

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství



**Metody stanovení iontů dusíku ve vodě – stabilita výsledných
hodnot**

Diplomová práce

Vedoucí práce:

doc. Ing. Radovan Kopp, Ph.D.

Vypracovala:

Bc. Barbora Musilová

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Metody stanovení iontů dusíku ve vodě – stabilita výsledných hodnot** vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do její skutečné výše.

V Brně dne.....

podpis studenta.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé diplomové práce doc. Ing. Radovanovi Koppovi, Ph.D. za cenné připomínky a za odborné vedení při zpracování této závěrečné práce. Můj dík patří také kolegům z oddělení Rybářství a hydrobiologie za pomoc při odběru vzorků. Dále chci poděkovat své rodině za finanční i psychickou podporu během celého studia a zejména pak své sestře Kristýně Musilové, která mě ve studiu pomáhala nejvíce.

Obsah

1 ÚVOD.....	7
2 CÍL PRÁCE	8
3 LITERÁRNÍ REŠERŠE	9
3.1 Dusík a jeho sloučeniny	9
3.1.1 Amoniakální dusík.....	9
3.1.1.1 Původ a formy výskytu	9
3.1.1.2 Výskyt ve vodě.....	10
3.1.1.3 Vlastnosti a význam	11
3.1.2 Dusitany	12
3.1.2.1 Původ a formy výskytu	12
3.1.2.2 Výskyt ve vodě.....	12
3.1.2.3 Vlastnosti a význam	13
3.1.3 Dusičnany	14
3.1.3.1 Původ a formy výskytu	14
3.1.3.2 Výskyt ve vodě.....	15
3.1.3.3 Vlastnosti a význam	16
3.2 Metody stanovení iontů dusíku ve vodě	17
3.2.1 Stanovení amoniakálního dusíku	17
3.2.1.1 Stanovení amoniakálního dusíku s Nesslerovým činidlem absorpční spektrofotometrií.....	18
3.2.1.2 Stanovení amoniakálního dusíku s fenolem a chlornanem absorpční spektrofotometrií.....	19
3.2.1.3 Spektrofotometrické stanovení amoniakálního dusíku novou modifikací indofenolové metody.....	19
3.2.1.4 Odměrné neutralizační stanovení amoniakálního dusíku	19
3.2.2 Stanovení dusitanů	20
3.2.2.1 Stanovení dusitanů se sulfanilovou kyselinou a α -naftylaminem absorpční spektrofotometrií	21
3.2.2.2 Stanovení dusitanů se sulfanilovou kyselinou a N-(-naftyl)-ethylendiamindihydrochloridem absorpční spektrofotometrií.....	22
3.2.3 Stanovení dusičnanů	22

3.2.3.1 Stanovení dusičnanů absorpční spektrofotometrií pomocí kyseliny salicylové	24
3.2.3.2 Spektrofotometrické stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem ve fotometrických zkuševkách	25
3.3 Legislativní podklady	25
3.3.1 Vodní zákon	26
3.3.2 NV 262/2012 Sb.	26
4 MATERIÁL A METODIKA.....	27
4.1 Použité chemikálie	27
4.2 Příprava činidel ke stanovení iontů dusíku	27
4.3 Vlastní stanovení iontů dusíku.....	28
4.3.1 Stanovení amonných iontů ($N-NH_4^+$)	29
4.3.2 Stanovení dusičnanového dusíku ($N-NO_3^-$).....	29
4.3.3 Stanovení dusitanového dusíku ($N-NO_2^-$).....	30
4.4 Přístroje a pomůcky	30
5 VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSE	31
6 ZÁVĚR	57
7 POUŽITÁ LITERATURA	58
8 SEZNAM TABULEK	61
9 SEZNAM GRAFŮ	62
10 SEZNAM ZKRATEK	63

Abstrakt

Práce se zabývá stanovením iontů dusíku, tj. dusitanového, dusičnanového a amoniakálního dusíku, ve vzorcích přírodních vod a stabilitou výsledných hodnot. Teoretická část obsahuje přehled metod ke stanovení iontů dusíku ve vodním prostředí. Praktická část obsahuje výsledky koncentrací iontů dusíku ve vybraných vzorcích vod a ve standardech. Cílem této práce je zhodnotit vliv konzervace činidel použitých ke stanovení iontů dusíku na výsledné hodnoty a změny těchto výsledných hodnot v časové závislosti od provedení analýzy. Vybraná stanovení iontů dusíku ve vzorcích přírodních vod byly prováděny od června 2014 do dubna 2015. Následně byly hodnoty graficky zpracovány a vyhodnoceny. Konzervace činidel má vliv na výsledné hodnoty jen u stanovení amonných iontů. Stálost naměřené koncentrace iontů dusíku ve vzorcích vod je minimálně dvě hodiny, u amonného i u dusičnanového dusíku ji lze prodloužit konzervací vzorků chladem.

Klíčová slova:

dusík, chemická činidla, konzervace chladem, čas

Abstract

This thesis deals with nitrogen ions, i. e. nitrite and ammonia nitrogen in samples of natural waters and the stability of the resulting values. The theoretical part includes list of determination methods of nitrogen in aquatic environment. The practical part contains results of nitrogen ions concentration in chosen water samples and in standards. The aim of this thesis is to evaluate the impact of conservation reagents used to determine nitrogen ions on the final value and changes in these resulting values in a time depending on the analysis. Selected determination of nitrogen ions in natural water samples were performed from June 2014 to April 2015. Consequently the values were graphically processed and evaluated. A conservation reagent affects the resulting values only for the determination of ammonium ions. Stability of measured ion concentration of nitrogen in water samples is at least two hours, even with ammonium nitrate nitrogen it can be extended by conservation cold of samples.

Key words:

nitrogen, chemical reagents, cold conservation, time

1 ÚVOD

Voda je nepostradatelná součást lidského života a je také nenahraditelnou látkou v nejrozmanitějších oborech lidské činnosti. Proto je nutná přesná znalost jejího chemického složení. Pro posouzení, zda lze uzнат vodu jako pitnou, je nejdůležitější znát právě obsah rozpuštěných dusitanů, dusičnanů a amonných solí.

Správně provedený rozbor vody se tak stal prvotní podmínkou pro rozhodování, zda voda je či není vhodná k příslušnému účelu. Rozbor vody vytváří výchozí údaje pro návrh technologie úpravy a čištění vod. Bez správně provedeného rozboru vody totiž nelze jednoznačně určit původce zhoršení jakosti vod a ani nelze správně určit cestu k nápravě. Rozbor vody je tedy neopominutelný podklad pro rozhodování na všech úrovních a pro všechny, kteří s vodou nakládají.

Chemická analýza vody je samostatná a náročná vědní disciplína. Některé složky podílející se na obsahu vody, bývají často obsaženy jen ve velice malém množství. Proto je nutné klást při analýze vody mimořádný význam na pečlivost provedení. Vzhledem ke značné proměnlivosti obsahu jednotlivých složek je nutné, aby analytický chemik dokonale ovládal veškerou analytickou metodiku, a to od metod klasických až po metody nejmodernější.

2 CÍL PRÁCE

Cílem mé diplomové práce bylo v literárním přehledu vytvořit ucelený přehled metod ke stanovení iontů dusíku ve vodním prostředí. Dále v chemické laboratoři provést vybraná stanovení iontů dusíku na vzorcích přírodních vod a vyhodnotit výsledné hodnoty. Hlavním sledovaným faktorem byly změny výsledných hodnot v časové závislosti od provedení analýzy a vliv konzervace činidel použitých ke stanovení iontů dusíku. Na základě těchto výsledků jsem pak měla navrhnout optimální časová hlediska pro provedení analýz dusitanů, dusičnanů a amonných iontů, tak aby byla zachována relevantnost dosažených výsledků.

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Dusík a jeho sloučeniny

Sloučeniny dusíku patří k nejdůležitějším biogenním prvkům. Mají mimořádný význam, protože se uplatňují ve všech biologických procesech, probíhajících v povrchových, podzemních i odpadních vodách a při biologických procesech čištění odpadních vod i při úpravě povrchových vod (Heteša a Kočková, 1998). Sloučeniny dusíku ve vodě jsou důležitými kritérii kvality vod (Ahuja, 2013).

Dusík se ve vodách vyskytuje v různých oxidačních stupních (-III, -I, 0, +I, +III a +V), a to buď v iontové, nebo neiontové formě (Žáček, 1998). K jeho hlavním formám, které se vyskytují ve vodách, patří elementární dusík, anorganicky vázaný dusík (amoniak, dusitany, dusičnany, kyanidy, kyanatany, thiokyanatany, hydroxylamin, oxid dusný) a organicky vázaný dusík. Tyto formy v přírodě podléhají různým změnám (Grünwald, 1993).

Na koloběhu dusíku ve vodách se podílejí zejména různé mikroorganismy. Při tzv. nitrifikaci oxidují chemolitotrofní (chemoautotrofní) bakterie především z rodu *Nitrosomonas* a *Nitrocystis* amoniakální dusík na dusitany (Říhová Ambrožová, 2008). Zdrojem energie a uhlíku pro tvorbu biomasy je oxid uhličitý, množství získané energie je však malé, proto je pro tento proces charakteristická malá tvorba biomasy na jednotku získané energie. Průběh nitrifikace ovlivňuje zejména koncentrace rozpuštěného kyslíku, oxidu uhličitého, pH, teplota a přítomnost některých látek jako např. fenolů, heterocyklických sloučenin apod. Dusitany i dusičnany mohou být pak v anoxických podmínkách redukovány na elementární dusík, N_2O nebo NO (Grünwald, 1993). Tento proces se označuje jako denitrifikace a podílí se na něm celá řada striktně i fakultativně anaerobních bakterií např. *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Chromobacterium*, aj. (Říhová Ambrožová, 2008). Zdrojem energie pro tyto bakterie je pak organický substrát, např. methanol a ethanol (Grünwald, 1993).

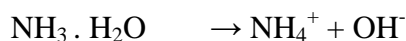
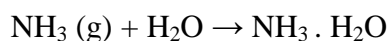
3.1.1 Amoniakální dusík

3.1.1.1 Původ a formy výskytu

Jednoduché amonné soli v podobě minerálů se v přírodě nevyskytují, výjimku tvoří minerál struvit. Jejich výskyt ve vodách není tedy přírodního původu.

Amoniakální dusík je primárním produktem rozkladu většiny organických dusíkatých látek rostlinného i živočišného původu. Antropogenním zdrojem amoniakálního dusíku organického původu ve vodách jsou především splaškové odpadní vody, odpady ze zemědělství, kalová voda z čistírenských kalů. Amoniakální dusík anorganického původu se do podzemních a povrchových vod dostává především splachem a infiltrací dusíkatých hnojiv ze zemědělsky obdělávaných ploch (Pitter, 2009). Dále značné množství amoniakálního dusíku je obsaženo v průmyslových odpadních vodách z tepelného zpracování uhlí a z galvanického pokovování (Leško, 2011). Amonné sloučeniny se také někdy přidávají do vody při jejím hygienickém zabezpečování, při tzv. chloraminaci.

Při rozpouštění amoniaku ve vodě vzniká hydrát $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, který disociuje na ionty NH_4^+ a OH^- . Probíhají tyto reakce:



Reakce jsou závislé na teplotě, zvyšující se teplota podporuje disociaci NH_4^+ na NH_3 (Pitter, 2009). Amoniak je hlavní metabolický produkt ryb, zooplanktonu a dalších vodních organismů, takže se vyskytuje zejména v intenzivních chovech ryb, v recirkulačních systémech a v rybnících (Valentová a kol., 2013). Další formou výskytu amoniakálního dusíku jsou aminokomplexy, které tvoří aminoskupiny s ionty různých kovů. Vyskytují se především v odpadních vodách z galvanického pokovování. Téměř všechny amonné soli jsou dobře rozpustné ve vodě (Pitter, 2009).

3.1.1.2 Výskyt ve vodě

Amoniakální dusík se ve vodách vyskytuje v neiontové formě jako NH_3 a jako amonný kation NH_4^+ . Obě formy se stanovují současně jako celkový amoniakální dusík a to pomocí chemicko-analytických metod. Celkový amoniakální dusík je dán součtem koncentrací dusíku amonného (N-NH_4^+) a dusíku amoniakového (N-NH_3), výsledek pak lze vyjádřit jako N_{amon} nebo $N_{\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+}$ (Pitter, 2009).

Amoniakální dusík je významnou složkou v atmosférických vodách, zvláště v oblastech se znečištěným ovzduším je dominantním kationtem těchto vod. Srážkové vody bývají tedy významným zdrojem sloučenin dusíku v povrchových vodách.

V podzemních vodách se amoniakální dusík vyskytuje většinou jen ve velmi malých koncentracích. Výjimkou jsou podzemní vody, které jsou kontaminované dusíkatými hnojivy nebo fekáliemi a podzemní vody ropného původu. Průměrná koncentrace amoniakálního dusíku v pitných vodách podzemního původu je $0,09 \text{ mg.l}^{-1}$ ($6,43 \mu\text{mol/l}$) a v pitných vodách povrchového původu $0,12 \text{ mg.l}^{-1}$ ($8,57 \mu\text{mol/l}$) (Zýka, 1982). V povrchových vodách koncentrace amoniakálního dusíku obvykle nepřevyšuje 1 mg.l^{-1} . Výjimkou jsou ale velmi znečištěné toky, kde průměrná koncentrace amoniakálního dusíku převyšuje často i 10 mg.l^{-1} . Splaškové odpadní vody jsou na amoniakální dusík bohaté, mimořádně vysoké koncentrace amoniakálního dusíku lze najít i v některých průmyslových odpadních vodách a v odpadech ze zemědělství (Pitter, 2009).

3.1.1.3 Vlastnosti a význam

Volný molekulární NH_3 je těkavý, lze jej odstranit z vody provzdušňováním, je však velká potřeba vzduchu, protože NH_3 je dobře rozpustný ve vodě. Amoniakální dusík je však ve vodách za oxických podmínek nestálý a snadno podléhá nitrifikaci, tj. biochemické oxidaci (Pitter, 2009). V kyselém prostředí oxidace prakticky neprobíhá, proces tedy vyžaduje alkalické prostředí. Konečným produktem oxidace jsou pak dusičnany (Singer a Zilli, 1975):



Jediným činidlem, kterým lze ve vodách snadno oxidovat amoniakální dusík, je chlor (Pitter, 2009).

Ionty NH_4^+ se na rozdíl od dusičnanů dobře sorbují na negativně nabitých anorganických a organických půdních částicích, proto se amonné kationty při infiltraci půdou do značné míry zadržují. Technologicky významná je např. specifická adsorpce na některých syntetických hlinitokřemičitanech (zeolitech) (Pitter, 2009).

Amoniakální dusík ve vodách zvyšuje korozi mědi a jejich slitin a působí toxicky na ryby. Toxicita však značně závisí na pH vody, toxický účinek nemá ion NH_4^+ , má ho ale nedisociovaná molekula NH_3 , protože snáze proniká buněčnými membránami. Toxicky působí také nedisociovaný amoniak na zooplankton (Pitter, 2009).

Z hygienického hlediska je amoniakální dusík velice významný, protože je jedním z primárních produktů rozkladu organických dusíkatých látek. Je tedy důležitým chemickým indikátorem znečištění podzemních vod živočišnými odpady, tj. indikátorem fekálního znečištění. Význam indikátoru však ztrácí v případech, kdy se jedná o znečištění amoniakálním dusíkem anorganického původu nebo při vzniku z rozkladu organických dusíkatých látek rostlinného původu (Grünwald, 1993).

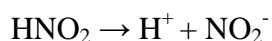
Mezní hodnota pro kation NH_4^+ v pitné vodě je $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$, pro pramenitou a kojeneckou vodu platí přísnější mezní hodnota $0,25 \text{ mg.l}^{-1}$. Imisní standard pro přípustné znečištění povrchových vod je $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ pro amoniakální dusík (Pitter, 2009).

3.1.2 Dusitany

3.1.2.1 Původ a formy výskytu

V podobě minerálů se dusitany ve vodě nevyskytují. Ve vodách vznikají převážně biochemickou oxidací amoniakálního dusíku, nebo-li nitrifikací. V méně častých případech mohou vznikat také biochemickou redukcí dusičnanů, což souvisí s původem těchto částic. Dusitany se vyskytují ve větší míře ve vodách s intenzivním chovem ryb, mohou také vznikat při dezinfekci vody UV-zářením, kdy dochází k redukcí dusičnanů. V atmosférických vodách jsou přítomny dusitany převážně anorganického původu. Na dusitany bohaté pak bývají některé průmyslové odpadní vody, např. odpadní vody ze strojírenských závodů, z výroby barviv aj. Dusitany jsou také součástí nemrznoucích kapalin a některých inhibitorů koroze (Pitter, 2009).

Dusitany jsou odvozeny od kyseliny dusité HNO_2 , tedy středně silné kyseliny, která disociuje podle rovnice:



Takže ve vodách s hodnotami pH nad 5 převažují dusitanové ionty nad nedisociovanou kyselinou, při hodnotě pH 3,35 jsou obě formy zastoupeny v molárním poměru 1:1. Převážná většina dusitanů je ve vodě dobře rozpustná, výjimku tvoří dusitan stříbrný AgNO_2 . Schopnost dusitanů tvořit komplexní sloučeniny je malá (Pitter, 2009).

3.1.2.2 Výskyt ve vodě

Dusitany se ve vodách vyskytují obvykle v nízkých koncentracích, kvůli své chemické a biochemické labilitě. Jejich přítomnost ve vodách je zpravidla doprovázena

dusičnany a amoniakálním dusíkem (Valentová a kol., 2013). V oxických podmínkách jsou nitrifikací rychle transformovány na dusičnany, takže v přírodních vodách dusitany z anorganických forem dusíku nedominují. Protože dusitany velmi snadno podléhají chemických a biochemických přeměnám, může docházet během krátké doby k jejich koncentračním změnám, údaje o obsahu dusitanů ve vodách se tedy mohou velmi rychle měnit (Pitter, 2009).

