

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav zemědělské, potravinářské a environmentální techniky



Porovnání metod stanovení biologické spotřeby kyslíku

Diplomová práce

Vedoucí práce:
doc. Ing. Tomáš Vítěz, Ph.D.

Vypracoval:
Bc. Ondřej Šváb

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Porovnání metod stanovení biologické spotřeby kyslíku vypracoval 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 a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom, 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 jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

Poděkování

Chtěl bych poděkovat doc. Ing. Tomáši Vítězovi, Ph.D. za vedení mé diplomové práce, cenné rady, ochotu a odborný dohled. Děkuji také Mgr. Ing. Gabrielle Machů, Ph.D., DiS. za konzultace a vedení při práci v laboratoři.

ABSTRAKT

Téma diplomové práce je Porovnání metod stanovení biologické spotřeby kyslíku. Tato práce se zabývá vzájemným porovnáním čtyř analytických metod stanovení biologické spotřeby kyslíku na čtyřech různě zatížených vzorcích vod, matricích. Je popsán princip metod a postup práce při stanovení, který definují normy či speciální postupy výrobců. Výsledkem práce je zhodnocení jednotlivých metod, výhody a nevýhody, dále porovnání metod z hlediska opakovatelnosti výsledků, ceny, náročnosti na práci a čas.

Klíčová slova:

Biologická spotřeba kyslíku, metody stanovení, čistírenský kal, odpadní voda, pitná voda

ABSTRACT

Topic of master thesis is Comparison of methods for determining the biochemical oxygen demand. This thesis is focused on mutual comparison of four analytical methods for determining the biochemical oxygen demand on four different samples of water, matrices. It is described principles of determining methods and procedures that are defining by norms and specific manufacturer practices. The result of thesis is evaluation individual methods, advantages and disadvantages and also comparison of methods in terms of repeatability of results, price, labor intensity and time.

Keywords:

Biochemical oxygen demand, methods of determination, sewage sludge, waste water, drinking water

OBSAH

| | | |
|---------|---|----|
| 1 | Úvod..... | 8 |
| 2 | Cíl práce | 12 |
| 3 | Teoretická část | 13 |
| 3.1 | Biologická spotřeba kyslíku..... | 13 |
| 3.1.1 | Další ukazatele organického znečištění vod..... | 14 |
| 3.2 | Matrice | 15 |
| 3.3 | Metody stanovení biologické spotřeby kyslíku..... | 15 |
| 3.3.1 | Volumetrická (titrační) metoda..... | 16 |
| 3.3.2 | Respirometrická metoda | 17 |
| 3.3.3 | Elektrochemická metoda..... | 18 |
| 3.3.4 | Spektrofotometrická metoda..... | 19 |
| 3.4 | Legislativní prostředí České republiky pro stanovení ukazatelů kvality vod .. | 21 |
| 3.4.1 | Legislativní požadavky na jakost vody..... | 21 |
| 4 | Materiál a metodika..... | 25 |
| 4.1 | Odběr matric..... | 25 |
| 4.1.1.1 | Standardní roztok glukózy..... | 26 |
| 4.1.1.2 | Pitná voda | 26 |
| 4.1.1.3 | Odpadní voda..... | 26 |
| 4.1.1.4 | Kal | 26 |
| 4.2 | Reflexe, zhodnocení metod stanovení BSK ₅ | 26 |
| 4.2.1 | Volumetrická, titrační metoda | 26 |
| 4.2.2 | Respirometrická metoda | 29 |
| 4.2.3 | Elektrochemická metoda..... | 31 |
| 4.2.4 | Spektrofotometrická metoda..... | 32 |
| 5 | Výsledky a diskuze | 35 |
| 5.1 | Opakovatelnost měření, vyhodnocení dat | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.1.1 | Vyčlenění výsledků matrice standardní roztok..... | 35 |
| 5.1.2 | Pitná voda | 36 |
| 5.1.3 | Odpadní voda na přítoku..... | 37 |
| 5.1.4 | Kal z aktivace..... | 39 |
| 5.2 | Finanční a časová náročnost..... | 41 |
| 5.2.1 | Finanční prostředky na pořízení jednotlivých metod | 41 |
| 5.2.2 | Náročnost na práci a čas | 42 |
| 6 | Závěr | 44 |
| 7 | Přehled použité literatury | 47 |
| 8 | Seznam obrázků | 50 |
| 9 | Seznam tabulek | 51 |
| 10 | Seznam zkratk | 51 |
| 11 | Přílohy | 52 |
| 12 | Seznam příloh..... | 53 |

