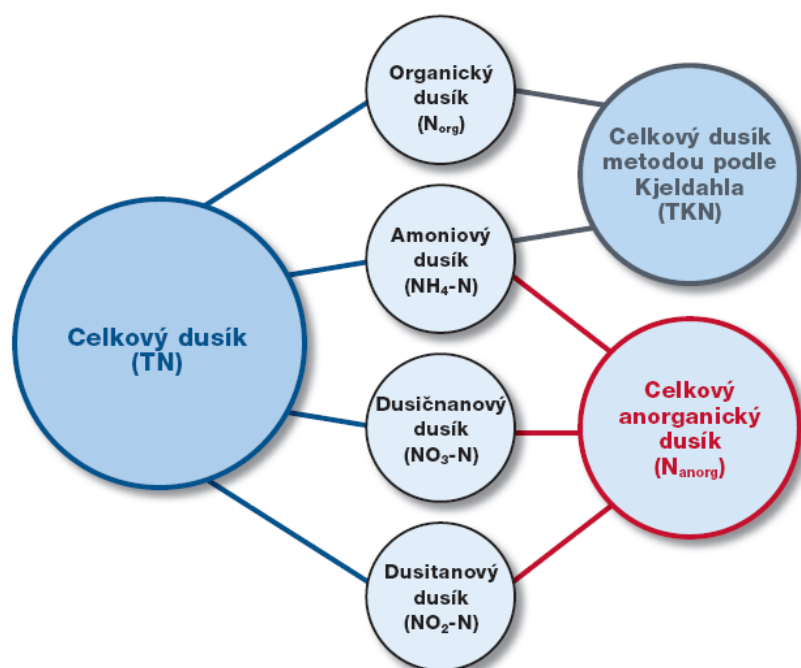


## Stanovení obsahu sloučenin dusíku ve vodách

### Úvod:

**Celkový dusík** je součtem všech forem anorganicky ( $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ , ...) a organicky (močovina, aminokyseliny, nukleové kyseliny, aminy, nitro- a nitrózosloučeniny, ...) vázaného dusíku (**Obr.1**). Mezi jednotlivými formami se vyskytuje rovnováha, ve které působí biologické procesy několika typů bakterií, příjem a uvolňování z organismů, výměna mezi sedimenty dna a vodním sloupcem. Dusík ve vodním prostředí nebývá limitujícím prvkem. Jeho snížená koncentrace koresponduje s vysokým nárůstem fytoplanktonu zejména ve vegetačním období. Maxima koncentrace dusíku jsou zaznamenána na nádržích s vytvořeným vodním květem (eutrofizace vod).



**Obr.1:** Schéma nejčastěji stanovených forem dusíku (převzato z Aplikační zprávy fy. HACH LANGE)

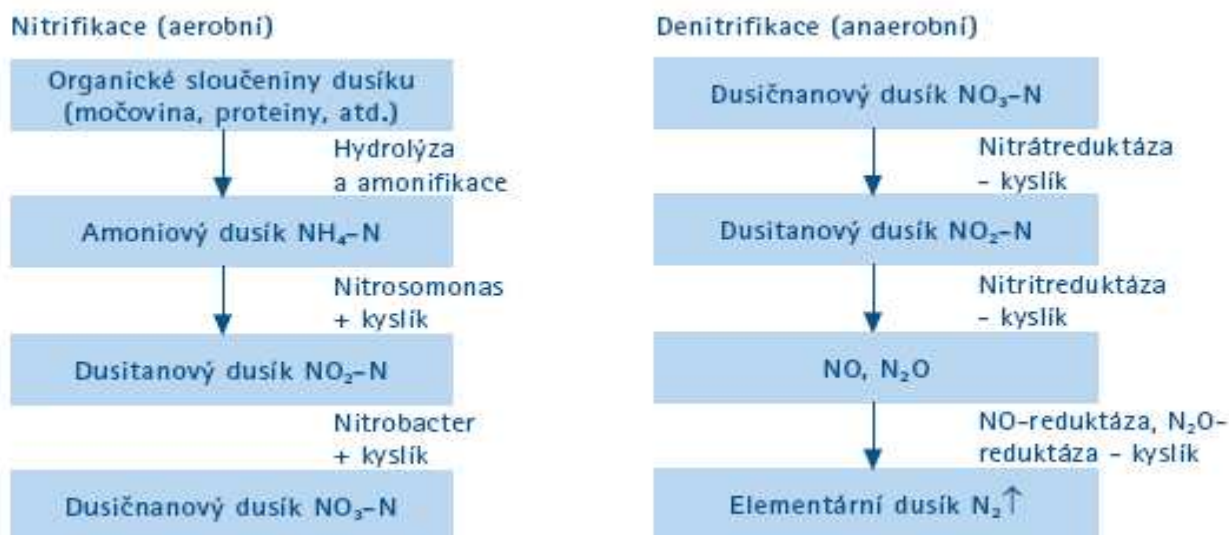
Ve vodním prostředí se dusík nachází především ve formě  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$  a  $\text{NO}_3^-$ . **Amoniakální dusík** se ve vodě vyskytuje v hydratovaném stavu ( $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) nebo ve formě kationtu  $\text{NH}_4^+$ , jejich poměrné zastoupení závisí na pH vody. Při  $\text{pH} < 8$  se nachází ve formě  $\text{NH}_4^+$ , při  $\text{pH} = 9,3$  a teplotě  $20^\circ\text{C}$  v poměru 1:1, při  $\text{pH} > 10$  v podobě nedisociovaného toxického hydrátu  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Amoniakální dusík pochází především z rozkladu organických látek a patří mezi zvláštní ukazatele chemického složení vod, podle nichž se povrchové vody řadí do tříd čistoty. Pitná voda obsahuje maximálně do  $0,5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+\text{-N}$  a  $0,01\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_3$ . Čisté povrchové a podzemní vody obsahují do  $0,1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , dešťové vody  $\text{mg}$  až desítky  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , splaškové odpadní vody desítky  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , rybníčky a močůvky stovky  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NH}_4^+\text{-N}$ .