Průměrná koncentrace dusitanového dusíku v pitných vodách povrchového původu je $0,008 \text{ mg.l}^{-1}$ (NO_2^- $0,026 \text{ mg.l}^{-1}$) a v pitných vodách podzemního původu $0,004 \text{ mg.l}^{-1}$ (NO_2^- $0,013 \text{ mg.l}^{-1}$) (Zýka, 1982). V minerálních vodách se dusitany prakticky nevyskytují, anebo jen v koncentracích, které nemají biologický význam. Vyšší koncentrace dusitanů se vyskytují ve splaškových odpadních vodách, ještě vyšší koncentrace dusitanů lze nalézt v některých odpadních vodách ze strojírenských závodů (Pitter, 2009).

3.1.2.3 Vlastnosti a význam

Dusitany jsou nestálé ve vodách, mohou být proto snadno chemicky a biochemicky oxidovány nebo redukovány. V oxických podmínkách dochází velice snadno k nitrifikaci, tedy k biochemické oxidaci. V anoxických podmínkách dochází zase k biologické denitrifikaci na elementární dusík, resp. N_2O . Dusitany proto lze prokázat v nízkých koncentracích jako meziproduct chemických a biochemických transformací sloučenin dusíku. Dusitany působí jako redukční i jako oxidační činidla, silnějšími oxidačními činidly jsou dusitany v kyselém prostředí. Proto při chloraci vody mohou být zcela eliminovány (Pitter, 2009).

V podzemních a povrchových vodách se dusitany vyskytují v koncentracích, které jsou samy o sobě hygienicky nevýznamné. Pokud se ale vyskytují ve vyšších koncentracích v pitné vodě, způsobují methemoglobinaemii. Náhlý vzrůst dusitanů v podzemních vodách může značit fekální znečištění, kdy dochází nitrifikací amoniakálního dusíku (Pitter, 2009).

Kyselina dusitá může reagovat v silně kyselém prostředí se sekundárními aminy za vzniku *N*-nitrosoaminů, některé z nich jsou považovány za potenciální karcinogeny. Hodnota pH žaludečních šťáv je asi 1,5, takže podmínky kyselého prostředí jsou splněny v žaludku. Tam sekundární aminy vznikají rozkladem organických dusíkatých

látek. K nitrosaci sekundárních aminů může docházet i v neutrálním prostředí, a to bakteriální činností. Výchozí látkou nitrosoaminů mohou být i aminokyseliny, amidy, peptidy aj. (Pitter, 2009). Proto se v gastrointestinálním traktu mohou tvořit různé neidentifikovatelné nitrosoaminy s neznámým karcinogenním účinkem. *N*-nitrosodimethylamin $(\text{CH}_3)_2\text{N-NO}$ byl prokázán i v pitné vodě, proto např. v Kanadě byla navržena v pitné vodě směrná hodnota pro tuto sloučeninu a to 9 ng.l^{-1} (Jenkins, 1995).

Nitrosoaminy se mohou také tvořit při chloraci pitné vody nebo při čištění odpadních vod. Výchozí látkou je především dimethylamin, ale i další sekundární nebo terciální aminy. Reakce je opět značně závislá na hodnotě pH (Pitter, 2009). *N*-nitrosodimethylamin $(\text{CH}_3)_2\text{N-NO}$ lze odstranit z vody oxidací ozonem. Dalším potenciálním zdrojem *N*-nitrosoaminů mohou být některé hydrofilní frakce huminových látek (Slouka a kol., 2007)

V pitné vodě je nejvyšší mezní hodnota dusitanů $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Pro balené kojenecké a pramenité vody platí nejvyšší mezní hodnota $0,02 \text{ mg.l}^{-1}$, pro balenou přírodní minerální vodu je pak nejvyšší mezní hodnota $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$. Co se týče povrchové vody, tam platí pro dusitanový dusík imisní standard $0,09 \text{ mg.l}^{-1}$ pro lososové ryby a $0,14 \text{ mg.l}^{-1}$ pro kaprové ryby (Pitter, 2009).

Dusitany působí na ryby toxicky, mohou být dokonce příčinou masového úhynu ryb. Toxicita ale značně závisí na celkovém složení vody. Předpokládá se, že toxicky působí především nedisociovaná molekula HNO_2 , nikoli ion NO_2^- . Dusitany pronikají žaberním epitelem do krve a tvoří methemoglobin, ten již nemá schopnost přenášet kyslík. Hodnota přípustné koncentrace dusitanového dusíku závisí na poměru koncentrací chloridů a dusitanů, pohybuje se řádově v setinách mg.l^{-1} (Svobodová, 1987).

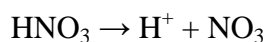
3.1.3 Dusičnany

3.1.3.1 Původ a formy výskytu

V podobě minerálů se dusičnany vyskytují jen velmi zřídka, výjimku tvoří v některých mimoevropských lokalitách chilský ledek, nebo-li dusičnan sodný (Thurman, 1985). Dusičnany vznikají především sekundárně při nitrifikaci amoniakálního dusíku a jsou konečným produktem rozkladu dusíkatých organických

látek v oxickém prostředí. Významným zdrojem dusičnanů ve vodách je také hnojení zemědělské půdy dusíkatými hnojivy. V atmosférických vodách se vyskytují dusičnany hlavně anorganického původu, jedná se o oxid dusičitý NO_2 , který vzniká oxidací oxidu dusnatého NO a je také součástí emisí ze spalování paliv (Pitter, 2009).

Dusičnany jsou odvozeny od kyseliny dusičné. Kyselina dusičná je silná jednosytná kyselina, která disociuje podle rovnice:



Dusičnany mají zanedbatelné komplexační vlastnosti, proto se ve vodách vyskytují pouze ve formě jednoduchého aniontu NO_3^- (Pitter, 2009).

3.1.3.2 Výskyt ve vodě

Dusičnany patří mezi čtyři hlavní anionty a vyskytují se téměř ve všech vodách. V přírodních vodách jejich koncentrace vzrůstá v důsledku zemědělské činnosti a vzrůstajícího počtu obyvatel. V podzemních vodách koncentrace dusičnanů mohou kolísat v širším rozmezí v závislosti na jejich původu (Horáková, 2007). Vysoká koncentrace dusičnanů nebo i dusitanů je charakteristická pro podzemní vody v oblastech s borovými lesy, kde dobře provzdušněná písčité půda obsahuje ve svrchních vrstvách bakterie schopné fixovat elementární dusík. V okolí akátových porostů se zase vyskytuje bakterie rodu *Rhizobium*, která tvoří hlízy na kořenovém systému. Bakterie asimilují elementární dusík, který je ukládán ve formě různých dusíkatých sloučenin do všech orgánů akátu. Pod těmito porosty akátu pak vzniká zvláštní druh humusu, který je bohatý na dusíkaté sloučeniny. Ty jsou vymývány do podzemních vod, kde můžeme pak nalézt obsah N-NO_3^- až 20 mg.l^{-1} (Pitter, 2009).

Koncentrace dusičnanů se v přírodních vodách mění také v závislosti na vegetačním období. V zimním, tedy mimovegetačním období se dusičnany nacházejí v podzemních vodách v maximální koncentraci. A to kvůli tomu, že se vyluhují z půdy, protože jsou jen velmi slabě zadržovány v půdním sorpčním komplexu. V letním, vegetačním období jsou zase z vody odčerpávány vegetací, takže se ve vodách vyskytují v menších koncentracích. Maximální a minimální koncentrace dusičnanů ve vodách také ovlivňuje způsob obdělávání půdy (Pitter, 2009).

Minerální vody jsou na dusičnany chudé a často se ani nestanovují. Nacházejí se v nich buď stopové koncentrace dusičnanů nebo koncentrace N-NO_3^- nejvýše

v jednotkách mg.l^{-1} (Grünwald, 1993). Průměrná koncentrace dusičnanového dusíku v pitných vodách podzemního původu je $3,92 \text{ mg.l}^{-1}$ a v pitných vodách povrchového původu $3,26 \text{ mg.l}^{-1}$ (Zýka, 1982).

3.1.3.3 Vlastnosti a význam

Dusičnany jsou výsledným produktem mineralizace organicky vázaného dusíku, za oxických podmínek jsou stabilní, ale za anoxických podmínek podléhají biologické denitrifikaci za vzniku elementárního dusíku, respektive oxidu dusného. Za určitých podmínek dochází i k chemické redukci, jedná se především o redukci amoniakálním dusíkem, kovy (např. Cd, Zn, Fe, Al, aj.), hydroxylaminem, nebo hydrazinem a některými organickými látkami. Chemická redukce je termodynamicky možná, ale bývá limitována kinetikou daných reakcí a většinou vyžaduje přítomnost katalyzátorů. Problém ale nastává v tom, že se většinou tvoří směs látek, převahy jednoho z produktů redukce lze dosáhnout jen za specifických podmínek (při určitém pH, při počátečním poměr reaktantů, aj.).

Sorpční schopnost dusičnanů je malá v porovnání s kationtem NH_4^+ , proto dusičnany snadno pronikají půdním sorpčním komplexem a mohou pronikat i do vzdálených míst a kontaminovat podzemní vodu (Pitter, 2009).

Dusičnany jsou samy o sobě málo škodlivé, ale mohou škodit nepřímě. Například tím, že se mohou redukovat bakteriální činností v gastrointestinálním traktu na toxičtější dusitany. Dusitany pak reagují s hemoglobinem na methemoglobin, který v krvi nemá schopnost přenášet kyslík. Pokud nejsou dusičnany redukovány na dusitany, vylučují se relativně rychle močí. Negativním rysem dusičnanů je také jejich nepřímá toxicita, která spočívá v tom, že dusičnany mohou být prekurzory dusitanů, které reagují v gastrointestinálním traktu s aminy za vzniku N-nitrosoaminů. Z hlediska prevence methemoglobinaemie by neměla denní dávka dusičnanů přijatá pitnou vodou překročit 100 mg. Takže při průměrné spotřebě pitné vody 2 litry na obyvatele za 1 den by neměla být koncentrace dusičnanů větší než 50 mg.l^{-1} (jako NO_3), anebo $11,3 \text{ mg.l}^{-1}$ jako N-NO_3^- (Pitter, 2009).

Dusičnany jsou pro ryby jen velmi slabě jedovaté. Nejvyšší přípustná koncentrace NO_3 pro kapra se udává 80 mg.l^{-1} a pro pstruha duhového 20 mg.l^{-1} . Teprve

při koncentracích NO_3^- nad 1000 mg.l^{-1} se projevují toxické a letální účinky (Svobodová, 1987).

Dusičnany nepříznivě ovlivňují eutrofizaci povrchových vod. Obecný imisní standard dusičnanového dusíku pro přípustné znečištění povrchových vod je 7 mg.l^{-1} , imisní standard pro celkový dusík je 8 mg.l^{-1} (Nařízení vlády č. 61/2003 Sb.).

Dusičnanový, dusitanový i amoniakální dusík patří mezi zpoplatněné ukazatele znečištění vypouštěných průmyslových odpadních vod. V roce 1991 vedla snaha o omezení znečištění vod dusičnany ze zemědělských v EU k vydání tzv. nitrátové směrnice. A v roce 2003 byl vyhlášen akční program k této směrnici, kdy celé území ČR bylo vyhlášeno jako citlivá oblast (Pitter, 2009).

3.2 Metody stanovení iontů dusíku ve vodě

3.2.1 Stanovení amoniakálního dusíku

Stanovení amoniakálního dusíku patří ve všech druzích vod mezi nejběžnější prováděná stanovení vody (Adam, 1977). Amoniakální dusík patří mezi zvláštní ukazatele chemického složení povrchových vod, podle kterých se povrchové vody řadí do tříd čistoty (ČSN 75 7221). Při vypouštění odpadních vod do vod povrchových patří obsah amoniakálního dusíku k závazným stanoveným ukazatelům, které jsou zpoplatňovány (Vyhláška MŽP č. 123/2012 Sb.). Stanovení amoniakálního dusíku je také součástí dusíkových bilancí při analytické kontrole biologických čistíren odpadních vod (Horáková, 2007).

Množství amoniakálního dusíku ve vodě se vyjadřuje hmotnostní koncentrací v mg.l^{-1} jako $\text{N}-(\text{NH}_3; \text{NH}_4^+)$ nebo N_{amon} . Používanými analytickými postupy se však nerozliší obsah disociovaného NH_4^+ (amonného dusíku) a nedisociovaného amoniaku NH_3 (amoniakového dusíku) ve vodě, proto se stanoví součet obou forem (Horáková a kol., 1986). Jednotlivé formy amoniakálního dusíku lze samostatně stanovit pouze při použití iontově selektivních elektrod, kdy se stanoví NH_4^+ , nebo při použití plynové elektrody, kdy je zase stanoven samostatný NH_3 .

Jakost vody však velice často nestačí zhodnotit pouze z hlediska obsahu amoniakálního dusíku, většinou je zapotřebí vodu zhodnotit i z hlediska obsahu jeho jednotlivých forem. Vlastnosti amoniakového dusíku NH_3 a amonného dusíku NH_4^+ jsou totiž značně odlišné, příkladem této odlišnosti je rozdílná hodnota toxického působení NH_3 a NH_4^+ na ryby (Horáková, 2007). Nařízení vlády limituje koncentraci

amoniakálního dusíku hodnotou $0,3 \text{ mg.l}^{-1}$ pro vodárenské toky a hodnotou $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ pro toky ostatní. Pro volný amoniak jsou limitní koncentrace stanoveny hodnotou $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$ pro vodárenské toky a hodnotou $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ pro toky ostatní (Nařízení vlády č. 61/2003 Sb.).

Pro stanovení amoniakálního dusíku ve vodách se používají především spektrofotometrické metody stanovení (Heteša, 1981). Z nich nejstarší a nejrozšířenější metodou je klasická absorpční spektrofotometrická metoda s Nesslerovým činidlem (Horáková, 2007).

3.2.1.1 Stanovení amoniakálního dusíku s Nesslerovým činidlem absorpční spektrofotometrií

Stanovení je založeno na reakci amoniaku a hydroxidu alkalických kovů s tetrajodortuřnatanem sodným nebo draselným (tj. Nesslerovo činidlo) za vzniku jodidu, resp. oxidimerkuriaminjodidu (tj. Millonova báze). Tento jodid je málo rozpustná žlutohnědá sloučenina, která při nízkých koncentracích amoniaku vytváří žlutohnědé koloidní roztoky. Ty jsou vhodné pro spektrofotometrické měření, kde intenzita zbarvení je úměrná koncentraci amoniaku (Valentová a kol., 2013).

Tato metoda je velice jednoduchá a pracovně i časově nenáročná. Nevýhodou této metody je pak práce s toxickou látkou - rtuťnatou solí a tedy i vznik toxického odpadu při tomto stanovení (Valentová a kol., 2013). Další nevýhodou této metody je, že při tomto stanovení, které probíhá v silně alkalickém prostředí, vykazují absorpenci při stejné vlnové délce jako jodid oxidimerkuriamidu i huminové látky, které jsou velmi často obsažené v přírodních vodách. Tzn., že tato metoda je zatížena poměrně soustavnou pozitivní chybou. Tyto nevýhody jsou hlavní příčinou, pro kterou Nesslerova metoda již není pro stanovení amoniaku uváděna mezi doporučenými (unifikovanými) metodami (Horáková, 2007).

Metoda je vhodná pro stanovení amonických iontů ve všech typech vod, a to při koncentraci amoniakálního dusíku větší než $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$. Bez ředění pak lze stanovit obsah amoniakálního dusíku do 3 mg.l^{-1} . Pro přímé stanovení, tedy bez destilace, je metoda vhodná jen pro vody pitné a čisté povrchové vody (Horáková a kol., 1986).

3.2.1.2 Stanovení amoniakálního dusíku s fenolem a chlornanem absorpční spektrofotometrií

Stanovení bylo založeno na reakci amoniaku, chlornanu a fenolu za vzniku sloučeniny indofenolového typu. Tato látka byla disociována v alkalickém prostředí na intenzivně modré indofenolové barvivo, které bylo vhodné pro spektrofotometrické stanovení. Reakci byla katalyzována manganatými ionty. Tato metoda se v praxi příliš neujala, protože byla velmi pracná, jednotlivá činidla byla nestabilní a výsledky stanovení nebyly příliš spolehlivé (Horáková, 1982).

Současné ČSN uvádějí novou modifikaci indofenolové metody, kde jsou již odstraněny hlavní příčiny nespolehlivosti výsledků. Místo nestabilních a obtížně standardizovaných činidel (chlornanu a fenolu) jsou používány látky stabilnější a lépe dostupné v čistém stavu. Fenol je nahrazen salicylanem a místo chlornanu sodného se používá dichlorisokyanuratan (ČSN ISO 7150-1).

3.2.1.3 Spektrofotometrické stanovení amoniakálního dusíku novou modifikací indofenolové metody

Toto stanovení je již založeno na reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu. Vznikne sloučenina indofenolového typu, která je v alkalickém prostředí, ve kterém také reakce probíhá, disociována na intenzivně modré indofenolové barvivo. Jako katalyzátor se používá nitroprussid sodný. Roztok indofenolového barviva je tedy zbarven modře, ale roztok nitroprussidu je zbarven žlutě, takže zbarvení měřených roztoků je zelené (ČSN ISO 7150-1).

Metodu lze použít k analýze pitné vody, většiny surových vod i odpadních vod. Pokud jsou ale ve vzorku vody obsaženy chloraminy, stanovují se spolu s amoniakálním dusíkem a způsobují tak pozitivní chybu stanovení. Tvorbu barevné sloučeniny může narušovat i mimořádná kyselost nebo naopak zásaditost vzorku (Horáková, 2007).