1 ÚVOD

Celkové množství vody na Zemi, tím rozumíme vodu podzemní, povrchovou, atmosférickou a vodu vázanou v ledu, je konstantní. Z tohoto množství je 2,77 % vody sladké a pouze 0,34 % dostupné pro člověka. S měnícím se klimatem počet lidí nemajících přístup k pitné vodě roste. Předpokládá se, že do roku 2030 bude 47 % světové populace žít v oblastech s obtížným přístupem k vodě. Nedostatek vody může zabránit zemědělství, generovat energii, může vyvolat sociální nepokoje. Zatímco nedostatek vody představuje pro bohatší státy zvládnutelný problém, pro chudší země znamená silný destabilizační faktor. To vše by nás mělo nabádat k zamýšlení nad šetrnými způsoby využívání tohoto zdroje, ale především nad jeho ochranou, tedy jeho neznečišťováním (Sojka, 2013).

Vodu potřebuje člověk především na konzumaci, kdy je důležitým hlediskem kvalita pitné vody. Vodu dále člověk využívá na přípravu potravy a k hygienickým účelům, ale i k různým činnostem, zejména výrobním. V neposlední řadě je nedílnou součástí životního prostředí a podmiňujícím faktorem všech životních forem. Pitná voda musí odpovídat určitým kvalitativním požadavkům, jejími zdroji jsou vody podzemní a povrchové, přičemž významnou část tvoří u nás poslední uvedené zdroje, neboť podzemních vod je nedostatek. Pro různé výrobní i nevýrobní účely v průmyslu a zemědělství se používá provozní voda, jejíž požadovaná jakost odpovídá způsobu použití (chlazení, mytí, hydraulický transport, rozpouštění surovin, transfer energie a jiné). Před použitím je často nutno vodu upravit, zvláště je-li jejím zdrojem voda povrchová, ale někdy je třeba upravovat i vodu podzemní. Použité metody úpravy se řídí vstupní kvalitou upravované vody a účelem, pro který je voda upravovaná (Malý, 2006).

Voda po použití obyvatelstvem, případně voda vznikající při výrobě, pokud má změněnou jakost, fyzikální a chemické vlastnosti, se nazývá vodou odpadní. Odpadní vody jsou následně čištěny a zpravidla vypouštěny do vod povrchových (Malý, 2006).

Ochrana životního prostředí a přírodních vod, které jsou jeho součástí, vyžaduje vedle opatření zabraňujících plošnému znečišťování přírodních vod (vyplavováním znečištění z půdy), především zneškodnění bodových zdrojů znečištění, které spočívá v čištění odpadních vod na míru přijatelnou pro vodní recipient, jímž je obvykle povrchová voda (vodní tok). Kvalita povrchových vod, k níž směřuje snažení

vodohospodářů, je stanovena zákonem. V současné době jí ještě není u nás dosaženo (citlivá oblast je vyhlášena na celém území české republiky) a rychlost nápravy bude závislá na ekonomických možnostech naší země. Již dnes je však nutno nepřipustit její další zhoršování a stávající legislativa k tomu dává předpoklady (Malý, 2006).

Diplomová práce se zabývá porovnáním metod stanovení biologické spotřeby kyslíku, jakožto nepřímého ukazatele znečištěné vody biologicky rozložitelnými látkami. Existuje celé škála ukazatelů kvality vod a jedním z nich je biologická spotřeba kyslíku. Práce se zaměřuje na tento ukazatel, protože je významným a v dnešní době nezastupitelným z hlediska určení biologické aktivity ve vodě a schopnosti odbourat biologicky rozložitelné znečištění. Tento ukazatel se v praxi používá k určení kvalitativních parametrů různých vod, je možné ho stanovit různými měřicími metodami, které se vzájemně liší. V práci tak testuji hypotézu, zda se metody stanovení liší v kvalitě poskytovaných výsledků, zda má vliv na jednotlivé metody různá zatíženost vod znečištěním a porovnávám finanční a časovou náročnost jednotlivých metod.