**Dusičnany** jsou konečným produktem rozkladu organicky vázaného dusíku. Větší množství dusičnanů se do vody dostává při jejich používání v zemědělství ve formě hnojiv (především minerálních) a ze znečištění prostředí lidskými a zvířecími výkaly. Dalším zdrojem jsou atmosférické srážky či ve vodách probíhající nitrifikace (**Graf 1**). Povrchové a podzemní vody obsahují jednotky až desítky  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , srážkové vody pak desetiny až desítky  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NO}_3^-\text{-N}$ . Norma [ČSN 83 0611] pro pitnou vodu je  $50\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NO}_3^-\text{-N}$  pro dospělé. Tato hodnota přesahuje obsah dusičnanů, při níž smí být voda používána pro kojení. Dusičnany jsou primárně ve vodě pro člověka málo závadné, sekundárně jako dusitany mohou být příčinou dusičnanové methemoglobinaemie. V povrchových vodách souvisí obsah dusičnanů se stupněm eutrofizace a také patří mezi zvláštní ukazatele chemického složení povrchových vod, podle nichž se povrchové vody řadí do tříd čistoty.

**Dusitany** se ve vodách vyskytuje jako meziproduct biologických procesů nitrifikace a denitrifikace (**Graf 1**), v menší míře pak i ze srážek z atmosféry. Koncentrace dusitanů v povrchových i podzemních vodách je zpravidla malá – setiny až desetiny  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NO}_2^-\text{-N}$ . Již setiny  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$   $\text{NO}_2^-\text{-N}$  mohou být toxické pro ryby.

Norma [ČSN 83 0602] připouští maximálně 0,1 mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N v pitné vodě. Samy o sobě jsou dusitany v pitné vodě zdravotně závadné (methemoglobinaemie). Podobně jako amoniakální dusík patří dusitany mezi významné indikátory fekálního znečištění přírodních vod.

**Graf 1:** Rozkladné procesy v souvislosti s eliminací dusíku  
(převzato z Aplikační zprávy fy. HACH LANGE)



- oxidace NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N na NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N (bakterie *Nitrosomonas*, *Nitrococcus*) a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N dále na NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (bakterie *Nitrococcus*, *Nitrocystis*)
- hlavně lithotrofní autotrofové (zdrojem C je CO<sub>2</sub>)

- redukce NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N a NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N na N<sub>2</sub> (také na N<sub>2</sub>O a NO)
- striktně či fakultativně organotrofní bakterie (zdrojem C je organický substrát)

Sloučeniny dusíku mají na povrchové vody řady různých účinků

- N<sub>org</sub> výrazně snižuje obsah kyslíku
- NH<sub>4</sub><sup>+</sup> snižují obsah kyslíku; při pH > 8 jsou toxické pro ryby
- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> jsou eutrofizující
- NO<sub>2</sub><sup>-</sup> jsou vysoce toxické pro ryby