3.2.1.4 Odměrné neutralizační stanovení amoniakálního dusíku

Vzorek vody se převede do alkalické oblasti pH, touto úpravou se celkový amoniakální dusík obsažený ve vzorku vody převede na dusík amoniakový (NH_3). Následuje destilace vzorku, kdy je těkající plynný amoniak (NH_3) jímán do kyseliny

borité, jako dihydrogenboritan amonný. Množství amonného dusíku v destilátu je pak stanoveno titrací odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové na Taschirův indikátor (Horáková, 2007).

Odměrné neutralizační stanovení amoniakálního dusíku je vhodné pro stanovení ve všech druzích vod, kde koncentrace amoniakálního dusíku je větší než 1 mg.l^{-1} . Pro menší koncentrace amoniakálního dusíku je lepší použít spektrofotometrické metody (Horáková a kol., 1986). Pozitivní chyby stanovení se mohou objevovat u vzorků vody, které obsahují organicky vázaný dusík. Jedná se především o vzorky splaškové a znečištěné povrchové vody, obsahující močoviny, bílkoviny, peptidy, AMK aj. (ČSN ISO 5664).

ČSN uvádí pro stanovení amoniakálního dusíku ještě potenciometrickou metodu, při které se vzorek vody přidávkem tlumivého roztoku hydroxidu sodného s komplexotvorným činidlem (Chelatonem 3) zalkalizuje na hodnotu pH 12. Kovy, které by jinak byly komplexovány amoniakem přejdou do komplexu s chelatonem. Takže veškerý amoniakální dusík ve vzorku je převeden na formu amoniakovou. Amoniak se poté stanoví membránovou iontově selektivní elektrodou (ISE), která reaguje na parciální tlak amoniaku v roztoku (ČSN ISO 6778). Tato metoda se však ve vodohospodářské praxi příliš nepoužívá (Horáková, 2007).

3.2.2 Stanovení dusitanů

Stanovení dusitanů je nezbytné především při rozboru pitných vod. U povrchových a splaškových vod a při analytické kontrole biologických čistíren odpadních vod je stanovení dusitanů součástí dusíkových bilancí (ČSN 75 7220). Dusitany jsou ve vodě velice nestálé, takže se doporučuje analyzovat vzorky vody ihned po odběru, případně vzorky vody konzervovat a uchovávat v chladu. Množství dusitanů ve vodách se udává hmotnostní koncentrací NO_2^- nebo N-NO_2^- v mg.l^{-1} (Horáková, 1982).

Metody stanovení dusitanů ve vodách využívají především schopnost kyseliny dusité diazotovat aromatické aminokyseliny. Diazoniové soli vznikající při této reakci jsou kopulovány s jiným arylaminem za vzniku azobarviva, vhodného pro spektrofotometrické měření. Všeobecně je známa dnes již historická metoda podle Criesse a Ilosvaye, která byla navržena již v roce 1889. Při této metodě je kyselina sulfanilová diazotována a vzniklá diazoniová sůl je pak kopulovaná α -naftylaminem.

Obě tyto reakce probíhají v prostředí kyseliny octové. Jelikož bylo zjištěno, že průběh obou zmíněných reakcí je silně závislý na reakční době, na pH prostředí i na druhu kyseliny, která byla použita k okyselení vzorku, vzniklo i mnoho modifikací této metody. Většina těchto modifikací se liší v reakčních podmínkách stanovení s přihlédnutím k uvedené závislosti. (Horáková, 2007).

α -naftylamin byl však v roce 1966 označen za karcinogenní látku, proto jsou doporučovány ty modifikace, které nahrazují α -naftylamin jinými nekarcinogenními arylaminy pro kopulační reakci při stanovení dusitanů. Nejčastěji se doporučovala Cléve-kyselina, což je 1-naftylamin-7-sulfonová kyselina a N-(1-naftyl)-ethylendiamin-dihydrochlorid, nebo-li NED-dihydrochlorid. Metoda s NED-dihydrochloridem se stala nejpoužívanější a nejrozšířenější metodou pro stanovení dusitanů ve vodách. Tato metoda má také více modifikací (Horáková a kol., 1986).

V těchto modifikacích se k diazotaci používá buď sulfanilová kyselina, nebo amid kyseliny sulfanilové. Amidu kyseliny sulfanilové je přisuzována větší čistota komerčních preparátů, větší stabilita jeho roztoků a také větší reakční rychlost jeho diazoniové soli při kopulaci. Další rozdíl v modifikacích metody s NED-dihydrochloridem je rozdílnost prostředí, ve kterém diazotace a kopulace probíhá (Horáková, 2007). V nyní platné ČSN se pro stanovení dusitanů ve vodách používá k diazotaci amid kyseliny sulfanilové a ke kopulaci NED-dihydrochlorid. Obě reakce probíhají v prostředí, které je okyselené kyselinou fosforečnou (ČSN EN 26777).

Byly prověřovány i metody používající ke kopulaci fenoly, ale v alkalickém prostředí, které je nezbytné ke kopulaci diazoniových solí fenoly, dochází u mnohých vod k vysrážení hydroxidů těžkých kovů. Tím se znemožňuje použití spektrofotometrického vyhodnocení. Dalším činidlem, které reaguje s dusitany za vzniku vhodně barevného produktu je rivanol, nebo-li mléčnan 2-ethoxy-6,9-diaminoakridin. Tato metoda s rivanolem pro stanovení dusitanů v povrchových vodách je nejrozšířenější a nejběžněji především v geologické praxi (Horáková a kol., 1986).

3.2.2.1 Stanovení dusitanů se sulfanilovou kyselinou a α -naftylaminem absorpční spektrofotometrií

Princip metody spočívá v tom, že kyselina sulfanilová je diazotována v prostředí kyseliny chlorovodíkové kyselinou dusitou (z dusitanů ve vzorku) na diazoniovou sůl.

Vzniklá diazoniová sůl je následně kopulována s α -naftylaminem, a to v prostředí upraveném octanovým tlumivým roztokem na hodnotu pH 2 až 2,5, na červenofialové azobarvivo. Metodu je možno použít pro stanovení dusitanů ve všech druzích vod, v koncentraci NO_2^- 0,002 až 0,6 mg.l^{-1} bez ředění vzorku (Horáková a kol., 1986).

3.2.2.2 Stanovení dusitanů se sulfanilovou kyselinou a N-(*-naftyl*)-ethylendiamindihydrochloridem absorpční spektrofotometrií

Kyselina sulfanilová je diazotována kyselinou dusitou (z dusitanů ve vzorku) na diazoniovou sůl, a to v prostředí hydrogensíranu sodného. Vzniklá diazoniová sůl je pak kopulována s NED-hydrochloridem na červené azobarvivo. Intenzita vzniklého zbarvení odpovídá koncentraci dusitanů ve vzorku (Horáková, 2007). Roztok s NED-hydrochloridem se uchovává ve tmě a je stálý asi 1 měsíc. Metodu lze použít pro stanovení dusitanů ve všech druzích vod. Bez ředění vzorku můžeme stanovit dusitany o koncentraci 0,05 až 0,6 mg.l^{-1} NO_2^- (Valentová a kol., 2013).

Pro všechny metody stanovení dusitanů ovšem obecně platí, že stanovení musí být provedeno co nejdříve po odběru vzorku, protože dusitany jsou málo stálé a velice snadno se oxidují na dusičnany. Samovolnému rozkladu dusitanů můžeme zabránit, přechováváme-li vzorky při teplotě 3 až 4 °C (Horáková, 1982).

3.2.3 Stanovení dusičnanů

Dusičnany se stanovují ve všech typech vod a jejich množství se udává hmotnostní koncentrací, a to jako NO_3^- nebo N-NO_3^- v mg.l^{-1} . Stanovení dusičnany je opět nutno provést v den odběru, není-li to možné, je nutno vzorky vody konzervovat a uchovat v chladnu (Horáková, 1982). Dusičnany jsou významným ukazatelem rozboru povrchových vod, a to především při kontrole jakosti vod, ale také při klasifikaci jakosti těchto vod. Při vypouštění odpadních vod do vod povrchových patří obsah NO_3^- k závazným stanoveným ukazatelům, které jsou zpoplatňovány. Stanovení dusičnanů je také součástí dusíkových bilancí při analytické kontrole biologických čistíren odpadních vod (Horáková, 2007).

Pro stanovení dusičnanů ve vodách existuje více metod. Každá metoda má ještě mnoho modifikací, proto doporučených postupů na stanovení dusičnanů jsou stovky. Žádnou metodu z dosud používaných nelze označit za univerzální a nejlepší. Při

různých metodách se totiž uplatňují různé složky vody rušivě a jednotlivé metody stanovení mají také různou citlivost a různý rozsah stanovení (Horáková a kol., 1986).

Z řady vypracovaných metod pro stanovení dusičnanů ve vodách mají největší význam metody absorpční spektrofotometrické, v některých provozech je používána i metoda polarografická (Valentová a kol., 2013). Spektrofotometrické metody lze rozdělit na dvě velké podskupiny, na metody přímého stanovení dusičnanů a na nepřímé metody stanovení dusičnanů, ve kterých jsou dusičnany spektrofotometricky vyhodnocovány jako dusitany nebo jako amoniakální dusík (Horáková, 2007).

U přímého absorpčního spektrofotometrického stanovení dusičnanů se využívá schopnost kyseliny dusičné, uvolněné v kyselém prostředí koncentrované kyseliny sírové, nitrovat některé aromatické látky za vzniku barevných nitroderivátů. Tyto reakce spočívají ve vnesení skupiny $-NO_2$ do aromatického jádra, které pak působí jako chromofor a jsou značně specifické (Horáková a kol., 1986).

Současně platná ČSN, která je kompatibilní s normou ISO, pro stanovení dusičnanů ve vodách uvádí tři přímé spektrofotometrické metody stanovení. První uvádí metodu s 2,6-dimethylfenolem, druhá s 4-fluorfenolem a třetí s kyselinou sulfosalicylovou. Každá z těchto metod má své výhody i nevýhody a bývá vždy doporučována pro určitý druh vody. Metoda s 2,6-dimethylfenolem je pohotová a nenáročná, ale má velkou spotřebu kyselin, kyseliny sírové, kyseliny fosforečné a kyseliny octové. Použitelná je pouze k rozboru pitné či surové vody, není vhodná pro analýzu vod znečištěných nebo vod s větší mineralizací. Další normovaná spektrofotometrická metoda s 4-fluorfenolem je použitelná k rozboru všech druhů vod, tzn. vod znečištěných i velice mineralizovaných. Nevýhodou ale je, že tato metoda je velice pracná a časově náročná. Také pracuje s látkami, které jsou zdravotně velice závadné a hořlavé, jedná se zejména o 4-fluorfenol, 1,4-dioxacyklohexan a toluen. Poslední normovaná spektrofotometrická metoda s kyselinou sulfosalicylovou je poměrně jednoduchá metoda, která je použitelná pro surové a pitné vody. Tato metoda pro stanovení dusičnanů ve vodách byla dříve normativně vedená pro všechny druhy vod a je u nás dosud z manuálních metod nejpoužívanější metodou (Horáková, 2007).

U nepřímého spektrofotometrického stanovení dusičnanů se dusičnany nejdříve redukují na dusitany nebo na amoniakální dusík (Horáková a kol., 1986). Redukce na dusitany se provádí nejčastěji kadmiovou amalgamou, tzv. Jonesovým reduktorem, anebo také hydrazinsulfátem. K redukci na amoniakální dusík se pak nejčastěji

využívala Devardova slitina. Poté jsou dusičnany stanovovány spektrofotometricky jako dusitany nebo jako amoniakální dusík. V praxi jsou používány spíše metody využívající redukci dusičnanů na dusitany (Horáková, 2007).

Kromě absorpčního spektrofotometrického stanovení dusičnanů ve viditelné části spektra se používá i absorpční spektrofotometrická metoda stanovení dusičnanů v ultrafialové oblasti spektra (Horáková a kol., 1986). Stanovení se provádí za přímého měření absorbance dusičnanů v UV oblasti spektra, a to při vlnové délce 220 nm. Při této vlnové délce však vykazují absorbanci i rozpuštěné organické látky, které způsobují pozitivní chybu stanovení. Proto se tato metoda stanovení dusičnanů ve vodách doporučuje jen pro vody pitné a velmi málo znečištěné povrchové vody. Pro čisté vody, zejména pro vody pitné, je používána i potenciometrická metoda stanovení dusičnanů s použitím dusičnanové iontové selektivní elektrody (ISE) (Horáková, 2007).

U čistých vod se pro stanovení dusičnanů používá také metoda polarografická. Principem této metody je redukce dusičnanů na rtuťové kapkové elektrodě v slabě kyselém prostředí při katalytickém působení uranylových iontů. Kde nosný elektrolyt je tvořen roztokem chloridu draselného a kyseliny chlorovodíkové s malým množstvím octanu uranylu. Elektrolyt poskytne dvě polarografické vlny, první odpovídá redukci U^{VI} na U^V a druhá U^V na U^{III} . Obsah dusičnanu ve vzorku se projeví zvýšením druhé polarografické vlny. Kvůli katalytické povaze reakce však není toto zvýšení polarografické vlny přímo úměrné koncentraci dusičnanů. Analyticky využít se dá proto jen v jistém koncentračním rozmezí. Zvýšení vlny závisí na koncentraci uranylových iontů, proto přesnost tohoto stanovení závisí na zachování stanovených pracovních podmínek, hlavně tedy na koncentraci uranylových iontů, a to jak při kalibraci tak při stanovení (Horáková a kol., 1986).

3.2.3.1 Stanovení dusičnanů absorpční spektrofotometrií pomocí kyseliny salicylové

Princip stanovení spočívá v tom, že kyselina dusičná, která je uvolněná kyselinou sírovou z dusičnanů obsažených ve vzorku analyzované vody, nitruje v tomto prostředí kyselinu salicylovou. Při reakci vzniklé nitroderiváty kyseliny salicylové jsou bezbarvé. Následuje zalkalizování roztoku, tzn. ionizace karboxylové skupiny, kdy se tyto nitroderiváty žlutě zbarví. Intenzita zbarvení roztoku je úměrná množství dusičnanů

ve vzorku vody, proto je možno pro stanovení jejich koncentrace použít absorpční spektrofotometrii (ČSN ISO 7890-3).

Metoda se používá pro stanovení dusičnanů v surové a pitné vodě. Použitelnost analýzy silně znečištěných odpadních vod a silně mineralizovaných vod touto metodou je vzhledem k rušivým vlivům silně omezena (Horáková, 2007).

3.2.3.2 Spektrofotometrické stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem ve fotometrických zkumavkách

Dusičnany, které jsou ve vzorku, reagují v prostředí směsi koncentrované kyseliny sírové a koncentrované kyseliny fosforečné s 2,6-dimethylfenolem za vzniku cihlově červeného 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Intenzita zbarvení roztoku je úměrná koncentraci dusičnanů ve vzorku vody, proto je možno pro stanovení použít spektrofotometrické vyhodnocování při vlnové délce 324 nm.

Metoda se používá ke stanovení dusičnanů v pitných a surových vodách, není vhodná pro analýzu vod silně znečištěných nebo s vysokým obsahem solí. Rušivý vliv na stanovení mají dusitany a chloridy (Horáková, 2007).

3.3 Legislativní podklady

Mezi základní vodoprávní legislativní podklady patří zejména:

- zákon 254/2001 Sb. o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon);
- zákon 114/1992 Sb. o ochraně přírody a krajiny;
- nařízení vlády ČR 61/2003 Sb., kterým se stanoví ukazatelé a hodnoty přípustného stupně znečištění vod;
- zákon 274/2001 Sb. o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu a o změně některých zákonů (zákon o vodovodech a kanalizacích);
- vyhláška MŽP 137/1999 Sb., kterou se stanoví seznam vodárenských nádrží a zásady pro stanovení a změny ochranných pásem (OP) vodních zdrojů a další.
- nařízení vlády ČR 262/2012 Sb. o stanovení zranitelných oblastí a akčního programu. (Říha, 2002)

3.3.1 Vodní zákon

Účelem a předmětem tohoto zákona je chránit povrchové a podzemní vody, stanovit podmínky pro hospodárné využívání vodních zdrojů a pro zachování i zlepšení jakosti povrchových a podzemních vod, vytvořit podmínky pro snižování nepříznivých účinků povodní a sucha a zajistit bezpečnost vodních děl v souladu s právem Evropských společenství. Účelem tohoto zákona je též přispívat k zajištění zásobování obyvatelstva pitnou vodou a k ochraně vodních ekosystémů a na nich přímo záviselých suchozemských ekosystémů (Horáček, 2011).

Zákon upravuje právní vztahy k povrchovým a podzemním vodám, vztahy fyzických a právnických osob k využívání povrchových a podzemních vod, jakož i vztahy k pozemkům a stavbám, s nimiž výskyt těchto vod přímo souvisí, a to v zájmu zajištění trvale udržitelného užívání těchto vod, bezpečnosti vodních děl a ochrany před účinky povodní a sucha. V rámci vztahů upravených tímto zákonem se bere v úvahu zásada návratnosti nákladů na vodohospodářské služby, včetně nákladů na související ochranu životního prostředí a nákladů na využívané zdroje, v souladu se zásadou, že znečišťovatel platí (Horáček, 2011).

