na logaritmu koncentrace NO_3^-

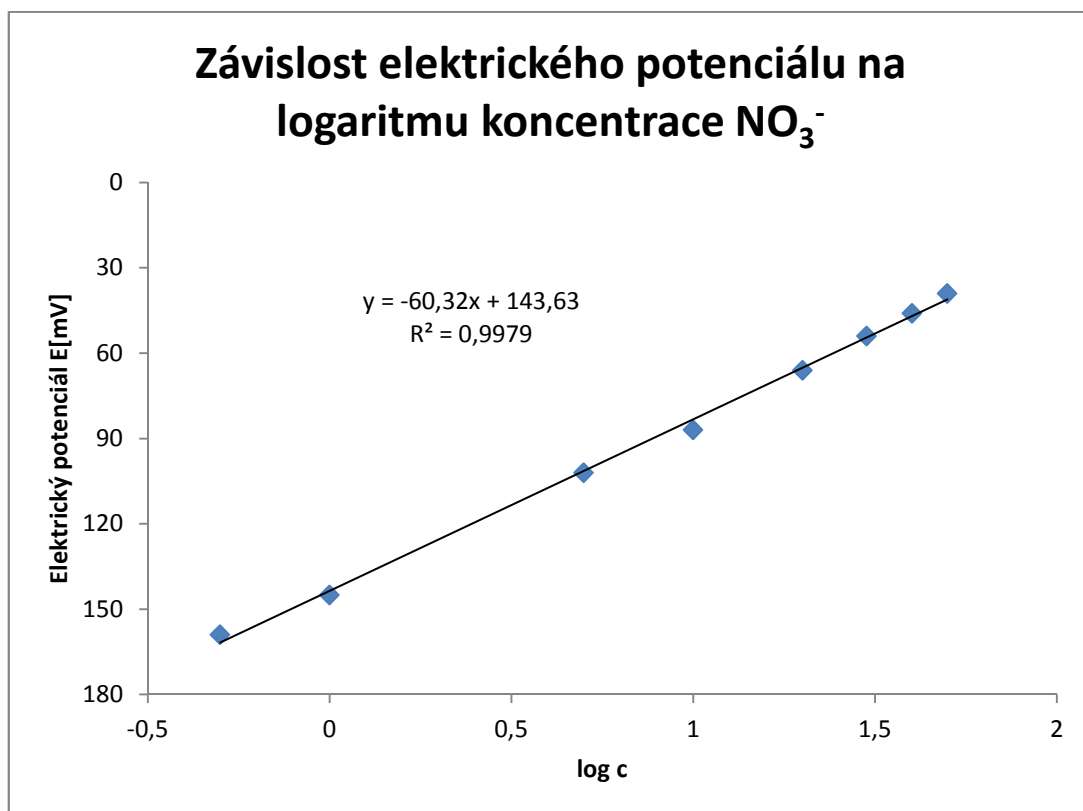
PŘÍLOHA PI: ZÁVISLOST ABSORBANCE NA KONCENTRACI NO_3^-



PŘÍLOHA P II: ZÁVISLOST ABSORBANCE NA KONCENTRACI NO_3^-



PŘÍLOHA P III: ZÁVISLOST ELEKTRICKÉHO POTENCIÁLU NA LOGARITMU KONCENTRACE NO_3^-



PŘÍLOHA P IV: ZÁVISLOST ELEKTRICKÉHO POTENCIÁLU NA LOGARITMU KONCENTRACE NO_3^-