Nadměrné množství živin (včetně sloučenin dusíku) má za následek vznik eutrofizace vod. Jedná se o složitý proces obohacování stojatých a tekoucích povrchových vod živnými minerálními látkami, které zpětně vedou ke zvýšení biologické produkce a k nežádoucímu zarůstání vodního biotopu. Prvotním signálem počínající eutrofizace na vodním biotopu je nárůst planktonních sinic, řas a vodních makrofyt. Dále dochází ke zhoršování hydrochemického a kyslíkového režimu, ke vzniku a hromadění jedovatých plynů, k nepříznivým kyslíkovým poměrům u dna a ke zmenšení produkční plochy nádrží zarůstáním. Biocenóza fytoplanktonu je poměrně chudá, zvyšuje se zákal a tudíž se snižuje průhlednost vody, v jednotlivých vrstvách vody během letní stratifikace jsou zaznamenány značné změny koncentrace kyslíku a zvýšení koncentrace živin.

Eutrofizace vod představuje v současné době jednu z hlavních příčin degradace přírodních a přírodě blízkých vodních a mokřadních ekosystémů. Ztráta funkcí těchto složek krajiny představuje závažný problém mající v konečném důsledku negativní dopad v rámci celého krajinného systému.

#### Účinky na zdraví člověka

Zvýšený výskyt dusičnanů (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) ve vodách může být příčinou dusičnanové methemoglobinaemie (reverzibilní zablokování funkce hemoglobinu dusitany (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)) u kojenců (norma pro kojence je 15mg.l<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N ve vodě). Dusičnany (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se v trávicím traktu redukují na dusitany (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) a vytvářejí z hemoglobinu jeho methemoglobin, který není schopný přenášet kyslík z plic do tkání. Onemocnění se projevuje cyanózou (promodralé zbarvení kůže a sliznic, které se objevuje při nedostatečném okysličení krve). Dusitany (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) se absorbují v krvi, přičemž vzniká reverzibilní hemoglobiémie.

Akutní otrava se projevuje při nižších koncentracích mírnou iritací spojivek a sliznic horních cest dýchacích. Doprovodným jevem je bolest na prsou, pokašlávání, těžké dýchání se vznikem edému plic a někdy i hemoptoe (vykašlávání krve z plic). Při inhalaci vysokých koncentrací vzniká šokový stav s křečemi, útlumem dýchacího centra a může skončit náhlou smrtí.

Chronická otrava se projevuje bolestmi hlavy a pocitem únavy. K dalším příznakům patří chronické zápaly spojivek a horních cest dýchacích, sklon k hypotenzii (nízký krevní tlak) a zvýšené hodnoty methemoglobinu v krvi. Chronické otravy mívají za následek zvýšené počty červených krvinek a zvýšenou kazivost zubů.

### Normy a standardizace analýz

Základním právním předpisem Evropského parlamentu a Rady ustavujícím rámec pro činnost Společenství v oblasti vodní politiky členských států je „Rámcová vodní směrnice“ **2000/60/ES** z 23. října 2000. Od této směrnice se odvíjí další evropská legislativa a od této evropské legislativy se odvíjí naše česká legislativa.

Směrnice EU související s pitnou vodou:

- **98/83/EC** Směrnice pro pitnou vodu;
- **75/440/EHS** Směrnice o požadované jakosti povrchových vod určených k odběru pitné vody;
- **79/869/EHS** Směrnice o metodách měření, četnosti odběrů a rozborů povrchových vod určených o odběru pitné vody;
- **91/676/EHS** Směrnice o ochraně vod před znečištěním způsobeném dusičnany ze zemědělských zdrojů - tzv. Nitrátová směrnice;
- **2006/118/ES** Směrnice o ochraně podzemních vod před znečištěním a zhoršováním stavu;
- **2006/11/ES** Směrnice o znečišťování některými nebezpečnými látkami vypouštěnými do vodního prostředí

Směrnice EU související s odpadní vodou:

- **2006/11/ES** Směrnice o znečišťování některými nebezpečnými látkami vypouštěnými do vodního prostředí

Veškerá legislativa v oblasti vodního hospodářství se odvíjí od zákona č. **254/2001 Sb.** O vodách v platném znění („Vodní zákon“). V roce 2004 byla vydaná jeho euronovela zákonem č. **20/2004 Sb.** Tento zákon má chránit povrchové a podzemní vody, stanovit podmínky pro její hospodárné využití a v neposlední řadě i vytvořit podmínky pro zlepšení jakosti povrchových i podzemních vod.