3.3.2 NV 262/2012 Sb.

Toto nařízení zpracovává příslušné předpisy EU, především Směrnicí rady 91/676/EHS ze dne 12. prosince 1991 o ochraně vod před znečištěním dusičnany ze zemědělských zdrojů. Při vysoké koncentraci dusičnanů ze zemědělských zdrojů může docházet k nežádoucímu zhoršení jakosti povrchových vod. Na základě toho stanovuje toto nařízení zranitelné oblasti a akční program pro tyto oblasti. Zranitelné oblasti jsou územně vymezeny katastrálními územími, jejichž seznam je uveden v příloze č. 1 k tomuto nařízení (www.portal.gov.cz)

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Použité chemikálie

salycilan sodný $C_7H_5O_3Na$

dihydrát citronan trisodný $C_6H_5O_7Na \cdot 2H_2O$

nitroprussid sodný $[Fe(CN)_5NO]Na_2 \cdot 2H_2O$

hydroxid sodný $NaOH$

dihydrát dichlorisokyanuran sodný $C_3N_3O_3Cl_2 \cdot Na \cdot 2H_2O$

2,6 – dimethylfenol $C_8H_{10}O$

kyselina octová $C_2H_4O_2$

kyselina sulfanilová $C_6H_7NO_3S$

hydrogensíran draselný $KHSO_4$

N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochlorid $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$

kyselina sírová H_2SO_4

kyselina fosforečná H_3PO_4

kyselina amidosírová H_3NSO_3

chlorid amonný NH_4Cl

dusičnan draselný KNO_3

dusitan sodný $NaNO_2$

4.2 Příprava činidel ke stanovení iontů dusíku

V červnu roku 2014 jsem si připravila následující činidla:

činidlo 1: vybarvovací činidlo (pro stanovení amonných iontů)

činidlo 2: dichlorisokyanuratan sodný (pro stanovení amonných iontů)

činidlo 3: 2,6 – dimethylfenol (pro stanovení dusičnanového dusíku)

činidlo 4: kyselina sulfanilová (pro stanovení dusitanového dusíku)

činidlo 5: kopulační roztok (pro stanovení dusitanového dusíku).

Vybarvovací činidlo (činidlo 1) jsem připravila navážením 13 g salycilanu sodného do odměrné baňky na 100 ml. Poté jsem přidala 13 g dihydrátu citronanu trisodného a 0,1 g nitroprussidu sodného a po rozpuštění doplnila destilovanou vodou po rysku 100 ml. Roztok dichlorisokyanuratanu sodného (činidlo 2) jsem připravila rozpuštěním 32 g hydroxidu sodného v cca 500 ml destilované vody. Po ochlazení jsem

přidala 2 g dihydrátu dichlorisokyanuranu sodného a po rozpuštění doplnila po rysku 1000 ml.

Roztok 2,6 – dimethylfenolu (čínidlo 3) jsem připravila rozpuštěním 0,12 g 2,6–dimethylfenolu ve 100 ml ledové kyseliny octové.

Roztok kyseliny sulfanilové (čínidlo 4) jsem připravila rozpuštěním 3,46 g kyseliny sulfanilové a 27,2 g hydrogensíranu draselného v 1000 ml destilované vody. Kopulační roztok (čínidlo 5) jsem pak připravila rozpuštěním 0,040 g N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochloridu ve 100 ml destilované vody.

Každé čínidlo jsem rozdělila do 14 plastových nádobek se šroubovým uzávěrem o objemu 50 ml. Následně jsem od každého čínidla 7 nádobek umístila do lednice se standardní teplotou 4 °C a 7 nádobek do mrazicího boxu o standardní teplotě -18°C. Poté jsem namíchala všechna uvedená čínidla ještě jednou a uschovala je ve skleněných lahvích ve skladu chemikálií při konstantní teplotě 23 °C.

4.3 Vlastní stanovení iontů dusíku

Od července 2014 do ledna 2015 jsem každý měsíc v chemické laboratoři na Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství stanovovala ionty amonného, dusičnanového a dusitanového dusíku. Stanovení iontů dusíku jsem prováděla na vzorcích přírodních vod a na připravených roztocích standardu.

Vzorky přírodních vod pocházely z různých zdrojů a každý vzorek vody měl rozdílnou koncentraci sledované látky, standardní roztoky jsem si vždy připravila nové. Ze standardního roztoku pro stanovení amonných iontů (3,819 g chloridu amonného NH_4Cl vysušeného při 105 °C a rozpuštěného v 1 litru destilované vody) jsem připravila smícháním 1 ml chloridu amonného s 1000 ml destilované vody pracovní roztok o koncentraci 1 mg N- NH_4 na litr. Ze standardního roztoku pro stanovení dusičnanového dusíku (0,7216 g dusičnanu draselného KNO_3 vysušeného při 105 °C a rozpuštěného v 1 litru destilované vody) jsem připravila pracovní roztok pro stanovení dusičnanového dusíku smícháním 20 ml dusičnanu draselného s 500 ml destilované vody o koncentraci 4 mg N- NO_3 na litr. Pro stanovení dusitanového dusíku jsem připravila pracovní roztok smícháním 1 ml standardního roztoku dusitanu sodného (0,4926 g dusitanu sodného NaNO_2 vysušeného při 105 °C a rozpuštěného v 1 litru destilované vody) s 1000 ml destilované vody. Tento roztok měl koncentraci 0,1 mg N- NO_2 na litr.

Každé stanovení iontů dusíku jsem prováděla v 5-ti opakováních. Takže na každý den měření jsem měla nachystané tři stojany na zkumavky a v každém bylo 60 zkumavek. Do prvních dvaceti jsem odpipetovala první vzorek přírodní vody, do dalších dvaceti druhý vzorek přírodní vody a do posledních dvaceti zkumavek jsem odpipetovala příslušný roztok standardu. Stanovení iontů dusíku v jednotlivých vzorcích vod a v roztocích standardu jsem prováděla pomocí čerstvě namíchaných činidel, pak pomocí činidel uložených ve skladu při laboratorní teplotě 23 °C, dále pomocí činidel uložených v ledničce (standardní teplota 4 °C) a nakonec pomocí činidel uložených v mrazícím boxu (standardní teplota -18 °C).

4.3.1 Stanovení amonných iontů (N-NH₄⁺)

Amonné ionty jsem stanovovala ve vzorcích vod na principu reakce se salycilanem sodným a s chlornanovými ionty a to v prostředí nitroprussidu sodného za vzniku modrého zbarvení.

Do každé zkumavky jsem odpipetovala 10 ml vzorku vody (nebo roztoku standardu), 0,5 ml roztoku vybarvovacího činidla (činidlo 1) a 0,5 ml dichlorisokyanuranu sodného (činidlo 2). Vzorky jsem následně dobře promíchala a nechala stát při laboratorní teplotě 30 minut. Vzniklé modré zbarvení jsem měřila na přístroji PhotoLab 6600 UV-VIS Series. Každou zkumavku jsem před vložením do přístroje řádně očistila a opatrně promíchala překlopením.

4.3.2 Stanovení dusičnanového dusíku (N-NO₃⁻)

Stanovení jsem prováděla na principu reakce přítomných dusičnanů ve vzorku vody s 2,6 – dimethylfenolem v prostředí směsi koncentrovaných kyselin za vzniku cihlově červeného 4-nitro-2,6-dimethylfenolu.

Při každém stanovení jsem si připravila nově namíchaná činidla, poté jsem použila činidla ze skladu (23 °C), z lednice (4 °C) a nakonec činidla z mrazícího boxu (-18 °C). Akorát činidlo směs kyselin – kyseliny sírové, fosforečné a amidosírové jsem používala již připravenou a uloženou ve skladu chemikálií. Toto činidlo má neomezenou trvanlivost.

Následně jsem do fotometrické zkumavky odpipetovala 3,5 ml směsi kyselin. K tomu jsem přidala 0,5 ml vzorku vody (nebo roztoku standardu) a směs jsem opatrně promíchala. Poté jsem přidala 0,5 ml 2,6-dimethylfenolu (činidlo 3) a zkumavku

uzavřela šroubovým uzávěrem a důkladně promíchala. Cca po 15 minutách jsem měřila absorbanci na přístroji PhotoLab 6600 UV-VIS Series. Každou zkumavku jsem před vložením do přístroje opět řádně očistila a opatrně promíchala překlopením.

4.3.3 Stanovení dusitanového dusíku (N-NO_2^-)

Dusitany jsem stanovovala na principu diazotace kyseliny sulfanilové přítomnými dusitany a kopulace diazoniové soli s N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochloridem za vzniku červeného azobarviva.

Do každé zkumavky jsem odpipetovala 10 ml vzorku vody (nebo standardu), 0,5 ml kyseliny sulfanilové (činidlo 4) a 0,5 ml kopulačního roztoku (činidlo 5). Všechny zkumavky jsem uzavřela šroubovým uzávěrem a řádně promíchala. Poté jsem zkumavky nechala ještě 20 minut stát při laboratorní teplotě. Následně jsem měřila absorbanci na přístroji PhotoLab 6600 UV-VIS Series. Každou zkumavku jsem před vložením do přístroje opět řádně očistila a opatrně promíchala překlopením.

4.4 Přístroje a pomůcky

Všechna měření jsem prováděla pomocí přístroje PhotoLab 6600 UV-VIS. Jedná se o spektrofotometr, který pracuje na bázi průchodu světla skrze připravený vzorek a při určité vlnové délce měří požadované hodnoty. Z těchto hodnot a ze srovnání s nulovým vzorkem je automaticky vypočítána koncentrace. Přístroj má rozsah vlnové délky v rozmezí 190 do 1100 nm a zdrojem světla je xenonová výbojka.

Dále jsem k této práci v laboratoři používala analytické váhy, automatickou pipetu, vyměnitelné špičky, magnetickou míchačku, odměrné baňky se šroubovým uzávěrem, kádinky různé velikosti, zkumavky, lžičky, pinzetu, aj.

5 VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUSE

První stanovení iontů dusíku jsem prováděla 23. 7. 2014, namíchala jsem čerstvá činidla a dále jsem používala činidla měsíc stará, uložená ve skladu (23 °C), v lednici (4 °C) a v mrazicím boxu (-18 °C). Stanovení jsem prováděla na dvou vzorcích přírodních vod a na standardech, které jsem si namíchala dle výše zmíněného postupu. V tabulce č. 1 jsou uvedeny výsledky stanovení amonných iontů ve vzorcích vod, v tabulce č. 2 výsledky stanovení dusitanového dusíku a v tabulce č. 3 výsledky stanovení dusičnanového dusíku. Každé stanovení jsem prováděla v pěti opakováních, následně jsem vyřadila nejnižší a nejvyšší hodnoty a ze třech zbylých výsledků jsem vypočítala průměr.

Tabulka č. 1: Koncentrace $N-NH_4^+$ v $mg.l^{-1}$ (23. 7. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,89	0,82	0,89	0,90
	2.	0,88	0,83	0,89	0,91
	3.	0,89	0,83	0,88	0,91
	4.	0,87	0,82	0,87	0,90
	5.	0,87	0,83	0,89	0,92
	průměr	0,88	0,83	0,89	0,91
vzorek vody č. 1	1.	0,04	0,04	0,04	0,04
	2.	0,04	0,04	0,03	0,04
	3.	0,03	0,04	0,03	0,04
	4.	0,03	0,03	0,02	0,03
	5.	0,03	0,03	0,02	0,02
	průměr	0,03	0,04	0,03	0,04
vzorek vody č. 2	1.	0,60	0,57	0,59	0,61
	2.	0,60	0,57	0,59	0,60
	3.	0,59	0,57	0,59	0,60
	4.	0,59	0,56	0,59	0,61
	5.	0,58	0,56	0,59	0,60
	průměr	0,59	0,57	0,59	0,60

Naměřené hodnoty u vzorku vody č. 1, kde je malé množství amoniakálního dusíku, jsou téměř stejné, bez ohledu na použité činidlo. U standardu i u vzorku vody č. 2, kde

je již větší množství amoniakálního dusíku, lze z výsledků vyčíst, že při použití činidla ze skladu (tzn. měsíc starého skladovaného při 23 °C) jsou výsledky již nepatrně nižší než výsledky, kde bylo použito jiné činidlo.

Tabulka č. 2: Koncentrace $N-NO_2^-$ v $mg.l^{-1}$ (23. 7. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,108	0,105	0,107	0,107
	2.	0,109	0,106	0,107	0,106
	3.	0,108	0,106	0,107	0,107
	4.	0,108	0,105	0,106	0,107
	5.	0,110	0,104	0,107	0,107
	průměr	0,108	0,105	0,107	0,107
vzorek vody č. 1	1.	0,038	0,036	0,036	0,037
	2.	0,038	0,035	0,036	0,036
	3.	0,036	0,035	0,035	0,036
	4.	0,036	0,036	0,036	0,037
	5.	0,037	0,036	0,036	0,036
	průměr	0,037	0,036	0,036	0,036
vzorek vody č. 2	1.	0,028	0,028	0,029	0,028
	2.	0,028	0,028	0,028	0,029
	3.	0,029	0,028	0,029	0,028
	4.	0,028	0,029	0,028	0,028
	5.	0,029	0,029	0,028	0,029
	průměr	0,028	0,028	0,028	0,028

U stanovení dusitanového dusíku jsou výsledky měření u vzorku vody č. 1 i 2 téměř stejné bez ohledu na použité činidlo. U standardu jsou výsledky měření za použití činidel ze skladu (23 °C) opět nižší než za použití jiných činidel.

Tabulka č. 3: Koncentrace $N-NO_3^-$ v $mg.l^{-1}$ (23. 7. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	4,43	4,21	4,04	4,00

	2.	4,42	4,21	4,07	3,92
	3.	4,44	4,23	4,02	3,94
	4.	4,42	4,25	4,03	3,90
	5.	4,44	4,22	4,07	3,90
	průměr	4,43	4,22	4,05	3,92
vzorek vody č. 1	1.	49,30	49,01	49,56	49,59
	2.	49,39	48,99	49,62	49,62
	3.	49,34	48,99	49,63	49,61
	4.	49,40	49,10	49,54	49,70
	5.	49,40	49,12	49,63	49,59
	průměr	49,38	49,03	49,60	49,61
vzorek vody č. 2	1.	1,18	1,17	1,56	1,36
	2.	1,13	1,27	1,61	1,35
	3.	1,21	1,31	1,71	1,36
	4.	1,14	1,23	1,75	1,46
	5.	1,14	1,17	1,65	1,36
	průměr	1,15	1,22	1,66	1,36

Při stanovení dusičnanového dusíku vychází naměřené hodnoty u jednotlivých vzorků hodně odlišně. Výsledky u standardu jsou nejnižší za použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C) a nejvyšší za použití nově namíchaného činidla. Vzorek vody č. 1 zase vykazuje nejnižší hodnoty při použití činidla ze skladu (23 °C) a nejvyšší při použití činidel z lednice (4 °C) a z boxu (-18 °C). Nejnižší hodnoty u vzorku vody č. 2 jsou za použití nově namíchaného činidla a nejvyšší při použití činidla z lednice (4 °C).

Další stanovení iontů dusíku ve vodách jsem prováděla 25. 8. 2014, opět jsem namíchala čerstvá činidla a dále jsem používala činidla dva měsíce stará, uložená ve skladu (23 °C), v lednici (4 °C) a v mrazicím boxu (-18 °C). Stanovení jsem prováděla opět na dvou vzorcích přírodních vod a na standardech, které jsem si nově namíchala. V tabulce č. 4 jsou zaznamenány výsledky ze stanovení amonných iontů, v tabulce č. 5 jsou uvedeny výsledky ze stanovení dusitanů a v tabulce č. 6 jsou uvedeny výsledky ze stanovení dusičnanů.

Tabulka č. 4: Koncentrace $N-NH_4^+$ v $mg.l^{-1}$ (25. 8. 2014)

		činidlo			
vzorek vody	měření	čerstvé	ze skladu	z lednice	z mrazicího

			(23 °C)	(4 °C)	boxu (-18 °C)
standard	1.	1,06	0,95	1,07	1,07
	2.	1,06	0,95	1,07	1,07
	3.	1,06	0,95	1,07	1,07
	4.	1,06	0,95	1,06	1,07
	5.	1,06	0,95	1,07	1,06
	průměr	1,06	0,95	1,07	1,07
vzorek vody č. 1	1.	0,03	0,04	0,03	0,03
	2.	0,03	0,04	0,03	0,03
	3.	0,03	0,04	0,03	0,03
	4.	0,03	0,04	0,03	0,03
	5.	0,03	0,04	0,03	0,02
	průměr	0,03	0,04	0,03	0,03
vzorek vody č. 2	1.	0,09	0,10	0,10	0,09
	2.	0,09	0,10	0,10	0,09
	3.	0,10	0,11	0,10	0,09
	4.	0,10	0,10	0,10	0,09
	5.	0,09	0,10	0,10	0,09
	průměr	0,09	0,10	0,10	0,09

Zde jsou opět u standardu naměřené hodnoty za použití činidla ze skladu (23 °C) nejnižší. Všechny ostatní naměřené hodnoty jsou relativně vyrovnané.

Tabulka č. 5: Koncentrace $N-NO_2^-$ v $mg.l^{-1}$ (25. 8. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,081	0,089	0,089	0,092
	2.	0,080	0,089	0,089	0,090
	3.	0,080	0,088	0,089	0,090
	4.	0,081	0,087	0,089	0,090
	5.	0,081	0,087	0,09	0,091
	průměr	0,081	0,088	0,089	0,090
vzorek vody č. 1	1.	0,039	0,044	0,041	0,042
	2.	0,039	0,044	0,041	0,042
	3.	0,039	0,043	0,041	0,041
	4.	0,039	0,043	0,042	0,042

	5.	0,038	0,043	0,041	0,041
	průměr	0,039	0,043	0,041	0,042
vzorek vody č. 2	1.	0,064	0,070	0,070	0,070
	2.	0,064	0,069	0,069	0,070
	3.	0,065	0,071	0,070	0,070
	4.	0,065	0,070	0,070	0,070
	5.	0,065	0,070	0,071	0,069
	průměr	0,065	0,070	0,070	0,070

U výsledků ze stanovení dusitanů můžeme vidět, že nejnižší hodnoty ve všech třech vzorcích vod jsou za použití nově namíchaného činidla. Při použití dva měsíce starého činidla, bez ohledu na konzervaci, mají naměřené hodnoty ve vzorcích vod rostoucí tendenci.

