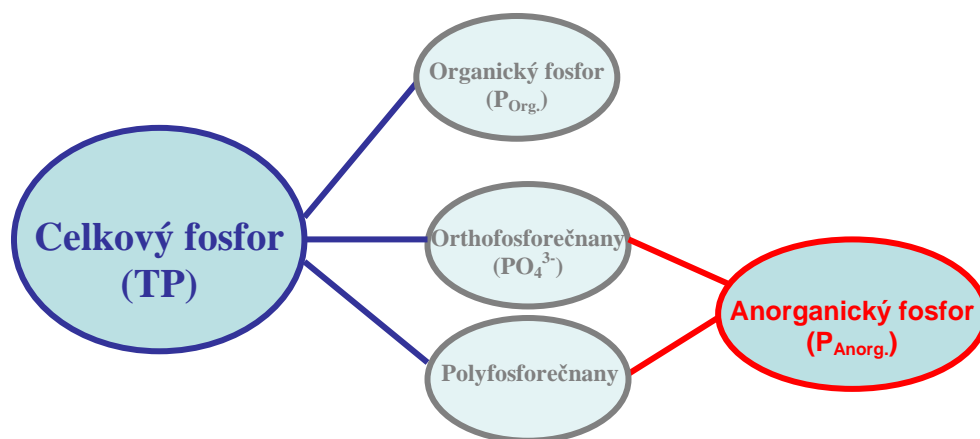


Stanovení obsahu sloučenin fosforu ve vodách

Úvod:

V přírodě se fosfor vyskytuje pouze ve formě chemických sloučenin. **Celkový fosfor** je dán množstvím anorganických orthofosforečnanů (PO_4^{3-}), polyfosforečnanů a organicky vázaného fosforu. Do vod se fosfor dostává ve formě orthofosforečnanů a polyfosforečnanů z hnojiv, pracích a čistících prostředků atd. Organicky vázaný fosfor pochází z rozkladných produktů fauny a flóry, ze živočišných odpadů ale i z chemických přípravků používaných v zemědělství (jedná se např. o fosfolipidy, organofosforové pesticidy, koenzymy ATP a ADP). Z části je fosfor vázán i v sedimentech ve formě nerozpustných železitých solí (FePO_4). Během letní a zimní stagnace dochází k redukci těchto nerozpustných železitých solí na rozpustné soli železnaté ($\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$) a ty se následně během jarní a podzimní cirkulace dostávají do celého vodního slupce. Ve vodních nádržích převládá posun fosforu do sedimentů nad jeho zpětným uvolňováním.

Fosfor je prvek často limitující produkční procesy ve vodním ekosystémech. Je to dáno tím, že v živých organismech je jeho podíl oproti prostředí vyšší a stálý. V období vegetace se zvýšeným výskytem fytoplanktonu dochází k vyčerpání rozpustných forem fosforečnanů. Zvýšený obsah fosforečnanů nastává v období deprese fytoplanktonu známou pod názvem „clear water“ (stav zdánlivě čiré vody). Ve vodách s nízkým obsahem fosfátů je chudá biocenóza, fytoplankton vyskytující se v takových podmínkách je adaptován na nízkou koncentraci a dostupnost fosforu. Řasy mají schopnost akumulovat v buňkách polyfosfáty a v případě potřeby je zpětně využívat a uvolňovat do prostředí (zlativky *Chrysophyceae*, některé zelené řasy a krásivky).



Obr.1: Schéma nejčastěji stanovovaných forem fosforu.

V přírodních vodách a odpadních vodách se fosfor vyskytuje převážně ve formě různých fosforečnanů. O tom, jestli, anorganické orthofosforečnaný nabývají formy PO_4^{3-} (fosforečnanů; ve vodním prostředí při $\text{pH} > 8$), HPO_4^{2-} (hydrogenfosforečnanů), H_2PO_4^- (dihydrogenfosforečnanů) nebo H_3PO_4 (kyseliny fosforečné; ve vodním prostředí při $\text{pH} < 7$) rozhoduje pH vody. Polyfosforečnaný se ve vodách vyskytují s řetězovitou i cyklickou strukturou a hydrolyzují biochemickými i chemickými procesy na orthofosforečnaný.

Účinky sloučenin fosforu na vodní prostředí

Sloučeniny fosforu nejsou toxické. V důsledku hnojení průmyslovými hnojivy, používání detergentů s polyfosfáty a vypouštěním odpadních vod obsahují vodní zdroje velká množství fosforu. Nadměrná množství živin, především právě fosforu (jakožto limitujícího prvku pro rozvoj vodní vegetace), mají za následek vznik eutrofizace vod. Jedná se o složitý proces obohacování stojatých a tekoucích povrchových vod živými 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 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.

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.