V případě povrchových vod se sleduje chemický stav (tzv. prioritní látky) a stav ekologický (biologické složky, hydromorfologie a některé fyzikálně-chemické a chemické parametry). U podzemních vod se sleduje stav kvantitativní a chemický.

### Princip analytických metod

*Stanovení amoniaku ( $NH_3$ ) a amonných solí ( $NH_4^+$ )*

Množství  $NH_3$  a  $NH_4^+$  můžeme stanovit např. těmito třemi metodami:

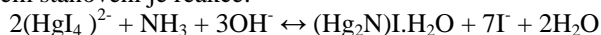
#### **1) Spektrofotometrické stanovení amoniaku a amonných solí ve formě indofenolu**

- tento postup využívá modré zbarvení indofenolu, který se tvoří reakcí s chlornanem sodným ( $NaClO$ ) a fenolem ( $HO-C_6H_5$ )

- na stanovení se používá asi  $10\text{cm}^3$  vzorku vody s obsahem  $NH_3$   $0,5-6\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , ke kterému se přidá směsný roztok fenolu a nitroprusidu sodného a směsný roztok hydroxidu sodného ( $NaOH$ ) a chlornanu sodného ( $NaClO$ ). Směs se nechá reagovat v termostatu při  $50^\circ\text{C}$  a na základě fotometrického měření při  $635\text{nm}$  a kalibračního grafu se stanoví obsah  $NH_3$ .

#### **2) Spektrofotometrické stanovení amoniaku a amonných solí s Nesslerovým činidlem**

- základem stanovení je reakce:



- zpracovává se asi  $30\text{cm}^3$  vzorku vody s přídatkem vínanu draselného s čerstvě připraveným Nesslerovým činidlem ( $1\text{g HgI}_4$ ,  $0,7\text{g KI}$  rozpuštěných v  $10\text{cm}^3$  10%  $NaOH$  - používá se čirý roztok činidla po sedimentaci). Postup vyhovuje při  $NH_3 > 0,05\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Vytvořený koloidní roztok aminojodidu rtuťnatého (orthortuťnatého) se fotometricky měří při  $410\text{nm}$ .

#### **3) Potenciometrické stanovení amoniaku a amonných solí amóniovou iontovo-selektivní elektrodou**

- ke vzorku vody  $50\text{cm}^3$  se přidá  $0,5\text{cm}^3$   $NaOH$  s  $c(\text{NaOH})=10\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  a měří se elektromotorické napětí článku  $NH_3$ -ISE vs SKE. Na měření se používají mV/pH-metr s vysokým vstupním odporem.

- vyhodnocuje se signál amóniové-ISE vs. SKE v prostředí s  $\text{pH} > 9$  a koncentrací  $NH_3$   $0,02-800\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

- při měření s  $NH_3$ -ISE se používají silné zásadité roztoky. Ve vzorcích s obsahem  $\text{Cl}_2$  (koupaliště) se  $\text{Cl}_2$  musí nejdříve redukovat přídatkem thiosíranu sodného ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ).

### Stanovení dusičnanů ( $\text{NO}_3^-$ )

Pro stanovení dusičnanů ( $\text{NO}_3^-$ ) ve vodách existují desítky metod a neexistuje nejlepší univerzální metoda. Stanovení je nutné provést v den odběru či vzorky vody konzervovat. Dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ) se ve vodách stanovují především spektrofotometricky, potenciometricky či pomocí iontově-selektivních elektrod:

#### 1) Spektrofotometrické stanovení dusičnanů

- přímé stanovení dusičnanů ( $\text{NO}_3^-$ ) spočívá ve schopnosti kyseliny dusičné ( $\text{HNO}_3$ ) nitrovat některé aromatické látky (brucin, salicylan sodný) za vzniku barevných nitroderivátů.
- při nepřímém stanovení dusičnanů se nejdříve dusičnany ( $\text{NO}_3^-$ ) redukuje, buď na dusitany ( $\text{NO}_2^-$ ) (tzv. Jonesovým reduktorem) v prostředí chloridu amonného ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), nebo na amoniakální dusík prostřednictvím Devardovy slitiny v alkalickém prostředí.

#### 2) Polarografická metoda

- založena na redukcí dusičnanů ( $\text{NO}_3^-$ ) na rtuťové kapkové elektrodě v slabě kyselém prostředí při katalytickém působení uranylových iontů.