Tabulka č. 6: Koncentrace $N\text{-NO}_3^-$ v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (25. 8. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	4,43	4,21	4,04	4,01
	2.	4,42	4,20	4,09	3,92
	3.	4,44	4,23	4,00	3,94
	4.	4,42	4,29	4,03	3,89
	5.	4,44	4,22	4,07	3,87
	průměr	4,42	4,22	4,05	3,92
vzorek vody č. 1	1.	14,10	13,90	13,90	13,90
	2.	14,10	13,80	13,90	13,90
	3.	14,00	14,00	13,90	14,00
	4.	14,00	14,00	13,90	13,90
	5.	14,20	14,00	14,10	14,00
	průměr	14,10	14,00	13,90	13,90
vzorek vody č. 2	1.	22,80	21,90	22,80	22,50
	2.	22,80	21,90	22,80	22,70
	3.	22,60	21,90	22,80	22,50
	4.	22,60	22,00	22,60	22,40
	5.	22,80	22,00	22,60	22,40
	Průměr	22,70	21,90	22,70	22,50

Výsledky u standardu jsou nejnižší za použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C) a nejvyšší za použití nově namíchaného činidla (stejně tak jak z 23. 7. 2014). Vzorek vody č. 1 vykazuje nejnižší hodnoty při použití činidel z lednice (4 °C) a z mrazicího boxu (-18 °C) a nejvyšší při použití nově namíchaného činidla. Nejnižší hodnoty u vzorku vody č. 2 jsou za použití činidla ze skladu (23 °C) a nejvyšší za použití činidel z lednice (4 °C) a nově namíchaného činidla.

23. 9. 2014 jsem prováděla další stanovení iontů dusíku. Stanovení jsem prováděla opět na dvou vzorcích přírodních vod a na standardech, které jsem namíchala.

Tabulka č. 7: Koncentrace $N-NH_4^+$ v $mg.l^{-1}$ (23. 9. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (18 °C)
standard	1.	0,95	0,76	1,01	1,00
	2.	0,94	0,75	1,00	1,01
	3.	0,95	0,74	0,99	1,00
	4.	0,96	0,73	0,99	1,00
	5.	0,96	0,73	1,00	1,01
	průměr	0,95	0,74	1,00	1,00
vzorek vody č. 1	1.	1,06	0,59	1,00	1,03
	2.	1,07	0,60	1,00	1,04
	3.	1,07	0,58	0,99	1,02
	4.	1,06	0,60	0,99	1,02
	5.	1,08	0,60	0,99	1,02
	průměr	1,07	0,60	0,99	1,02
vzorek vody č. 2	1.	0,07	0,06	0,06	0,06
	2.	0,07	0,07	0,07	0,06
	3.	0,07	0,07	0,07	0,06
	4.	0,07	0,07	0,06	0,07
	5.	0,07	0,07	0,07	0,08
	průměr	0,07	0,07	0,07	0,06

Z tabulky č. 7 můžeme vyčíst, že nejnižší hodnoty byly opět naměřeny za použití činidel ze skladu (23 °C) a to ze stanovení amonného dusíku ve standardu i ve vzorku vody č. 1. Ve vzorku vody č. 2 jsou všechny naměřené hodnoty téměř stejné.

Tabulka č. 8: Koncentrace $N\text{-NO}_2^-$ v mg.l^{-1} (23. 9. 2014)

vzorek vody	měření	čínidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,098	0,100	0,099	0,1
	2.	0,099	0,100	0,100	0,1
	3.	0,099	0,100	0,099	0,1
	4.	0,099	0,101	0,101	0,099
	5.	0,099	0,099	0,100	0,099
	průměr	0,099	0,100	0,100	0,100
vzorek vody č. 1	1.	0,109	0,111	0,112	0,111
	2.	0,109	0,11	0,112	0,11
	3.	0,11	0,111	0,111	0,109
	4.	0,108	0,11	0,111	0,11
	5.	0,109	0,109	0,111	0,112
	průměr	0,109	0,110	0,111	0,110
vzorek vody č. 2	1.	0,033	0,034	0,034	0,034
	2.	0,033	0,034	0,034	0,033
	3.	0,034	0,034	0,035	0,034
	4.	0,034	0,033	0,034	0,034
	5.	0,035	0,034	0,033	0,033
	průměr	0,034	0,034	0,034	0,034

Naměřené hodnoty ze stanovení dusitanového dusíku uvedené v tabulce č. 8 jsou relativně vyrovnané, ve vzorku vody č. 2 jsou dokonce všechny hodnoty stejné, bez ohledu na použité čínidlo.

Tabulka č. 9: Koncentrace $N\text{-NO}_3^-$ v mg.l^{-1} (23. 9. 2014)

vzorek vody	měření	čínidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	3,38	3,67	3,43	3,61
	2.	3,54	3,59	3,58	3,57
	3.	3,67	3,63	3,50	3,52
	4.	3,62	3,71	3,46	3,48

	5.	3,44	3,68	3,54	3,42
	Průměr	3,53	3,66	3,50	3,52
vzorek vody č. 1	1.	51,37	51,64	51,34	51,40
	2.	51,40	51,57	51,37	51,36
	3.	51,41	51,28	51,56	51,39
	4.	51,40	51,51	51,48	51,13
	5.	51,49	51,31	51,39	51,29
	Průměr	51,40	51,46	51,41	51,35
vzorek vody č. 2	1.	13,13	13,30	12,44	12,88
	2.	12,95	13,19	12,48	12,98
	3.	12,90	13,25	13,26	13,18
	4.	13,15	13,31	13,38	13,18
	5.	13,08	13,32	13,27	13,16
	Průměr	13,05	13,29	13,00	13,11

Výsledky měření uvedené v tabulce č. 9 jsou u standardu nejnižší za použití činidla z lednice (4 °C) a nejvyšší za použití činidla ze skladu (23 °C). Vzorek vody č.1 vykazuje nejnižší hodnoty při použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C) a nejvyšší při použití činidla ze skladu (23 °C). Nejnižší hodnoty u vzorku vody č. 2 jsou za použití činidla z lednice (4 °C) a nejvyšší za použití činidla ze skladu (23 °C).

Další měření jsem prováděla 21. 10. 2014. V tabulce č. 10 jsou zaznamenány výsledky měření ze stanovení amonného dusíku ve vzorcích vod, v tabulce č. 11 jsou zaznamenány výsledky měření ze stanovení dusitanového dusíku a v tabulce č. 12 jsou výsledky měření ze stanovení dusičnanového dusíku.

Tabulka č. 10: Koncentrace $N-NH_4^+$ v $mg.l^{-1}$ (21. 10. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	1,00	0,62	1,01	1,00
	2.	1,00	0,62	1,00	1,00
	3.	1,01	0,63	1,00	1,01
	4.	0,99	0,62	1,00	0,99
	5.	1,01	0,63	0,98	0,99
	průměr	1,00	0,62	1,00	1,00

vzorek vody č. 1	1.	0,05	0,04	0,06	0,06
	2.	0,05	0,06	0,05	0,06
	3.	0,05	0,06	0,05	0,05
	4.	0,05	0,05	0,05	0,06
	5.	0,05	0,05	0,06	0,05
	průměr	0,05	0,05	0,05	0,06
vzorek vody č. 2	1.	0,72	0,49	0,75	0,75
	2.	0,75	0,49	0,75	0,74
	3.	0,74	0,51	0,74	0,74
	4.	0,74	0,50	0,75	0,75
	5.	0,74	0,51	0,74	0,74
	průměr	0,74	0,50	0,75	0,74

Z tabulky vyplývá, že nejnižší hodnoty byly naměřeny při stanovení amonných iontů pomocí činidel ze skladu, tj. čtyři měsíce starého skladovaného při 23 °C, bez konzervace (u standardu i u vzorku vody č. 2). Ostatní hodnoty jsou vyrovnané.

Tabulka č. 11: Koncentrace N-NO₂⁻ v mg.l⁻¹ (21. 10. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,114	0,115	0,114	0,111
	2.	0,113	0,113	0,113	0,110
	3.	0,115	0,112	0,113	0,110
	4.	0,114	0,112	0,112	0,110
	5.	0,113	0,114	0,113	0,111
	průměr	0,114	0,113	0,113	0,110
vzorek vody č. 1	1.	0,001	0,002	0,002	0,001
	2.	0,002	0,001	0,002	0,002
	3.	0,001	0,001	0,002	0,002
	4.	0,001	0,002	0,003	0,001
	5.	0,001	0,002	0,002	0,001
	průměr	0,001	0,002	0,002	0,001
vzorek vody č. 2	1.	0,567	0,567	0,563	0,565
	2.	0,566	0,563	0,554	0,561
	3.	0,563	0,562	0,553	0,565
	4.	0,561	0,561	0,557	0,567

	5.	0,562	0,560	0,556	0,566
	průměr	0,564	0,562	0,556	0,565

Výsledky měření ze stanovení dusitanů jsou relativně vyrovnané, u standardu byla nejnižší hodnota naměřena při použití činidel z mrazicího boxu (-18°C) a nejvyšší při použití nově namíchaných činidel. U vzorku vody č. 2 byla pak nejnižší hodnota naměřena za použití činidel z lednice (4 °C), ostatní hodnoty jsou téměř vyrovnané.

Tabulka č. 12: Koncentrace N-NO₃⁻ v mg.l⁻¹ (21. 10. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	4,06	3,90	3,69	3,99
	2.	4,00	3,83	3,87	3,88
	3.	3,74	3,97	3,72	3,94
	4.	3,93	3,76	4,05	3,95
	5.	3,64	3,79	3,66	3,69
	průměr	3,89	3,84	3,76	3,92
vzorek vody č. 1	1.	0,36	0,54	0,57	0,62
	2.	0,42	0,62	0,45	0,66
	3.	0,30	0,54	0,53	0,81
	4.	0,37	0,53	0,42	0,65
	5.	0,33	0,54	0,50	0,72
	průměr	0,35	0,54	0,49	0,68
vzorek vody č. 2	1.	13,57	13,82	13,9	13,74
	2.	13,67	14,50	14,66	14,55
	3.	14,19	14,77	14,80	14,99
	4.	14,02	14,43	14,49	14,29
	5.	13,41	13,80	13,85	13,95
	průměr	13,75	14,25	14,35	14,26

Nejnižší hodnoty z tohoto měření jsou u standardu při použití činidla z lednice (4 °C), u vzorku vody č. 1 i 2 při použití čerstvého činidla. Nejvyšší hodnoty byly pak naměřeny při použití činidel z mrazicího boxu (u standardu a vz. vody č. 1) a z lednice (u vz. vody č. 2).

25. 11. 2014 jsem prováděla další stanovení iontů dusíku ve vodách. Opět jsem namíchala standardy a čerstvá činidla.

Tabulka č. 13: Koncentrace $N-NH_4^+$ v $mg.l^{-1}$ (25. 11. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,93	0,46	0,98	0,96
	2.	0,95	0,46	0,97	0,94
	3.	0,96	0,46	0,95	0,95
	4.	0,93	0,47	0,96	0,95
	5.	0,96	0,45	0,97	0,96
	Průměr	0,95	0,46	0,97	0,95
vzorek vody č. 1	1.	1,98	0,51	1,97	2,08
	2.	2,06	0,52	1,93	2,06
	3.	2,00	0,51	1,85	1,94
	4.	2,06	0,53	1,89	2,02
	5.	2,03	0,53	1,89	1,98
	průměr	2,03	0,52	1,90	2,02
vzorek vody č. 2	1.	2,33	0,65	2,18	2,35
	2.	2,34	0,61	2,23	2,36
	3.	2,28	0,60	2,24	2,37
	4.	2,29	0,60	2,20	2,30
	5.	2,28	0,63	2,20	2,31
	průměr	2,30	0,61	2,21	2,34

Z tabulky č. 13 je jasně patrné, že naměřené hodnoty ze stanovení amonných iontů za pomoci činidel ze skladu, které jsou již pět měsíců staré a nejsou konzervovány chladem, jsou výrazně odlišné (nižší) než hodnoty, které byly stanoveny pomocí ostatních činidel. U vzorku vody č. 1 i 2 pak můžeme vidět i výraznější pokles hodnot, které byly stanoveny pomocí činidel z lednice (4 °C).

Tabulka č. 14: Koncentrace $N-NO_2^-$ v $mg.l^{-1}$ (25. 11. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu

					(-18 °C)
standard	1.	0,113	0,116	0,114	0,113
	2.	0,111	0,114	0,113	0,113
	3.	0,112	0,113	0,113	0,111
	4.	0,111	0,114	0,113	0,113
	5.	0,111	0,114	0,114	0,112
	průměr	0,111	0,114	0,113	0,113
vzorek vody č. 1	1.	0,752	0,755	0,759	0,754
	2.	0,750	0,754	0,760	0,748
	3.	0,753	0,749	0,753	0,752
	4.	0,749	0,750	0,752	0,746
	5.	0,748	0,752	0,755	0,749
	průměr	0,750	0,752	0,756	0,750
vzorek vody č. 2	1.	0,606	0,610	0,615	0,614
	2.	0,601	0,604	0,611	0,609
	3.	0,601	0,604	0,612	0,606
	4.	0,599	0,603	0,615	0,609
	5.	0,605	0,609	0,613	0,611
	průměr	0,602	0,606	0,613	0,610

Mezi naměřenými hodnotami ze stanovení dusitanového dusíku, které jsou uvedeny v tabulce č. 14, nejsou velké rozdíly. U všech třech vzorků vody byly nejnižší hodnoty naměřeny za použití čerstvých činidel.

Tabulka č. 15: Koncentrace $N\text{-NO}_3^-$ v mg.l^{-1} (25. 11. 2014)

vzorek vody	měření	čínidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	4,15	4,22	4,08	4,36
	2.	4,52	4,60	4,25	4,11
	3.	4,43	4,42	4,25	4,35
	4.	4,41	4,40	4,27	4,22
	5.	4,21	4,19	4,32	4,24
	průměr	4,35	4,35	4,26	4,27
vzorek vody č. 1	1.	1,09	1,26	1,19	1,56
	2.	1,28	1,49	1,3	1,75
	3.	1,18	1,39	1,47	1,7

	4.	1,12	1,31	1,57	1,83
	5.	1,16	1,24	1,47	1,79
	průměr	1,15	1,32	1,41	1,75
vzorek vody č. 2	1.	6,35	6,29	6,37	6,53
	2.	6,29	6,46	6,25	6,75
	3.	6,35	6,54	6,56	6,71
	4.	6,21	6,47	6,20	6,71
	5.	6,10	6,29	6,30	6,53
	průměr	6,28	6,41	6,31	6,65

Naměřené hodnoty ze stanovení dusičnanového dusíku, uvedené v tabulce č. 15, jsou u jednotlivých vzorků docela odlišně. Výsledky u standardu jsou ještě relativně vyrovnané, nejnižší hodnoty byly naměřeny při použití činidla z lednice (4 °C) a nejvyšší za použití nově namíchaného činidla a činidla ze skladu (23 °C). Vzorek vody č. 1 zase vykazuje nejnižší hodnoty při použití čerstvého činidla a nejvyšší při použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C), přičemž rozdíl činí až 0,60 mg.l⁻¹. Nejnižší hodnoty u vzorku vody č. 2 byly naměřeny při použití nově namíchaného činidla a nejvyšší při použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C).

Další měření jsem prováděla 22. 12. 2014. V tabulce č. 16 jsou zaznamenány hodnoty ze stanovení amonných iontů, v tabulce č. 17 ze stanovení dusitanů a v tabulce č. 18 ze stanovení dusičnanů.

Tabulka č. 16: Koncentrace N-NH₄⁺ v mg.l⁻¹ (22. 12. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,88	0,31	0,87	0,87
	2.	0,87	0,32	0,87	0,85
	3.	0,86	0,31	0,86	0,86
	4.	0,88	0,32	0,87	0,87
	5.	0,88	0,31	0,87	0,87
	průměr	0,88	0,31	0,87	0,87
vzorek vody č. 1	1.	0	0	0	0
	2.	0	0	0	0
	3.	0	0	0	0

	4.	0	0	0	0
	5.	0	0	0	0
	průměr	0	0	0	0
vzorek vody č. 2	1.	0,03	0,02	0,04	0,03
	2.	0,03	0,02	0,03	0,02
	3.	0,03	0,02	0,03	0,03
	4.	0,03	0,03	0,03	0,02
	5.	0,03	0,02	0,03	0,03
	průměr	0,03	0,02	0,03	0,03

Z výsledků, které byly naměřeny (vzorek vody č. 1 měl všechny hodnoty pod limitem detekce) vyplývá, že nejnižší hodnoty byly naměřeny při použití činidel ze skladu, tj. šest měsíců starého bez konzervace při cca 23 °C. Ostatní hodnoty jsou vyrovnané.

Tabulka č. 17: Koncentrace N-NO₂⁻ v mg.l⁻¹ (22. 12. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,113	0,114	0,112	0,106
	2.	0,111	0,114	0,111	0,106
	3.	0,112	0,112	0,111	0,106
	4.	0,111	0,112	0,111	0,106
	5.	0,112	0,112	0,110	0,106
	průměr	0,112	0,113	0,111	0,106
vzorek vody č. 1	1.	0,338	0,339	0,337	0,313
	2.	0,338	0,339	0,336	0,315
	3.	0,338	0,338	0,336	0,314
	4.	0,338	0,337	0,336	0,315
	5.	0,339	0,337	0,336	0,314
	průměr	0,338	0,338	0,336	0,314
vzorek vody č. 2	1.	0,275	0,278	0,276	0,258
	2.	0,276	0,278	0,276	0,258
	3.	0,275	0,278	0,276	0,258
	4.	0,277	0,279	0,276	0,257
	5.	0,275	0,280	0,277	0,258
	průměr	0,275	0,278	0,276	0,258

Výsledky ze stanovení dusitanového dusíku jsou téměř vyrovnané, jen hodnoty stanovené za použití činidel z mrazicího boxu (-18 °C) jsou výrazně nižší u všech tří vzorků vody.