Důvodem vzniku práce byl mimo jiné zájem o zjištění teoretických poznatků z literární rešerše. Především však můj zájem o výzkum na toto téma podnítil vedoucí práce docent Vítěz, který mi poskytl informaci, že toto téma zatím nebylo nikým podrobně zkoumáno. Vždy výzkumníci porovnávali jednu až dvě metody na jednom či dvou vzorcích, ale nikdy v rozsahu, jenž popisují v práci. Na čtyřech různých matricích práce porovnávám čtyři nejběžněji používané analytické metody stanovení biologické spotřeby kyslíku za pět dní.

Téma této práce jsem si zvolil, jelikož jsem chtěl pracovat na něčem praktickém, co může být k užitku i do budoucna a co snad ulehčí rozhodování ostatním, kteří se budou potýkat s problematickou otázkou: „*Kterou metodu měření mám vybrat, která bude nejvhodnější?*“, na niž zatím nikdo nedal dostatečně uspokojivou odpověď a neprovedl širší porovnání metod. Problémem také je, že se v praxi běžně mluví o ukazateli biologické spotřeby kyslíku a jeho výsledcích, porovnávají se jednotlivé výsledky, ale málokdo se pozastavuje nad tím, že tento ukazatel každý měří různými způsoby a metody jsou tedy svými fyzikálními principy rozdílné a chyby v nich se tak mohou, ale nemusí, výrazně lišit.

Cíle práce

Cílem je zjistit, zda platí následující předpoklad. Existuje několik metod stanovení biologické spotřeby kyslíku za pět dní, které je možné použít pro stanovení v provozech, zařízeních, která mají legislativní povinnost toto měření provádět. Obecně se předpokládá, že všechny metody mají stejnou vypovídatelnou hodnotu nezávisle na matrici (substrátu), u kterého stanovujeme znečištění, přepočtené na biologickou spotřebu kyslíku. Předpokladem je, že metody nemají stejnou vypovídající hodnotu, což pramení z technické rozdílnosti jednotlivých stanovení a to je třeba ověřit měřením. Zajímavým ukazatelem při volbě metody je i cenová náročnost jednotlivých metod, investiční náročnost a náročnost na provoz. V neposlední řadě pak náročnost časová, tedy kolik času a práce zabere daná metoda v laboratoři, jaká jsou její technická úskalí a zda hraje roli druh matrice (substrátu), který je metodou stanovován.

Tyto skutečnosti totiž podle zjištění na začátku práce ještě nikdo neporovnal a neověřil. Na tohle téma tedy neexistuje komplexní výzkum, který by jednotlivé metody porovnal mezi sebou na různých v praxi stanovovaných maticích. Nejrozsáhlejšími pracemi na toto téma je Review s názvem *Methods for assessing biochemical oxygen demand* (Jouanneaus, 2014) a práce *Large scale study on measurement of respiration activity (AT4) by Sapromat and OxiTop* (Binner, 2012)

Výsledkem celé práce je pak souhrn zjištění, který by mohl sloužit pro průmysl a podniky, jež potřebují stanovovat ukazatel biologické spotřeby kyslíku. Dále práce slouží čtenáři jako základní přehled o výhodách a nevýhodách jednotlivých metod a jejich cenách tak, aby mohl vybrat nejvíce vhodnou metodu pro potřeby měření z hlediska druhu měřené vody (jejího zatížení znečištěním), ale také z hlediska ceny pořízení a provozních nákladů s ohledem na obsluhu, její kvalifikaci a časovou náročnost neboli cenu za lidskou práci, která hraje nemalou roli při rozhodování. Tahle práce poskytuje porovnání hlavních ukazatelů, které jsou rozhodující při výběru metody měření zmíněného ukazatele znečištění a může tak být využita k praktickým účelům rozhodnutí použití metody stanovení.

Práce je členěna na tři kapitoly, a to na teoretickou, praktickou a výsledky. V části teoretické jsou popsány normy, které určují, jak s metodami pracovat, návody na stanovení, legislativní prostředí týkající se dané problematiky a principy stanovení jednotlivých metod. Praktická část pak popisuje, jak se konkrétně postupovalo, kde byla zjištěna nesrovnalost v návodech či úskalí jednotlivých metod. V této části jsou také popsány výhody a nevýhody jednotlivých stanovení. Kapitola výsledků shrnuje,

na co se během práce došlo, zhodnocuje vypovídatelnost a opakovatelnost jednotlivých měření, porovnává pořizovací ceny metod a jejich časovou náročnost na provedení stanovení.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je porovnat metody stanovení biologické spotřeby kyslíku, provést literární rešerši a popsat jednotlivé metody použitelné pro stanovení biologické spotřeby kyslíku. Dále provést praktické porovnání metod, které se v praxi běžně používá a sesbírat praktické výsledky z práce v laboratoři. Na závěr provést statistické vyhodnocení naměřených dat a ze získaných výsledků formulovat závěr.