#### 3) Stanovení dusičnanů polarograficky s použitím dusičnanové iontově-selektivní elektrody (ISE)

- nitrace  $2\text{ cm}^3$  vzorku za mírného chlazení, ke kterému se přidají  $2\text{ cm}^3$  fenolu ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ ) a  $8\text{ cm}^3$  koncentrované kyseliny sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Po 5 min. se vzorek polarografuje.

### Stanovení dusitanů ( $\text{NO}_2^-$ )

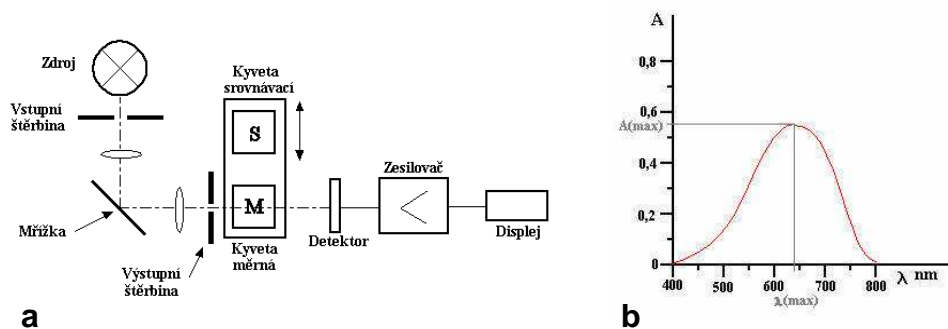
Dusitany ( $\text{NO}_2^-$ ) jsou ve vodě velmi nestálé, proto je důležité vzorky vody analyzovat ihned po odběru. Není-li to možné, je nutné vzorky vody konzervovat.

#### 1) Spektrofotometrické stanovení dusitanů

- princip metody stanovení dusitanů ( $\text{NO}_2^-$ ) spočívá ve schopnosti kyseliny dusité ( $\text{HNO}_2$ ) diazotovat aromatické aminokyseliny. Diazoniové soli, které při této reakci vznikly jsou kopulovány s jiným arylaminem za vzniku azobarviva, vhodného pro spektrofotometrické vyhodnocení.

### Spektrofotometrické metody analýzy

Optická metoda spočívající v měření absorpce (množství světla pohlceného měřeným vzorkem) světelného záření v analyzovaném roztoku. Měření lze podle povahy látek absorbujících světlo provádět ve viditelné ( $7,6 \cdot 10^{-7}$ - $3,9 \cdot 10^{-7}$ , tj. 760nm-390nm) a ultrafialové ( $3,9 \cdot 10^{-7}$ - $10^{-8}$ m, tj. 390nm-10nm) oblasti spektra, někdy i v infračervené ( $10^{-4}$ - $7,6 \cdot 10^{-7}$ , tj. 0,1-760nm) oblasti spektra. Měření se provádí při konstantní vlnové délce, která odpovídá maximu absorpce stanovovanou látkou. Pro roztoky o známé koncentraci se změří odpovídající absorpce a graficky se zobrazí závislosti absorpance (osa y) na koncentraci (osa x). Proměřením absorpance v roztoku o neznámé koncentraci absorbující látky se pak tato odečte z grafu.



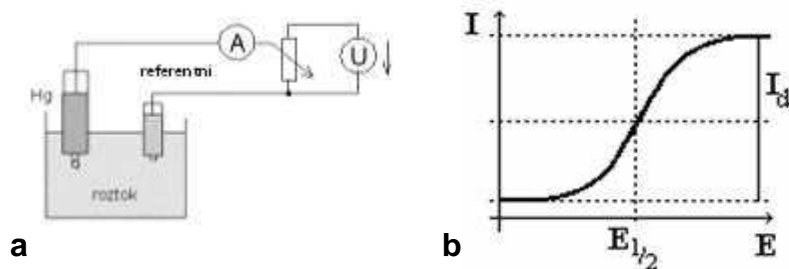
**Obr.2:** Zjednodušené schéma jednopaprskového spektrofotometru (a), absorpční křivka udávající závislost absorpance na vlnové délce (b) (Horáková et al. 1986)

$$A = \log (\Phi_0 / \Phi)$$

$\Phi_0$  ... tok světla (intenzita záření) na látku dopadající  
 $\Phi$  ... tok světla (intenzita záření) látkou prošlý