Tabulka č. 18: Koncentrace $N-NO_3^-$ v $mg.l^{-1}$ (22. 12. 2014)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	4,07	3,95	3,55	3,63
	2.	3,92	3,72	3,68	3,66
	3.	3,89	3,79	3,78	3,78
	4.	4,10	3,79	3,77	3,69
	5.	3,99	3,84	3,99	3,69
	průměr	3,99	3,81	3,74	3,68
vzorek vody č. 1	1.	30,78	31,41	30,86	31,58
	2.	31,75	31,63	31,07	31,55
	3.	31,58	31,84	30,96	31,87
	4.	31,41	31,63	31,30	31,73
	5.	31,83	31,94	31,13	31,54
	průměr	31,58	31,70	31,05	31,62
vzorek vody č. 2	1.	1,23	0,89	1,11	0,98
	2.	1,09	1,11	1,21	1,24
	3.	0,90	1,12	0,98	1,08
	4.	0,97	1,02	1,24	1,19
	5.	0,87	0,95	0,95	0,90
	průměr	0,99	1,03	1,10	1,08

Výsledky ze stanovení dusičnanového dusíku jsou především u vzorku vody č. 1 velice odlišné. Výsledky u standardu jsou nejnižší za použití činidla z mrazicího boxu (-18 °C) a nejvyšší za použití nově namíchaného činidla. Hodnoty u vzorku vody č. 1 jsou nejnižší za použití činidla z lednice (4 °C) a nejvyšší při použití činidla ze skladu (23 °C). Nejnižší hodnoty u vzorku vody č. 2 jsou za použití nově namíchaného činidla a nejvyšší při použití činidla z lednice (4 °C).

22. 1. 2015 jsem pak prováděla poslední stanovení iontů dusíku ve vodách za pomoci činidel ze skladu (23 °C), z lednice (4 °C) a z mrazicího boxu (-18 °C).

V tabulce č. 19 jsou zaznamenány hodnoty ze stanovení amonných iontů, bohužel vzorek vody č. 2 měl všechny hodnoty pod detekčním limitem, který je pro amoniak 0,01 mg.l⁻¹ a vzorek vody č. 1 měl také většinu hodnot pod limitem detekce. V tabulce č. 20 jsou pak zaznamenány hodnoty ze stanovení dusitanů a v tabulce č. 21 ze stanovení dusičnanů.

Tabulka č. 19: Koncentrace N-NH₄⁺ v mg.l⁻¹ (22. 1. 2015)

vzorek vody	měření	čínidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	0,88	0,20	0,99	1,00
	2.	0,89	0,20	1,00	1,01
	3.	0,89	0,20	0,99	1,00
	4.	0,89	0,21	1,00	1,00
	5.	0,89	0,21	1,00	0,98
	průměr	0,89	0,20	1,00	1,00
vzorek vody č. 1	1.	0	0	0,02	0,01
	2.	0	0	0,02	0
	3.	0,01	0	0,01	0,01
	4.	0	0	0,01	0,01
	5.	0	0	0,01	0,01
	průměr	0	0	0,01	0,01
vzorek vody č. 2	1.	0	0	0	0
	2.	0	0	0	0
	3.	0	0	0	0
	4.	0	0	0	0
	5.	0	0	0	0
	průměr	0	0	0	0

Z výsledků lze optimálně zhodnotit jen naměřené hodnoty u standardu, kde výrazně nižší hodnoty byly naměřeny při použití čínidel ze skladu, tj. sedm měsíců starých a skladovaných při cca 23 °C bez konzervace.

Tabulka č. 20: Koncentrace N-NO₂⁻ v mg.l⁻¹ (22. 1. 2015)

vzorek vody	měření	čínidlo			
		čerstvé	ze skladu	z lednice	z mrazicího

			(23 °C)	(4 °C)	boxu (-18 °C)
standard	1.	0,106	0,109	0,108	0,111
	2.	0,107	0,112	0,109	0,109
	3.	0,106	0,110	0,111	0,113
	4.	0,107	0,110	0,11	0,111
	5.	0,108	0,110	0,109	0,113
	průměr	0,107	0,110	0,109	0,112
vzorek vody č. 1	1.	0,116	0,121	0,120	0,109
	2.	0,116	0,120	0,120	0,109
	3.	0,115	0,120	0,121	0,110
	4.	0,115	0,121	0,119	0,109
	5.	0,114	0,121	0,121	0,111
	průměr	0,115	0,121	0,120	0,109
vzorek vody č. 2	1.	0,338	0,349	0,346	0,319
	2.	0,337	0,345	0,340	0,316
	3.	0,335	0,345	0,340	0,314
	4.	0,338	0,348	0,344	0,314
	5.	0,337	0,343	0,343	0,315
	průměr	0,338	0,346	0,342	0,315

U standardu byly nejnižší hodnoty naměřeny při použití čerstvého činidla, ostatní hodnoty jsou relativně vyrovnané. Vzorek vody č. 1 zase vykazuje nejnižší hodnoty při použití činidel z mrazicího boxu (-18 °C), stejně tak vzorek vody č. 2. Ostatní hodnoty jsou již vyrovnanější.

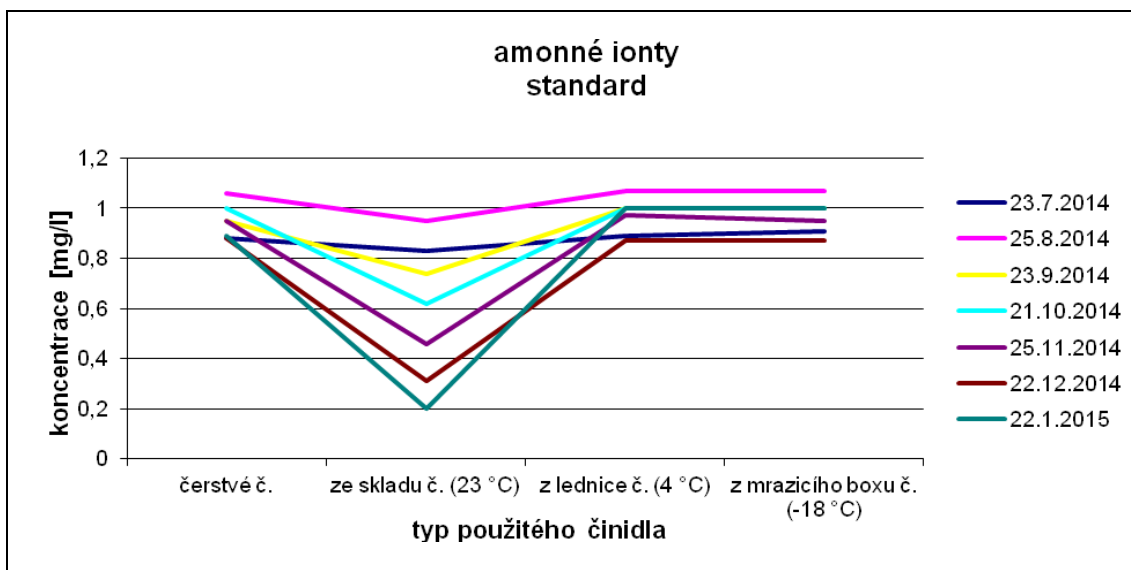
Tabulka č. 21: Koncentrace N-NO₃⁻ v mg.l⁻¹ (22. 1. 2015)

vzorek vody	měření	činidlo			
		čerstvé	ze skladu (23 °C)	z lednice (4 °C)	z mrazicího boxu (-18 °C)
standard	1.	3,57	3,67	4,01	3,57
	2.	3,71	3,45	3,64	3,43
	3.	3,75	3,53	3,71	3,45
	4.	3,65	3,71	3,81	3,47
	5.	3,58	3,59	3,82	3,61
	průměr	3,65	3,57	3,78	3,50
vzorek vody č. 1	1.	49,23	49,47	49,52	49,33

	2.	49,12	49,58	49,85	49,28
	3.	48,83	49,68	49,44	49,36
	4.	49,01	49,61	49,78	49,49
	5.	49,30	49,56	49,48	49,25
	průměr	49,12	49,58	49,60	49,32
vzorek vody č. 2	1.	16,08	16,14	15,93	15,9
	2.	16,15	16,10	16,15	15,71
	3.	16,38	16,25	15,89	16,18
	4.	16,02	16,37	16,20	16,22
	5.	16,41	16,49	15,99	15,87
	průměr	16,20	16,25	16,02	15,98

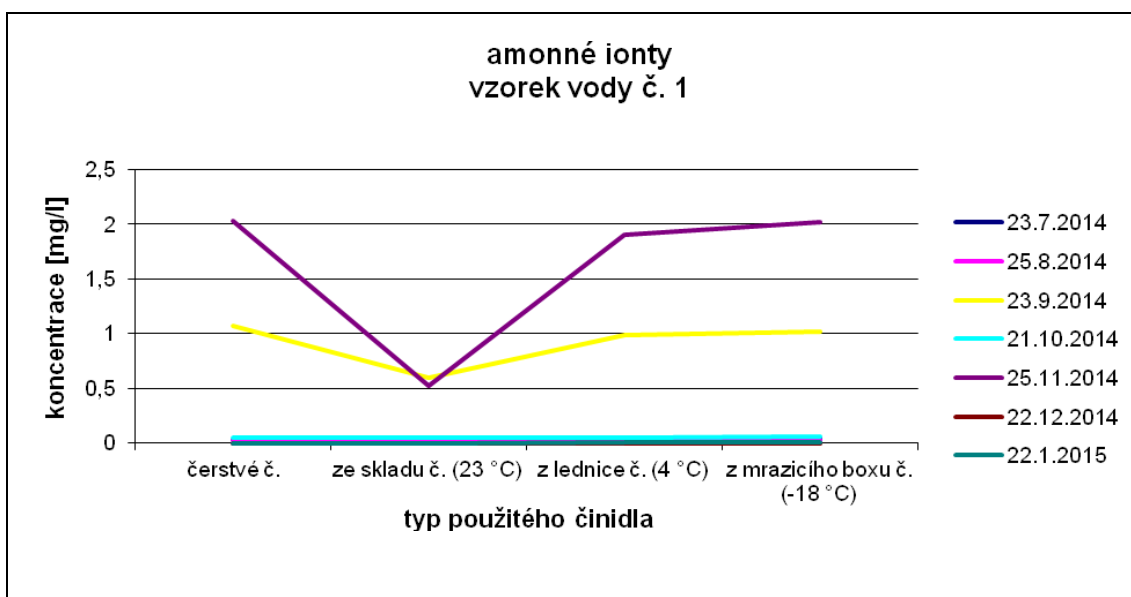
Nejnižší hodnoty ze stanovení dusičnanů byly naměřeny u standardu i u vzorku vody č. 2 při použití činidel z mrazicího boxu (-18 °C). U vzorku vody č. 1 to bylo při použití činidla čerstvého. Nejvyšší hodnoty pak byly naměřeny u standardu i u vzorku vody č. 1 při použití činidel z lednice (4 °C), u vzorku vody č. 2 při použití činidla ze skladu (23 °C).

Z mého pokusu zřetelně vyplývá, že u stanovení amonných iontů za použití činidel uložených ve skladu (23 °C), jsou naměřené hodnoty hned od prvního měření nižší, než hodnoty stanovené pomocí ostatních činidel. Při nízkých koncentracích amonného dusíku ve vzorku není rozdíl patrný, ale při větších koncentracích je již zřetelný rozdíl ve výsledcích na základě typu použitého činidla. Po třech měsících činidlo ze skladu (23 °C) již vykazuje u naměřených výsledků o ¼ nižší výsledky než u ostatních činidel a po pěti měsících tento rozdíl narůstá až o ¾ oproti ostatním činidlům. Stálost činidel ke stanovení amonných iontů, tj. vybarvovací činidlo a roztok dichlorisokyanuratanu sodného, je maximálně 1 měsíc. Z pokusu však také vyplývá, že na stálost těchto činidel má velký vliv konzervace. Pokud činidla uložíme do chladu, tzn. do lednice (4 °C) nebo do mrazicího boxu (-18 °C), můžeme prodloužit jejich použitelnost. Naměřené výsledky ze stanovení při použití čerstvého činidla byly téměř shodné s naměřenými výsledky při použití činidel z lednice (4 °C) i z mrazicího boxu (-18 °C), a to po dobu cca šesti měsíců, od sedmého měsíce se naměřené výsledky při použití činidel z lednice (4 °C) i z boxu (-18 °C) začaly zvyšovat.



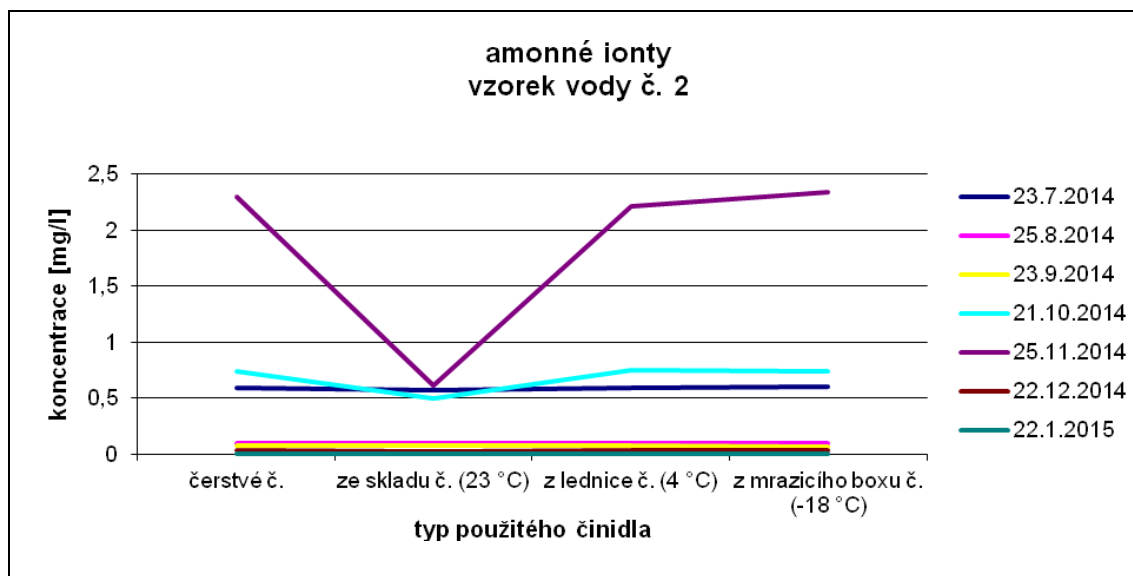
Graf č. 1: Koncentrace amonných iontů ve standardu v průběhu sedmi měsíců

Z grafu č.1 jasně vyplývá, že čím starší činidlo je, tím větší vykazuje rozdíly ve výsledcích, takže po měsíci jsou tato činidla prakticky nepoužitelná. Ovšem činidla z lednice (4 °C) a z mrazicího boxu (-18 °C) vykazují minimální rozdíly ve výsledcích oproti nově namíchaným činidlům, takže jejich použitelnost se konzervací chladem značně prodlužuje.



Graf č. 2: Koncentrace amonných iontů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců

U vzorků vody č. 1 můžeme vidět podobnou tendenci jak u standardu. Bohužel vzorky vody obsahovaly často jen minimální množství amonných iontů, někdy tyto hodnoty byly dokonce pod limitem detekce (pod $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$). Takže graf č. 2 dostatečně nevyovídá o použitelnosti typů činidel.

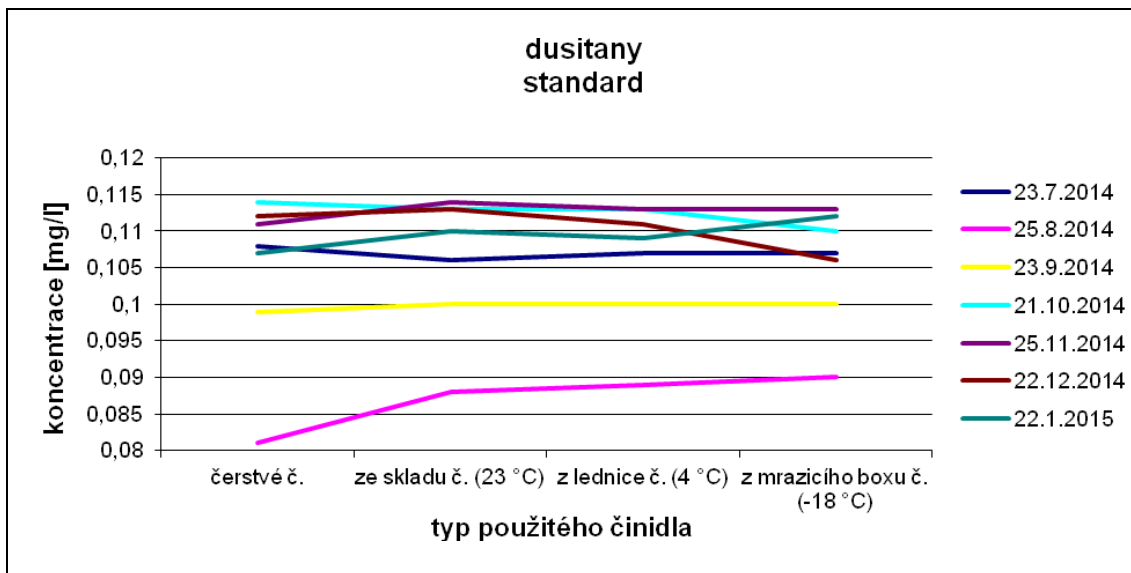


Graf č. 3: Koncentrace amonných iontů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců

U vzorků vody č. 2 můžeme také vidět podobnou tendenci jak u standardu. Bohužel i tyto vzorky vody obsahovaly často jen minimální množství amonných iontů, takže ani graf č. 3 není dostatečně vypovídající.