3 TEORETICKÁ ČÁST

Tato kapitola se zabývá teoretickým vymezením biologické spotřeby kyslíku, matricemi a metodami jejich stanovení. Dále se zaměřuje na legislativní prostředí České republiky (ČR) týkající se ukazatelů kvality vod, především pak biologické spotřeby kyslíku

3.1 Biologická spotřeba kyslíku

Biologická spotřeba kyslíku (BSK) je jedním z ukazatelů kvality vody, který udává množství organického znečištění ve vodě. Jedná se o nepřímé stanovení biologicky rozložitelného množství organických látek, kdy je oxidace organických látek uskutečněna působením molekulárního (vzdušného) kyslíku v součinnosti aerobních bakterií, které využívají energii z organických látek, při této oxidaci uvolněné. Spotřeba kyslíku ve vzorku za standardních podmínek je mírou obsahu organických, biologicky rozložitelných, látek a částečně i některých anorganických sloučenin. Jedná se tedy o hmotnostní koncentraci rozpuštěného kyslíku spotřebovaného za stanovených podmínek (viz níže) v aerobním prostředí (za přístupu vzduchu) biologickou oxidací organických látek ve vodě (Malý, 2006).

Rychlost bakteriálního rozkladu organické hmoty za aerobních podmínek je přímou úměrou rychlosti spotřeby kyslíku. Lze ji popsat rovnicí odpovídající reakční kinetice 1. řádu, podle níž je rychlost rozkladu určité látky přímo úměrná jejímu nerozloženému zbytku. V daném případě je touto látkou biologicky rozložitelná organická hmota. Kinetiku rozkladu lze vyjádřit rovnicí: $dBSK_t / dt = k_1(BSK_c - BSK_t)$ (Malý, 2006).

Integrací rovnice v mezích od 0 do t se získá vztah: $BSK_t = BSK_c(1 - 10^{-k \cdot t})$, kde BSK_t je biologická spotřeba kyslíku v čase t (dny) a BSK_c je celková biologická spotřeba kyslíku odpovídající úplnému rozložení biologicky rozložitelné organické hmoty. k_1 a k jsou rychlostní konstanty, jejichž hodnoty závisí na charakteru organické hmoty (matrice) a na teplotě: $k = k_1 \cdot \log e = 0,434 \cdot k_1$ (Malý, 2006).

Například pro biologický rozklad glukózy při teplotě 20 °C byla laboratorně zjištěna hodnota $k = 0,87$, pro rozklad organických látek přítomných v odpadní vodě je při stejné teplotě $k = 0,1$. Z průběhu BSK tedy vyplývá, že téměř úplného rozkladu biologicky rozložitelné organické hmoty (cca 99 %) by bylo dosaženo za 20 dnů, což je však pro praktický účel hodnocení BSK ve vodě doba příliš dlouhá. V ČR se proto volí

doba inkubace 5 dnů, při níž ještě není všechna biologicky rozložitelná hmota rozložena (pro $k = 0,1$ jen 68,4 %) a pro takto stanovený výsledek je zavedeno označení BSK_5 v jednotce $[mg \cdot l^{-1}]$ (Malý, 2006).

Stanovení BSK_5 je metodou spočívající ve vyhodnocení úbytku rozpuštěného kyslíku ve vzorku na počátku a za 5 dnů při teplotě 20 °C. Vzorek se dle potřeby ředí takzvanou zředovací vodou, což je čistá voda (destilovaná s přidavkem solí a živin) nasycená vzduchem. Inkubace se provádí v lahvích zcela naplněných naředěnou analyzovanou vodou za nepřístupu vzduchu (bakterie mají k dispozici jen kyslík obsažený ve vodě) a ve tmě, aby se zabránilo nežádoucímu rozvoji řas. Pro zabránění mikrobiální oxidace amoniaku se přidává vhodný inhibitor tohoto procesu, obvykle allylthiomocovina, která nenarušuje činnost aerobních bakterií, s výjimkou nitrifikačních (Malý, 2006).