### Polarografie (Voltametrie)

Elektroanalytická metoda objevená prof. Jaroslavem Heyrovským (1890-1967), který jako první Čech za ni obdržel Nobelovu cenu za chemii (1959). Polarografie je založena na elektrolýze roztoku stanovované látky. Proud prochází roztokem mezi dvěma elektrodami, z nichž jedna je tzv. dokonale polarizovatelná (rtuťová kapková elektroda) a druhá je tzv. nepolarizovatelná (referentní, např. merkurosulfátová či kalomelová). Při polarografii se sleduje závislost proudu na lineárně vzrůstajícím stejnosměrném napětí, vkládaném na dvojici elektrod ponořených do roztoku (vkládané napětí odpovídá rozdílu potenciálů obou elektrod). Proud je omezen množstvím iontů v roztoku. Jakmile se množství vylučujících se iontů rovná počtu přicházejících iontů z roztoku, proud přestane růst (je dosaženo limitního proudu  $I_d$ ). Sledovaná závislost proudu na napětí má tvar vlny – polarografická křivka. Koncentrace příslušné látky se určí z velikosti nárůstu proudu a druh příslušné látky se určí z hodnoty půlvlnového potenciálu ( $E_{1/2}$ ).



**Obr.3:** Jednoduché schéma polarografu (a), polarografická křivka (b) (Horáková et al. 1986)

Pro limitní difúzní proud platí Ilkovičova rovnice (základní vztah pro kvantitativní využití polarografie):

$$\bar{I}_{\text{lim}} = 0,627zFD^{1/2}m^{2/3}\tau^{1/6}c = \kappa c$$

- $I_d$  ... limitní proud
- $z$  ... počet vyměněných elektronů
- $F$  ... Faradayova konstanta (96 485,309 C.mol<sup>-1</sup>)
- $D$  ... difúzní koeficient iontů v roztoku (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)
- $m$  ... průtoková rychlost rtuti (g.s<sup>-1</sup>)
- $\tau$  ... doba jedné kapky (s)
- $c$  ... koncentrace depolizátoru v roztoku (mol.l<sup>-1</sup>)

### Potenciometrie

Elektrochemická metoda, která využívá pro stanovení koncentrace sledované látky měření elektromotorického (rovnovážného) napětí (EMN) elektrochemických článků, kterými protéká prakticky nulový proud (v důsledku použití voltmetru s velkým vstupním odporem). Elektrochemický článek se skládá z elektrody měrné (indikační) ponořené do analyzovaného roztoku a elektrody srovnávací (referentní) spojenou s analyzovaným roztokem solným můstkem. Elektrický potenciál měrné elektrody závisí na koncentraci stanovované látky, potenciál srovnávací elektrody je konstantní. Elektromotorické (rovnovážné) napětí, které je rozdílem těchto dvou potenciálů, je mírou aktivity (koncentrace) sledované látky.

$$EMN = E_{\text{indikační el.}} + E_{\text{referentní el.}} \text{ (když } I=0\text{)}$$

Při přímé potenciometrii se jako indikační elektroda většinou používá skleněná elektroda, jako referentní pak argentochloridová. Pomocí nepřímé potenciometrie - potenciometrické titrace se hledá bod ekvivalence. Měří se při ní rovnovážné napětí článku po každém přidavku odměrného roztoku a z naměřených hodnot se sestavuje titrační křivka. Jako referentní elektroda se nejčastěji používá merkurosulfátová.

Rovnovážný (absolutní) potenciál kovové elektrody (E) závisí na aktivitě iontů kovu v roztoku podle Nernstovy rovnice:

$$E = E_{M^{z+}/M}^0 + \frac{RT}{zF} \ln a_{M^{z+}}$$

E ... potenciál elektrody

$E^0$  ... standardní elektrodový potenciál kovu o jednotkové aktivitě svých iontů

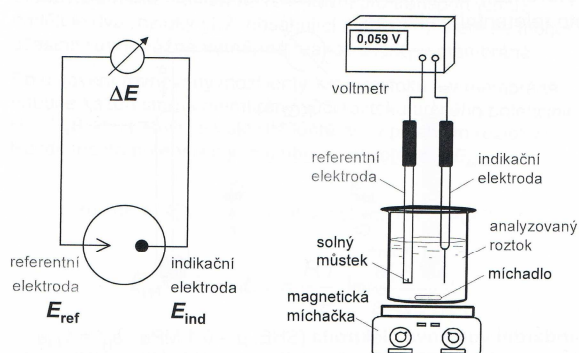
z ... počet vyměňovaných elektronů (oxidační číslo iontu kovu)

a ... aktivita iontů kovu (je přímo úměrná jeho koncentraci)