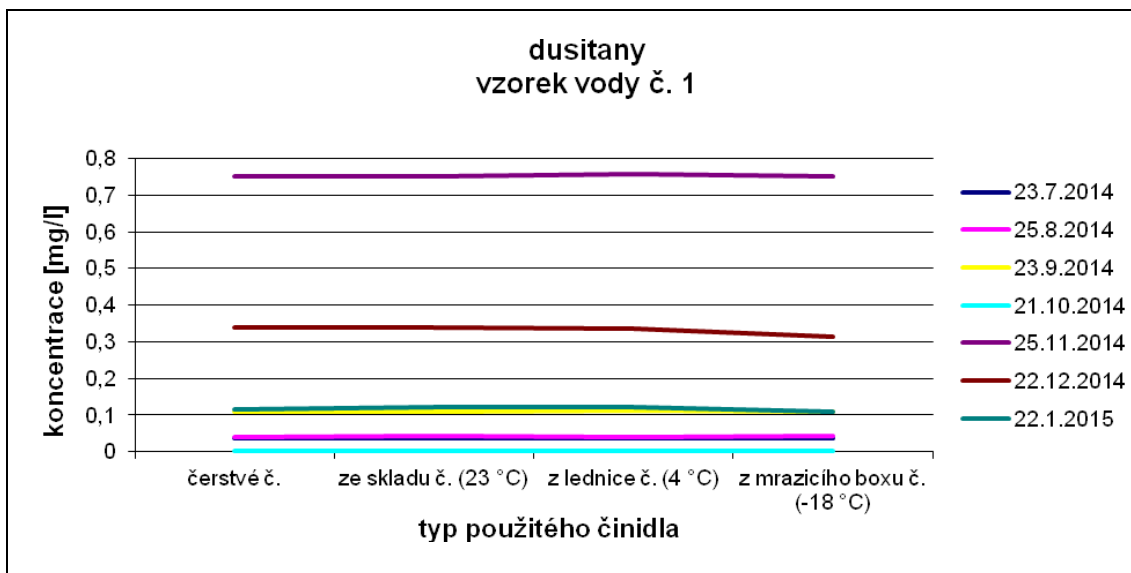
Při prvním stanovení dusitanového dusíku (23. 7. 2014) byly naměřené hodnoty téměř shodné, tzn. použitý typ činidla neměl větší vliv na výsledek stanovení. Při dalších čtyřech stanoveních dusitanového dusíku již byly hodnoty stanovené pomocí čerstvých činidel (tj. namíchaných v den stanovení) nižší. Ostatní naměřené hodnoty byly relativně vyrovnané, tzn. vliv konzervace činidel nemá na výsledek stanovení větší vliv. Činidla pro stanovení dusitanů, což je kopulační roztok a roztok kyseliny sulfanilové, jsou tedy stále max. dva měsíce, pak se hodnoty naměřené pomocí těchto činidel zvyšují, oproti hodnotě stanovení za pomoci čerstvého činidla. Zajímavostí je, že při posledních dvou pokusech stanovení dusitanového dusíku byly jako nejnižší hodnoty zaznamenány ty, které byly stanoveny pomocí činidel z mrazicího boxu (-18 °C). Takže činidla uložená v mrazicím boxu (-18 °C) vykazují nejdříve zvýšené

hodnoty při stanovení dusitanů a po šesti měsících dokonce nižší hodnoty než činidla čerstvá.



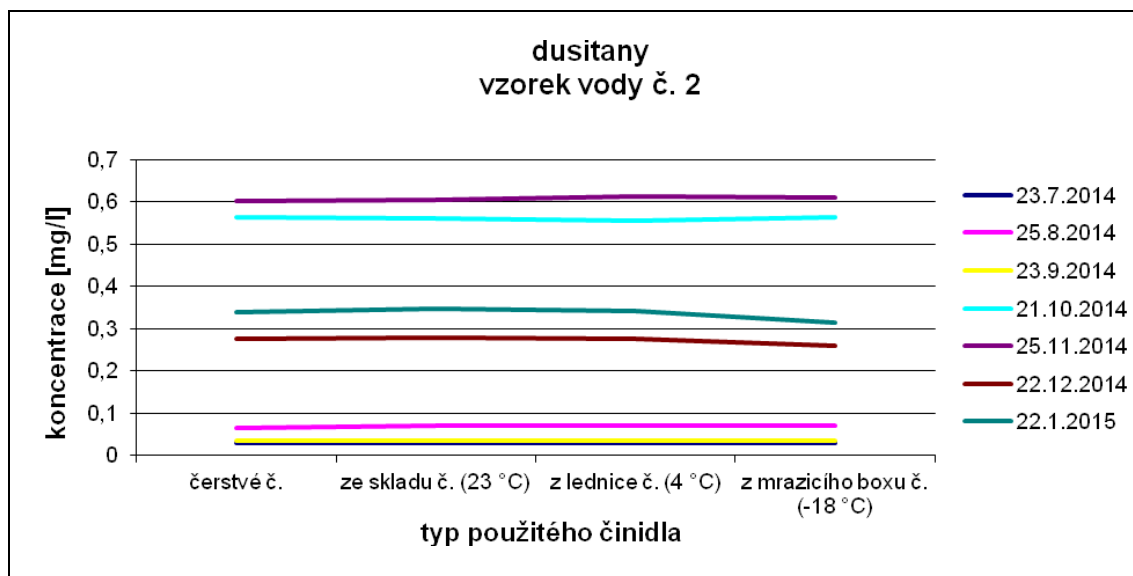
Graf č. 4: Koncentrace dusitanů ve standardu v průběhu sedmi měsíců

V grafu č. 4 můžeme vidět, že čerstvá činidla vykazují ve většině případů nižší naměřené hodnoty při stanovení dusitanů, než činidla ostatní. Ostatní naměřené hodnoty jsou bez výraznějších rozdílů, vliv konzervace činidel v tomto případě nehraje významnou roli.



Graf č. 5: Koncentrace dusitanů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců

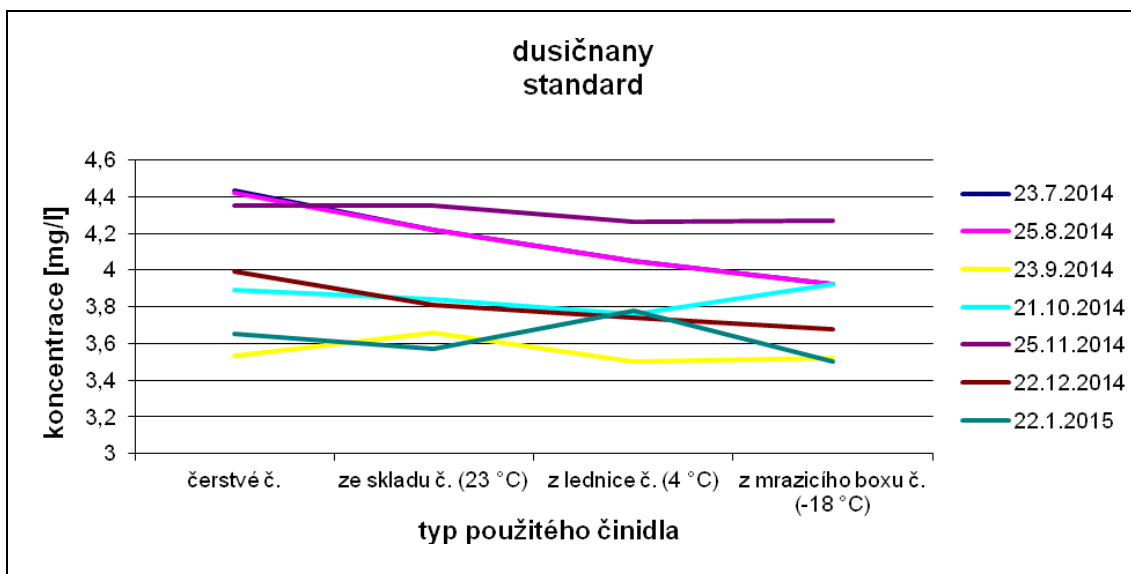
U vzorků vody č.1 jsou naměřené hodnoty velice vyrovnané, jak můžeme vidět v grafu č. 5, akorát z posledních dvou měření můžeme vidět, že naměřené hodnoty pomocí činidel z mrazicího boxu (-18 °C) začínají klesat.



Graf č. 6: Koncentrace dusitanů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců

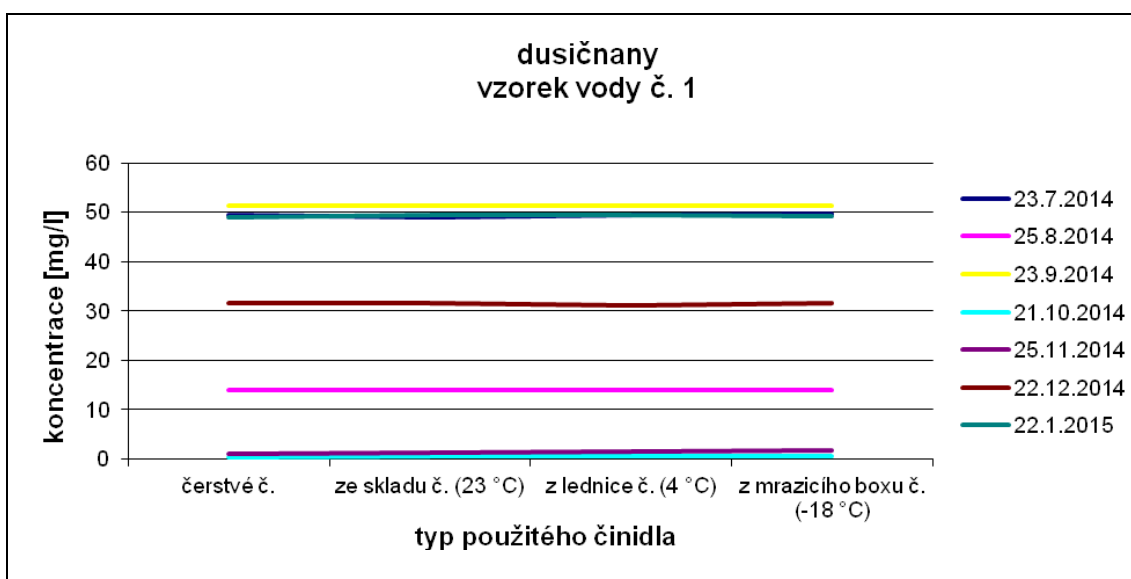
U vzorků vody č. 2 jsou naměřené hodnoty taky velice vyrovnané, což je patrné v grafu č. 6, a opět zde můžeme vidět, že hodnoty z posledních dvou měření klesají při použití činidel z mrazicího boxu (-18 °C).

Co se týče stanovení dusičnanového dusíku, naměřené hodnoty jsou dosti rozdílné. Ale nejčastěji byly nejnižší hodnoty naměřeny při stanovení pomocí činidel uložených v mrazicím boxu (-18 °C) nebo v lednici (4 °C) a nejvyšší hodnoty pak byly nejčastěji naměřeny při stanovení pomocí čerstvých činidel, nebo činidel uložených ve skladu (týká se to především standardu).



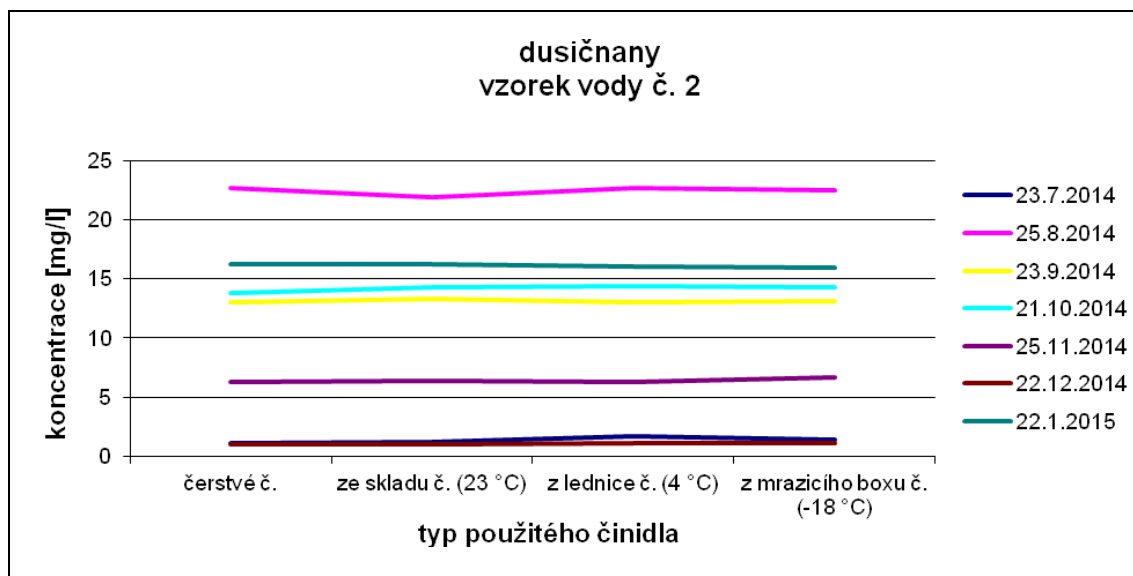
Graf č. 7: Koncentrace dusičnanů ve standardu v průběhu sedmi měsíců

Řady v grafu č. 7 mají spíše klesající tendenci, takže čínidla starší jak jeden měsíc výsledky chybně snižují oproti skutečnosti, bez ohledu na způsob jejich skladování.



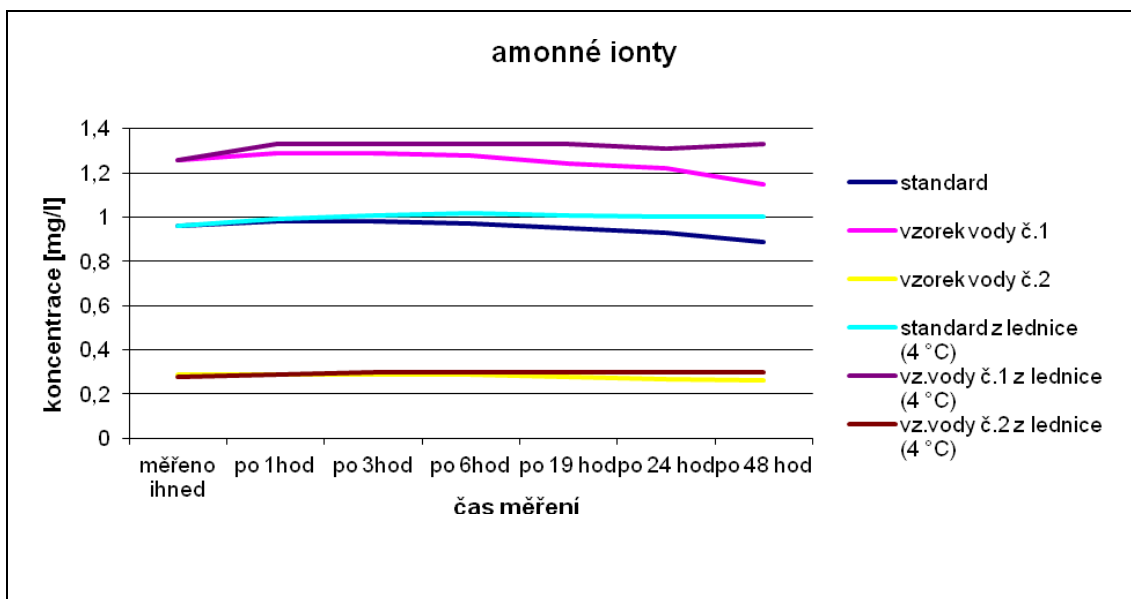
Graf č. 8: Koncentrace dusičnanů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců

Řady v grafu č. 8 vypadají vyrovnaně kvůli velkému rozpětí jednotek, ale z výše uvedených tabulek vyplývá, že mezi naměřenými hodnotami jsou docela velké rozdíly dosahující až $0,8 \text{ mg.l}^{-1}$



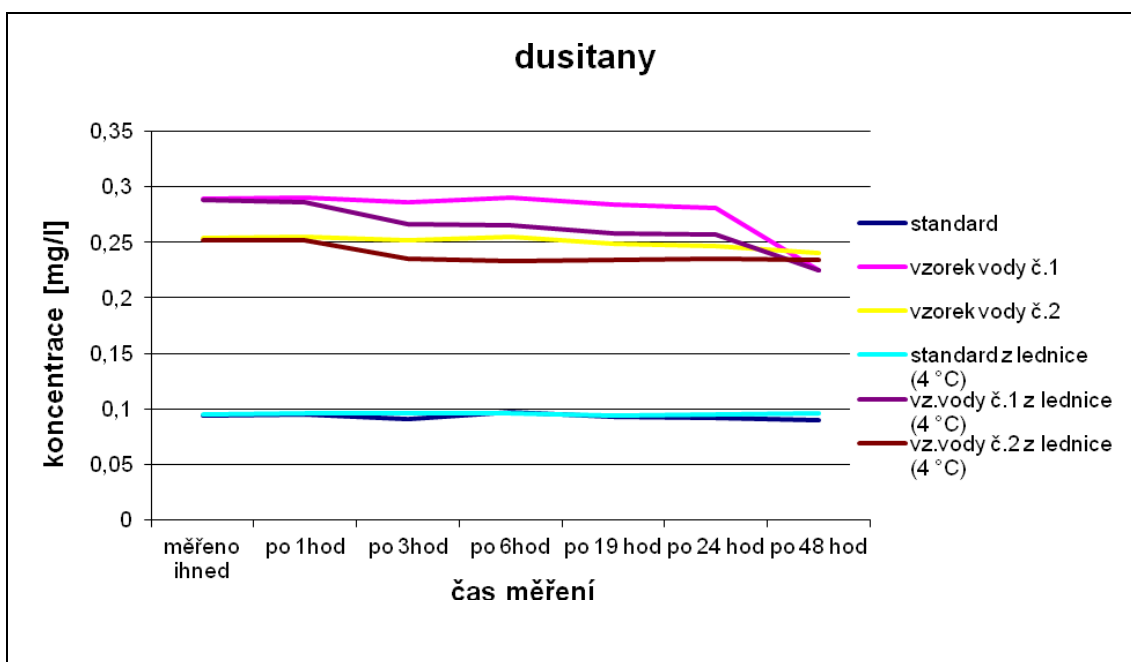
Graf č. 9: Koncentrace dusičnanů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců

Další součástí mého pokusu bylo posoudit stálost naměřené koncentrace iontů dusíku ve vzorcích vod po vybarvení. Stanovení amonného, dusitanového i dusičnanového dusíku jsem prováděla opět na standardech, které jsem namíchala podle výše zmíněného postupu a na dvou vzorcích přírodních vod, které mi byly poskytnuty. Potřebná činidla ke stanovení těchto iontů dusíku jsem nově namíchala, též podle výše zmíněného postupu. Všechny tři formy dusíku jsem stanovila v deseti opakováních, ihned po naměření výsledných hodnot jsem polovinu zkumavek, tj. od každé formy dusíku pět, vložila do lednice (4 °C). Následně jsem zkoumala změny výsledných hodnot v časové závislosti od provedení analýzy a vliv konzervace vzorku na těchto změnách.