BSK_5 je jedním z ukazatelů množství organického znečištění vod, jež se používají při hodnocení kvality povrchových a odpadních vod. Bakterie, které biologický děj podmiňují, jsou v těchto vodách přítomny. Jen při zpracování některých průmyslových odpadních vod je třeba provést jejich naočkování.

3.1.1 Další ukazatele organického znečištění vod

Vzhledem k různorodosti organických látek se ve vodách stanovuje především jejich celková koncentrace nebo koncentrace určité charakteristické skupiny. BSK_5 je jedním z možných nepřímých ukazatelů biologicky rozložitelných látek ve vodě.

Mezi další ukazatele patří například Teoretická spotřeba kyslíku (TSK), což je množství kyslíku potřebné k úplné oxidaci organické látky, které se spočítá z rovnice úplné oxidace organické látky, pro niž je zásadní sumární vzorec a množství (Malý, 2006).

Dalším ukazatelem je chemická spotřeba kyslíku (CHSK), kdy je oxidace organických látek ve vodě provedena působením oxidačních činidel manganistanu draselného ($KMnO_4$) nebo dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$). Při stanovení CHSK se vždy používá jedno z výše zmíněných oxidačních činidel v prostředí zředěné kyseliny sírové za teploty varu roztoku a za dalších standardních podmínek. CHSK se pak stanoví ze spotřeby oxidující látky. Dle druhu použité látky rozlišujeme $CHSK_{Cr}$ a $CHSK_{Mn}$ (Pitter, 2015).

Koncentrace celkového organického uhlíku (TOC, total organic carbon) je technicky velmi náročný ukazatel. Metoda spočívá ve spálení vzorku v proudu kyslíku

při teplotě 1 000 °C za katalytického působení platiny a následného stanovení oxidu uhličitého (CO₂), jenž je měřen absorpcí infračerveného záření. Jelikož se jedná o velmi náročnou metodu, používají se běžněji výše zmíněné metody stanovení organických látek ve vzorcích (Malý, 2006).

Hodnoty jednotlivých ukazatelů organického znečištění BSK, CHSK, TSK a TOC patří mezi skupinová stanovení obsahu organických látek. Porovnáním uvedených hodnot získáme následující pořadí $TSK \geq CHSK_{Cr} > CHSK_{Mn} > BSK_5$. Hodnota BSK₅ bývá nižší než CHSK, protože při stanovení BSK₅ nedojde k úplnému rozkladu veškeré biologicky rozložitelné organické hmoty a některé organické sloučeniny jsou vůči biologickému rozkladu rezistentní, ale jsou oxidovány v podmínkách stanovení CHSK. U odpadních vod obsahujících snadno rozložitelné látky se poměr BSK₅ ku CHSK_{Cr} pohybuje v rozmezí 0,5–0,75. U biologicky vyčištěných odpadních vod bývá poměr 0,1–0,2 (Hydrochemie, 2016; Malý, 2006).

3.2 Matrice

BSK₅ se ve výzkumu stanovuje na různých maticích, tedy na různě organicky zatížených druzích vod. Součástí práce jsou matrice pitná voda, odpadní voda, kal z čistírny odpadních vod a standardní roztok. Pitnou vodou se rozumí voda z vodovodního řádu, upravovaná a určená k lidské spotřebě. Odpadní vody jsou vody splaškové, z domácností, průmyslu, voda dešťová a všechna ostatní svedená do kanalizační sítě měst. Kal je zkoncentrovaná odpadní voda, nejčastěji sedimentací, na čistírně odpadních vod. Standardní roztok je roztok připravovaný pro účely stanovení BSK₅ v laboratoři z vody destilované.

Z širokého spektra možných matic byly pro účely výzkumu vybrány tyto čtyři, protože jsou reprezentativním vzorkem zatížení vod obsahujících různá množství biologicky rozložitelných látek. Pitná voda obsahuje minimální množství biologicky rozložitelných látek, kdežto kal je jedním z nejvíce zatížených roztoků, odpadní voda je pak na škále znečištění někde uprostřed mezi dvěma výše zmíněnými. Standardní roztok pak slouží k ověření měření BSK₅ na stále stejné přesně definované matici.