R ... molární plynová konstanta ( $8,314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$ )

T ... termodynamická teplota (v kelvinech)

F ... Faradayova konstanta ( $96\,485,309 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$ )



**Obr.4:** Základní uspořádání elektrochemické cely pro potenciometrická měření (Horáková et al. 1986)

## Provedení:

Na lokalitě odebereme vzorky k laboratornímu zpracování (dle pravidel správného vzorkování a konzervace vzorků, viz. metodický návod *Metody odběru vzorků, terénní analytické metody*). Pokud není možno provést analýzu ihned, je nutné vzorky ochladit (na 3°C - 4°C), zakonzervovat (např. na 100ml vzorku 0,3ml chloroformu (CHCl<sub>3</sub>)) a provést analýzu co nejdříve – tedy do 24 hodin po odběru. Laboratorní zpracování provedeme dle metodiky jednotlivých analýz Hach Lange na spektrofotometru DR 2000.

### Stanovení amonných iontů (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) na spektrofotometru DR 2000

**Potřeby:** malé kyvety s uzávěrem (5ml), stojan na kyvety (a), kapátko, pipeta, spektrofotometr (DR 2000 fa. HACH) (b), reagentie Nessler-Reagent HACH



**Postup:**

- vzorky vody necháme ohřát na pokojovou teplotu cca 20°C
- do jedné kyvety pipetou odměříme 5ml destilované vody (blank, slepý vzorek) a označíme
- pipetou odměříme 5ml analyzovaného vzorku a dáme do připravené a popsané kyvety (obdobně postupujeme u všech dalších analyzovaných vzorků)
- do všech kyvet (se vzorky i blankem) přidáme 3 kapky Nessler-Reagent, uzavřeme a promícháme
- necháme 10 minutách stát (max. 25 minut) a můžeme měřit (pokud jsou amonné ionty přítomny objeví se žluté zbarvení)
- měříme na spektrofotometru DR 2000:
  - 1) **POWER** (self test, čekat 15, 14, 13 ... method #?)
  - 2) zvolíme vlnovou délku **425nm** (kolečko na boku přístroje)
  - 3) zmáčkneme **0, READ, ENTER**
  - 4) vložíme kyvetu s blankem do spektrofotometru, dále **CLEAR, ZERO**
  - 5) vložíme kyvetu se vzorkem do spektrofotometru, dále **READ, ENTER**
    - na displeji se ukáže hodnota absorbance (zaznamenáme)

**Pozn.** v případě, že hodnota na displeji bliká, nutno ředit! Např. 10x : tj. 2,5 ml vzorku a 22,5 ml destilované vody a opakujeme znovu celý postup analýzy. Výslednou hodnotu na displeji násobíme 10x!

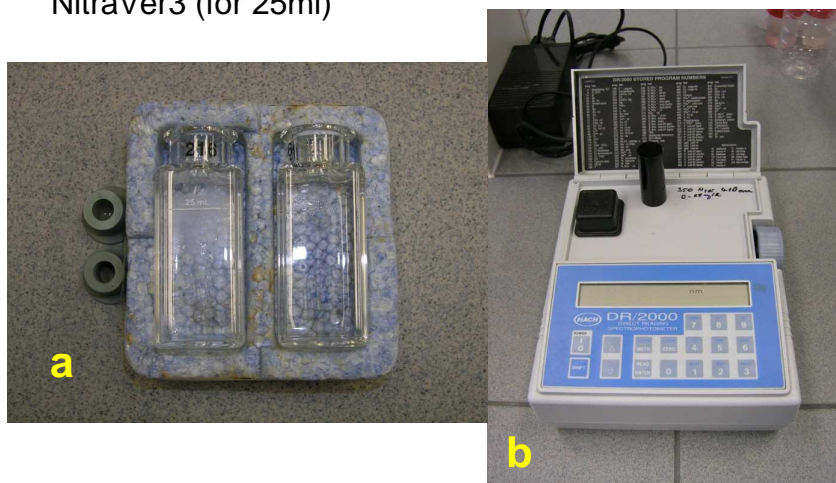
- 6) dále vkládáme jednotlivé kyvety se vzorky (a opakujeme postup č.5)
- 7) po dokončení analýzy spektrofotometr vypneme - **POWER**

8) výsledné hodnoty absorbancí se dále převedou pomocí grafu (na počítači) na výslednou hodnotu - množství v  $\text{mg.l}^{-1} \text{NH}_4^+$ .