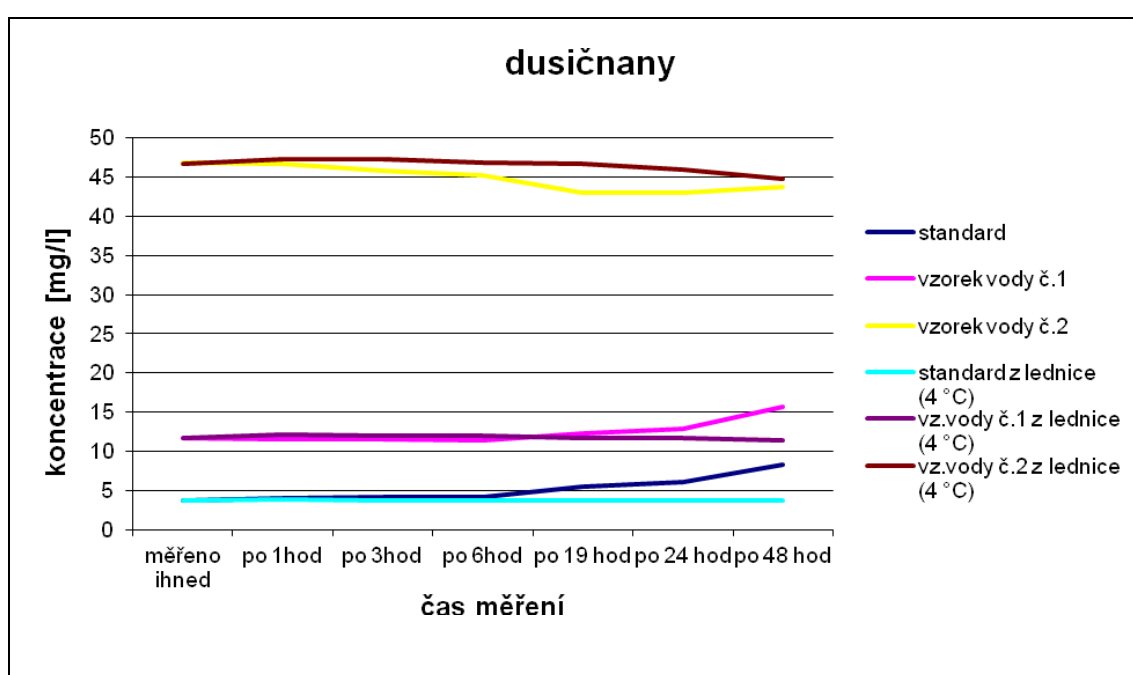
Graf č. 10: Koncentrace amonných iontů v průběhu 48 hodin

Z grafu č. 10 vyplývá, že výsledky měření po jedné hodině od provedení analýzy jsou nepatrně vyšší, a to u vzorků ponechaných volně při laboratorní teplotě, tak i u vzorků uschovaných v ledničce při 4 °C. Vzorky ponechané volně v laboratoři vykazují v následujících šesti hodinách stejné naměřené výsledky, po 19-ti hodinách od provedení analýzy již naměřené výsledky značně klesají. Vzorky uschované v ledničce (4 °C) v následujících 48 hodinách vykazují téměř stejné naměřené výsledky, jako výsledky měřené po jedné hodině od analýzy.



Graf č. 11: Koncentrace dusitanů v průběhu 48 hodin

U dusitanů jsou výsledky měření po jedné hodině od provedení analýzy téměř stejné, a to jak u vzorků ponechaných volně při laboratorní teplotě, tak i u vzorků uschovaných v ledničce (4 °C). Výsledky měření po třech hodinách od provedení analýzy jsou téměř u všech vzorků o něco nižší, než ty původní. Výjimku tvoří standard uschovaný v ledničce (4 °C), který má po celou dobu měření stejné výsledky. V následujících hodinách měření se téměř všechny výsledné hodnoty snižují. Rápidní pokles je vidět zejména u vzorku vody č. 1 po 24 hodinách, a to u obou forem uskladnění.



Graf č. 12: Koncentrace dusičnanů v průběhu 48 hodin

U dusičnanů jsou výsledky měření v následujících třech hodinách celkem vyrovnané, zejména u vzorků ponechaných v lednici (4 °C). Vzorky ponechané volně v laboratoři vykazují spíše rostoucí tendenci, největší nárůst hodnot je pak zřetelný po devatenácti hodinách měření od provedení analýzy. Vzorky ponechané v ledničce (4 °C) vykazují relativně vyrovnané hodnoty po celou dobu měření, zejména standard a vzorek vody č. 1.

6 ZÁVĚR

Stálost činidel používaných ke stanovení amonných iontů ve vodě, tj. vybarvovací činidlo a roztok dichlorisokyanuratanu sodného, je podle mého pokusu maximálně 1 měsíc. V literatuře se uvádí minimální stálost těchto činidel 2 týdny. Ovšem jejich použitelnost jde značně ovlivnit konzervací chladem, protože činidla z lednice (4 °C) a z mrazícího boxu (-18 °C) vykazují minimální rozdíly ve výsledcích oproti nově namíchaným činidlům, a to po dobu cca šesti měsíců. Činidla pro stanovení dusitanů, tj. kopulační roztok a roztok kyseliny sulfanilové, jsou stálé podle mého pokusu max. dva měsíce. Literatura uvádí stálost těchto činidel alespoň jeden měsíc. Na rozdíl od činidel používaných pro stanovení amonných iontů, vliv konzervace činidel používaných ke stanovení dusitanového dusíku nemá na výsledek stanovení větší vliv. Ani u stanovení dusičnanového dusíku nehraje konzervace činidel významnou roli. Činidla používaná ke stanovení dusičnanového dusíku jsou roztok 2,6-dimethyfenolu a směs kyselin. Roztok směsí kyselin je neomezeně stálý, ale roztok 2,6-dimethyfenolu je podle literatury stálý minimálně jeden týden, a podle mého pokusu maximálně jeden měsíc.

Poté jsem zkoumala změny výsledných hodnot v časové závislosti od provedení analýzy a vliv konzervace vzorku na těchto změnách. Stálost naměřené koncentrace amonných iontů ve vodě je cca 6 hodin, poté jsou naměřené výsledky již irelevantní. Pokud ale uschováme vzorky vody po vybarvení v ledničce (4 °C), stálost se prodlouží alespoň na 48 hodin. U dusitanového dusíku stálost naměřené koncentrace je kratší, a to asi o 4 hodiny. Vliv konzervace vzorku u dusitanů není téměř žádný. Stálost naměřené koncentrace dusičnanového dusíku je cca 3 hodiny, poté už výsledky nejsou zcela relevantní. Ale zde má vliv konzervace vzorku chladem, kdy se tato stálost může prodloužit na cca 36 hodin.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. ADAM J., 1977: *Metody chemické analýzy vody*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 224 s.
2. AHUJA S., c2013: *Monitoring water quality: pollution assessment, analysis, and remediation*. Elsevier, Waltham, 379 s. ISBN 978-0-444-59395-5.
3. ČSN 75 7220, 1998: *Jakost vod – Kontrola jakosti povrchových vod*. Český normalizační institut, Praha, 12 s.
4. ČSN 75 7221, 1998: *Jakost vod – Klasifikace jakosti povrchových vod*. Český normalizační institut, Praha, 12 s.
5. ČSN EN 26777 (75 7452), 1995: *Jakost vod – Stanovení dusitanů. Molekulární absorpční spektrofotometrická metoda*. Český normalizační institut, Praha, 12 s.
6. ČSN ISO 5664 (75 7449), 1994: *Jakost vod – Stanovení amonných iontů. Odměrná metoda po destilaci*. Český normalizační institut, Praha, 8 s.
7. ČSN ISO 6778 (75 7450), 1994: *Jakost vod – Stanovení amonných iontů. Potenciometrická metoda*. Český normalizační institut, Praha, 8 s.
8. ČSN ISO 7150-1 (75 7451), 1994: *Jakost vod – Stanovení amonných iontů. Část 1: Manuální spektrometrická metoda*. Český normalizační institut, Praha, 12 s.
9. ČSN ISO 7890-3 (75 7453), 1995: *Jakost vod – Stanovení dusičnanů. Část 3: Spektrometrická metoda s kyselinou sulfosalicylovou*. Český normalizační institut, Praha, 8 s.
10. GRÜNWARD A., 1993: *Hydrochemie*. 1. vyd. České vysoké učení technické, Praha, 175 s.
11. HETEŠA J., 1981: *Cvičení z hydrochemie*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 83 s.
12. HETEŠA J. a KOČKOVÁ E., 1998: *Hydrochemie*. 1. vyd. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 95 s. ISBN 80-7157-289-6.
13. HORÁČEK Z., 2011: *Vodní zákon č. 254/2001 Sb.: po novele zákonem č. 150/2010 Sb., účinné od 1.8.2010 s komentářem*. Sondy, Praha, 423 s. ISBN 978-80-86846-39-2.
14. HORÁKOVÁ M., 2007: *Analytika vody*. 2. vyd. opr. a rozš. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha, 335 s. ISBN 978-80-7080-520-6.

15. HORÁKOVÁ M., 1982: *Metody chemické analýzy vod*. 2. nezm. vyd. SNTL, Praha, 271 s.
16. HORÁKOVÁ M., LISCHKE P. a GRÜNWARD A., 1986: *Chemické a fyzikální metody analýzy vod: celostátní vysokoškolská příručka pro stud. VŠCHT stud. oboru technologie vody*. 1. vyd. Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 389 s.
17. JENKINS S. W. D., 1995: *Environmental Science and Pollution Research*. 2, 207 s. ISSN 1614-7499.
18. LEŠKO J., TRŽIL J., ŠTARHA R., 2011: *Anorganická chemie*. 2. vyd. VŠB-Technická univerzita Ostrava, Ostrava, 254 s. ISBN 978-80-248-2398-0.
19. PITTER P., 2009: *Hydrochemie*. 4. aktualiz. vyd. Vydavatelství VŠCHT Praha, Praha, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.
20. ŘÍHA, J., 2000, c2002: *Jakost vody v povrchových vodních tocích a její matematické modelování*. 1. vyd. NOEL, Brno, 269 s. ISBN 80-86020-31-2.
21. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J., 2008: *Mikrobiologie v technologii vod*. 2. vyd. přeprac. Vydavatelství VŠCHT, Praha, 252 s. ISBN 978-80-7080-676-0.
22. SINGER P. C., ZILLI W. B., 1975: *Water research: the journal of the international association on quality*. Pergamon Press, Oxford. ISSN 0043-1354.
23. SLOUKA J., FRYŠOVÁ I. a STÝSKALA J., 2007: *Stručný přehled organické chemie ve formě reakčních schémat*. 1. vyd. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 554 s. ISBN 978-80-244-1835-3.
24. SVOBODOVÁ Z., 1987: *Toxikologie vodních živočichů*. 1. vyd. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 231 s.
25. THURMAN E., 1985: *Organic geochemistry of natural waters*. Springer Science + Business Media, Dordrecht, 497 s.
26. VALENTOVÁ O., MÁCHOVÁ J. a KOCOUR KROUPOVÁ H., 2013: *Základy hydrochemie – návody pro laboratorní cvičení*. 1. vyd. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany, 123 s. ISBN 978-80-87437-46-9.
27. ZÝKA, V., 1982: *Sborník geologických věd, technologie a geochemie*. ÚÚG, Academia Praha, 286 s.
28. ŽÁČEK L., 1998: *Hydrochemie*. 1. vyd. VUTIUM, Brno, 80 s. ISBN 80-214-1167-8.

Online zdroje:

29. NV č. 61/2003 Sb. O ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, ve znění nařízení vlády č. 229/2007 Sb. a nařízení vlády č. 23/2011 Sb. Vyhledávání v zákonech. *Portál veřejné správy*. [cit. 2015-04-02]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonPar.jsp?idBiblio=55324&fulltext=&nr=61~2F2003&part=&name=&rpp=15#local-content>
30. Vyhláška č. 123/2012 Sb. O poplatcích za vypouštění odpadních vod do vod povrchových. Vyhledávání v zákonech. *Portál veřejné správy*. [cit. 2015-04-02]. Dostupné z: <http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonStruct.jsp?page=0&idBiblio=77312&name=poplatky~20za~20vypou~C5~A1t~C4~9Bn~C3~AD&rpp=15#local-content>

8 SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (23. 7. 2014).....	31
Tabulka č. 2: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (23. 7. 2014)	32
Tabulka č. 3: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (23. 7. 2014)	32
Tabulka č. 4: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (25. 8. 2014).....	33
Tabulka č. 5: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (25. 8. 2014)	34
Tabulka č. 6: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (25. 8. 2014)	35
Tabulka č. 7: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (23. 9. 2014).....	36
Tabulka č. 8: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (23. 9. 2014)	37
Tabulka č. 9: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (23. 9. 2014)	37
Tabulka č. 10: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (21. 10. 2014).....	38
Tabulka č. 11: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (21. 10. 2014)	39
Tabulka č. 12: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (21. 10. 2014)	40
Tabulka č. 13: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (25. 11. 2014).....	41
Tabulka č. 14: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (25. 11. 2014)	41
Tabulka č. 15: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (25. 11. 2014)	42
Tabulka č. 16: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (22. 12. 2014).....	43
Tabulka č. 17: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (22. 12. 2014)	44
Tabulka č. 18: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (22. 12. 2014)	45
Tabulka č. 19: Koncentrace N-NH ₄ ⁺ v mg.l ⁻¹ (22. 1. 2015).....	46
Tabulka č. 20: Koncentrace N-NO ₂ ⁻ v mg.l ⁻¹ (22. 1. 2015)	46
Tabulka č. 21: Koncentrace N-NO ₃ ⁻ v mg.l ⁻¹ (22. 1. 2015)	47

9 SEZNAM GRAFŮ

Graf č. 1: Koncentrace amonných iontů ve standardu v průběhu sedmi měsíců.....	49
Graf č. 2: Koncentrace amonných iontů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců .	49
Graf č. 3: Koncentrace amonných iontů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců .	50
Graf č. 4: Koncentrace dusitanů ve standardu v průběhu sedmi měsíců	51
Graf č. 5: Koncentrace dusitanů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců.....	51
Graf č. 6: Koncentrace dusitanů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců.....	52
Graf č. 7: Koncentrace dusičnanů ve standardu v průběhu sedmi měsíců	53
Graf č. 8: Koncentrace dusičnanů ve vzorku vody č. 1 v průběhu sedmi měsíců	53
Graf č. 9: Koncentrace dusičnanů ve vzorku vody č. 2 v průběhu sedmi měsíců	54
Graf č. 10: Koncentrace amonných iontů v průběhu 48 hodin.....	55
Graf č. 11: Koncentrace dusitanů v průběhu 48 hodin	55
Graf č. 12: Koncentrace dusičnanů v průběhu 48 hodin.....	56

10 SEZNAM ZKRATEK

AgNO ₂	dusitan stříbrný
Al	hliník
AMK	aminokyseliny
Cd	kadmium
ČR	Česká republika
ČSN	Česká státní norma
EU	evropská unie
Fe	železo
HNO ₂	kyselina dusitá
H ₂ O	voda
ISE	iontově selektivní elektroda
ISO	international organization for standardization
MŽP	ministerstvo životního prostředí
N	dusík
NH ₃	amoniak
N-NH ₄ ⁺	amonný dusík
N-NO ₂ ⁻	dusitanový dusík
N-NO ₃ ⁻	dusičnanový dusík
NO	oxid dusnatý
N ₂ O	oxid dusný
NV	nařízení vlády
O ₂	kyslík
U	uran
Zn	zinek

PŘÍLOHY