3.3 Metody stanovení biologické spotřeby kyslíku

Pro účely této práce jsou zde popsány nejběžnější metody stanovení BSK₅, které jsou ve výzkumu testovány. Výzkum porovnává čtyři nejběžněji v praxi používané

analytické metody na čtyřech různých maticích, standardním roztoku, pitné vodě, odpadní vodě a kalu.

3.3.1 Volumetrická (titrační) metoda

Jodometrická metoda je analytickou volumetrickou metodou pro stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodě. Lze ji používat pro všechny druhy vod s koncentrací rozpuštěného kyslíku v rozmezí od $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ až do dvojnásobného nasycení vody kyslíkem (asi $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$), pokud se ve vodě nevyskytují rušivé vlivy, mezi které patří snadno oxidovatelné organické sloučeniny, jako tanin, huminové kyseliny a ligniny. Sloučeniny oxidovatelné síry, jako siričky nebo thiomočovina, ruší tuto analýzu podobně jako aktivně respirující systémy, u nichž dochází k rychlé spotřebě kyslíku. Jsou-li takové látky přítomny, je vhodnější použít elektrochemickou metodu s membránovou sondou podle ISO 5814. Dusitany do $15 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ neruší stanovení, neboť se likvidují přidavkem azidu sodného dle postupu v normě, která popisuje postup stanovení ČSN EN 25813. Jsou-li přítomny oxidující nebo redukující látky, je nutno modifikovat způsob stanovení, přesnější postup je v téže normě (ČSN 25813, 1995).

Jedná se o dříve běžně používanou metodu stanovení, kdy se BSK₅ stanoví jako rozdíl koncentrací kyslíku ve vzorku před a po proběhnutí biologické oxidace organických látek při standardizovaných podmínkách inkubace vzorku. Koncentrace kyslíku se stanoví jodometrickou (Winklerovou) metodou. Standardní podmínky inkubace jsou doba 5 dní po 24 hodinách, teplota $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, vyloučení přístupu atmosférického kyslíku a světla, aerobní podmínky během celé inkubace. Protože rozpustnost kyslíku ve vodě je poměrně malá, vzorky vody při větším znečištění musí být dostatečně zředěny, aby nedošlo k vyčerpání rozpuštěného kyslíku ve vodě, nebo se vzorky před analýzou provzdušňují. Vzorek na počátku inkubace by měl obsahovat kyslík (O₂) v koncentraci asi $9 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, čehož je možné dosáhnout právě ředěním či provzdušněním. Koncentrace O₂ po inkubaci musí být nejméně $3 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Koncentrace O₂ během inkubace se musí snížit nejméně o $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (neplatí u neředěných vzorků) (ČSN 25813, 1995; Hydrochemie, 2016).

Zředovací voda se připravuje z destilované vody nasycené vzdušným kyslíkem o teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ přidáním roztoků chloridu železitého ($0,25 \text{ g FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ v 1 litru vody), chloridu vápenatého ($27,5 \text{ g CaCl}_2$ v 1 litru vody), síranu hořečnatého ($22,5 \text{ g MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ v 1 litru vody) a tlumivého fosforečnanového roztoku o pH 7,2 ($8,5 \text{ g KH}_2\text{PO}_4$, $21,75 \text{ g K}_2\text{HPO}_4$, $33,4 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ a $1,7 \text{ g NH}_4\text{Cl}$ vše do 1 litru vody).

V případě použití ředící vody (u vod s BSK₅ nad 6 mg·l⁻¹) se musí inkubovat slepý vzorek této vody s výsledkem BSK₅ pod 0,5 mg·l⁻¹. Ředění se provádí dle normy ČSN EN 1899-1 Zředovací a očkovací metoda s přidavkem allylthiomočoviny. Stanovení BSK₅ se ověřuje standardní látkou (roztok glukosy a kyseliny glutamové). U vzorků nasazených ve více ředěních se za nejsprávnější hodnotu BSK₅ považuje stanovení, kdy bylo spotřebováno asi 50 % O₂ (ČSN 25813, 1995; Hydrochemie, 2016).