**Výsledek:** Výsledkem měření jsou hodnoty absorbance (pro výpočet koncentrace v  $\text{mg/l}$  u jednotlivých vzorků použijeme kalibrační graf a výpočet provedeme na počítači, viz. níže „Vyhodnocení výsledků“).

### Stanovení dusičnanů ( $\text{NO}_3^-$ ) na spektrofotometru DR 2000

**Potřeby:** větší kyvety s uzávěrem (25ml), měřicí kyvety HACH (a), stojan, spektrofotometr (DR 2000 fa. HACH) (b), reagentie NitraVer6 a NitraVer3 (for 25ml)



**Postup:**

- vzorky vody necháme ohřát na pokojovou teplotu cca 20°C
- do jedné kyvety odměříme 25 ml destilované vody (blank, slepý roztok) a označíme
- odměříme 25ml analyzovaného vzorku a dáme do připravené a popsané kyvety (obdobně postupujeme u všech dalších analyzovaných vzorků)
- do všech kyvet (s vzorky i blankem) přidáme obsah 1 balení NitraVer6 a promícháme
- následně do všech kyvet (se vzorky i blankem) přidáme obsah 1 balení NitraVer 3 a promícháme
- necháme stát 5 minut a můžeme měřit na spektrofotometru DR 2000:
  - 1) **POWER** (self test, čekat 15, 14, 13 ... method #?)
  - 2) napíšeme číslo metody **351**, **READ**, **ENTER**
  - 3) zvolíme vlnovou délku **507 nm** (kolečko na boku), **READ**, **ENTER**
  - 4) část blanku nalijeme do připravené kyvety HACH a vložíme do spektrofotometru, dále **CLEAR**, **ZERO**
  - 5) část analyzovaného roztoku přelijeme do připravené kyvety HACH a vložíme do spektrofotometru, dále **READ**, **ENTER** - na displeji se nám ukáže přímo hodnota - množství  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  v  $\text{mg.l}^{-1}$  (zaznamenáme)
  - 6) obdobně pokračujeme u ostatních analyzovaných vzorků
  - 7) po dokončení analýzy spektrofotometr vypneme - **POWER**

**Výsledek:** Výsledkem měření jsou hodnoty koncentrace v  $\text{mg/l}$  u jednotlivých vzorků.



## Vyhodnocení výsledků

Tímto postupem získáme v případě dusičnanů přímé hodnoty koncentrace  $\text{NO}_3$  v mg/l, které můžeme uložit do databáze měření (případně jinak archivovat). V případě amonných iontů musíme ještě provést jednoduchý přepočet zjištěných hodnot absorbancí na koncentraci v mg/l. Ten provedeme na počítači pomocí kalibračních grafů, ze kterých odečteme hodnoty koncentrace pro danou hodnotu absorpance vzorku.

Pracovní postup na počítači:

- 1) POWER
- 2) F1
- 3) zavřeme (X)
- 4) standardní křivky
- 5) FILE (soubor)
- 6) OPEN
- 7)  $\text{NH}_4^+$  5ml, OK
- 8) SAMPLES
- 9) zadáme ABS do INTENSITY/AUFS/  
např. 0,024 ... 0tečka024/FINAL CONC/výsledek
- 10) zavřít (X)
- 11) FILE, exit, ano
- 12) START, vypnout, ano

## Použitá a doporučená literatura:

- Aplikační zpráva Hach Lange – Laboratorní analýza & procesní analýza nutrienty, dusíkaté sloučeniny
- Horáková M., Lischke P. & Grünwald A. (1986): Chemické a fyzikální metody analýzy vod
- Kalavská D. & Holoubek I. (1989): Analýza vod
- Malý Josef & Malá Jitka: Chemie a technologie vod – laboratorní cvičení
- postup analytického stanovení vzorku dle postupů Hach Lange
- [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-006/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/) (Encyklopedie hydrobiologie)
- <http://rum.bf.jcu.cz/public/brandl/hydrobiologie/a-Hydrobiologie-tema-1-az23/Hyd-9-4F-graf.pdf>
- <http://chemikalie.upol.cz/skripta/tv/2.doc>
- <http://www.natur.cuni.cz/~opekar/analchem/anchem14b.doc>
- <http://www.kch.zcu.cz/>
- <http://www.eurochem.cz/>
- <http://cs.wikipedia.org/>

Tento studijní materiál byl vytvořen díky finanční podpoře projektu **FRVŠ/G4/1506/2009** „Aplikace analytických metod do výuky hydrobiologie“.