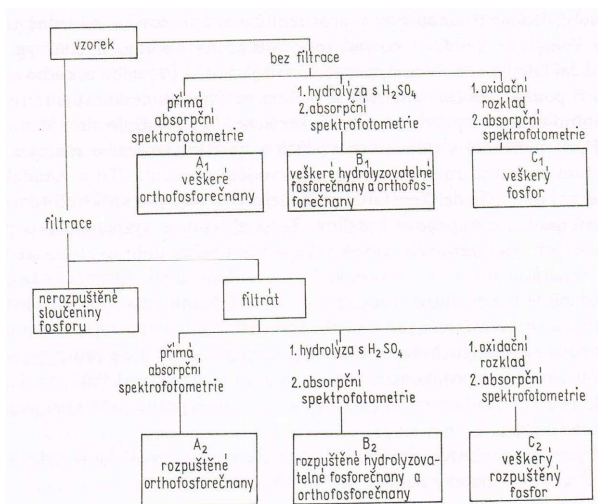
Princip analytických metod

Při metodách kvantitativního stanovení se rozpuštěné a nerozpuštěné formy sloučenin fosforu rozlišují stanovením filtrovaných a nefiltrovaných vzorků (nerozpuštěné – suspendované podíly se mohou stanovit z rozdílů).

Veškeré nebo rozpuštěné polyfosforečnany stanovujeme po jejich převedení na orthofosforečnany hydrolýzou v kyselém prostředí (H_2SO_4) při bodu varu vody. Přitom dochází částečně i k rozkladu organicky vázaného fosforu a převedení na orthofosforečnany. Míru rozkladu organicky vázaného fosforu lze ovlivnit volbou podmínek hydrolýzy.

Organické sloučeniny fosforu se převádějí na rozpustné orthofosforečnany rozkladem, který probíhá pod vlivem oxidačních činidel. Po oxidačním rozkladu stanovujeme veškeré fosforečnany (zároveň totiž dochází ke kvantitativní hydrolýze všech polyfosforečnanů).

Rozpuštěné anorganické orthofosforečnany stanovujeme ve filtrovaném vzorku bez předchozí hydrolýzy nebo oxidačního rozkladu.



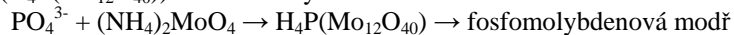
Obř.2: Schematický přehled analytického stanovení jednotlivých forem sloučenin fosforu. (Horáková et al. 1986)

Stanovení (ortho)fosforečnanů (PO_4^{3-})

Pro stanovení veškerých fosforečnanů je nutné provést oxidační rozklad. Např. kyselinou chloristou ($HClO_4$) v kombinaci s kys. dusičnou (HNO_3) nebo sírovou (H_2SO_4) či použitím peroxodisíranu amonného ($(NH_4)_2S_2O_8$) nebo draselného ($K_2S_2O_8$) v prostředí kys. sírové (H_2SO_4). Celá řada metod popisuje stanovení anorganických orthofosforečnanů právě absorpční spektrofotometrií.

1) Spektrofotometrické stanovení ve formě fosfomolybdenové modři

- princip je založen na reakci orthofosforečnanů (PO_4^{3-}) s molybdenamem amonným ($(NH_4)_2MoO_4$) v prostředí kys. sírové (H_2SO_4) s následnou redukcí (např. chloridem cínatým ($SnCl_2$)) vzniklého komplexu kyseliny molybdatofosforečné ($H_4P(Mo_{12}O_{40})$) na fosfomolybdenovou modř.



- spektrofotometricky se měří při 690nm

Pozn. další informace ke spektrofotometrickým metodám analýz viz. metodický návod „Stanovení obsahu sloučenin dusíku ve vodě“

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 (CHCl₃)) a provést analýzu co nejdříve – tedy do 24 hodin po odběru. Laboratorní stanovení provedeme dle metodiky jednotlivých analýz Hach Lange na spektrofotometru DR 2000.

Stanovení fosforečnanů (PO₄³⁻) na spektrofotometru DR 2000

Potřeby: větší kyvety s uzávěrem (minimálně 25ml), měřicí kyvety HACH (a), stojan, filtrační nálevky, filtrační papír, spektrofotometr (DR 2000 fa. HACH) (b), reagensie PhosVer3



Postup:

- vzorky vody necháme ohřát na pokojovou teplotu cca 20°C
- do jedné kyvety odměříme 25 ml destilované vody (blank, slepý vzorek) a označíme
- odměříme 25ml analyzovaného (přefiltrovaného) vzorku a dáme do připravené a popsané kyvety (obdobně postupujeme u všech dalších analyzovaných vzorků)
- do všech kyvet (se vzorky i blankem) přidáme obsah 1 balení PhosVer 3 (for 25 ml) a promícháme
- takto upravené vzorky následně přefiltrujeme a dále budeme pracovat s výslednými filtráty!
- necháme stát 8 – 10 minut a měříme na spektrofotometru DR 2000:
 - 1) **POWER** (self test, čeká 15, 14, 13 ... method #?)
 - 2) napíšeme číslo metody **490**, **READ**, **ENTER**
 - 3) zvolíme vlnovou délku **890 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 hodnota - množství PO₄³⁻-P v mg.l⁻¹ (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) obdobně pokračujeme u ostatních analyzovaných vzorků
- 7) po dokončení analýzy spektrofotometr vypneme - **POWER**
- 8) vyhodnotíme výsledky

Vyhodnocení výsledků

Tímto postupem získáme přímo hodnoty koncentrace fosforečnanů v mg/l. Dále již nic nemusíme přepočítávat, data archivujeme v databázi a následně je můžeme statisticky vyhodnotit.

Použitá a doporučená literatura:

- Lellák J, Kubíček F. (1992): Hydrobiologie
- 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/ (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/~opekari/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“.