$$\text{Výpočet BSK}_5 [\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}](\text{bez ředění}) = a - b$$

a je koncentrace rozpuštěného kyslíku nultý den v mg·l⁻¹

b je koncentrace rozpuštěného kyslíku po pěti dnech v mg·l⁻¹

$$\text{Výpočet BSK}_5[\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}](\text{s ředěním}) = [a - b - c(1 - R)]$$

c je hodnota slepého pokusu zředovací vody v mg·l⁻¹

R (ředění) poměr objemu vzorku k objemu připravené směsi vzorku se zředovací vodou (ČSN1899-1, 1999; Hydrochemie, 2016)

3.3.2 Respirometrická metoda

Respirometrické stanovení je moderní metoda založena na tom, že mikroorganismy, degradující organické látky obsažené v matrici, spotřebovávají kyslík rozpuštěný ve vodě a obsažený ve vzduchu, který zbývá v uzavřené lahvi (lahve není naplněna vzorkem po okraj jako je tomu u volumetrického stanovení). Mikroorganismy uvolňují oxid uhličitý, který vzniká jako metabolit při tomto procesu degradace organických látek, ten je v lahvi absorbován (jako absorbent slouží pecičky NaOH). V důsledku snížení množství kyslíku a absorpce CO₂ tlak v lahvi klesá. Tato změna je detekována tlakovým čidlem (Obr. 3) v hlavici přístroje a ukládána do paměti. Data lze přenést do ovladače (Obr. 2), který nám přímo udává hodnotu naměřené BSK₅, není tedy třeba dalších přepočtů (Slevogt, 2006).

Lahve na vzorky jsou plněny v souladu s daty viditelnými na displeji, kde se nastavuje očekávané rozpětí BSK₅ a k němu přiřazené množství vzorku v mililitrech. Před začátkem měření jsou lahve vyčištěny a vysušeny. Lahve jsou následně naplněny vzorkem o objemu, který odpovídá předpokládané hodnotě BSK₅. Do lahve se vloží magnetické míchadlo. Gumová zátka se naplní NaOH (1–2 pecky) a vloží se do ústí lahve. Na lahev se přišroubuje měřicí hlavice a zapne se ovladač. Přepne se do modu komunikace s měřicími hlavicemi, zvolí se předpokládaný rozsah BSK₅ a jemu odpovídající objem vzorku, kterým je lahev naplněna a potvrdí se (tlačítko enter). Měření začne po temperaci vzorku na 20 °C. Hlavice odečítá hodnoty tlaku

každých 20 minut a přepočítává je na BSK₅. Všechna data jsou uložena v paměti hlavice. Výsledkem je graf vývoje spotřeby kyslíku, který lze přenést do počítače (Slevogt, 2006).

3.3.3 Elektrochemická metoda

Stanovení rozpuštěného kyslíku elektrochemickou metodou s membránovou sondou je dáno normou ČSN EN ISO 5814. Tato norma specifikuje elektrochemickou metodu stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodě pomocí elektrochemického článku, ten je oddělen od vzorku membránou propustnou pro plyny. Sonda se ponoří do analyzované vody a probíhá měření, jehož princip je popsán níže v této kapitole. Dále norma upozorňuje, že pracovníci používající tuto mezinárodní normu mají ovládat běžnou laboratorní praxi. Není účelem této normy uvádět všechna bezpečnostní rizika, které souvisí s jejím používáním. Je naprosto nezbytné, aby zkoušky podle této normy prováděli náležitě kvalifikovaní pracovníci (ISO 5814, 2013).

Podle druhu použité sondy je možné měřit buď koncentraci kyslíku v miligramech na litr, nebo procento nasycení rozpuštěného kyslíku, nebo obojí. Tato metoda je vhodná jak pro měření v laboratoři, tak i pro terénní měření a kontinuální monitoring rozpuštěného kyslíku. Přednostně se používá pro velmi zbarvené a zakalené vody a také pro analýzu vod, u nichž není vhodná Winklerova odměrná metoda vzhledem k obsahu železa a látek, které vážou jod, což může rušit při jodometrické metodě specifikované v ISO 5813. Metoda je vhodná pro pitné, přírodní, odpadní a slané vody, ale u slané vody se musí pracovat s korekcí salinity (ISO 5814, 2013).

Podstatou zkoušky je sonda, která je tvořena článkem, jenž je uzavřený selektivní membránou, obsahuje elektrolyt a nejméně dvě kovové elektrody. Membrána je prakticky nepropustná pro vodu a iontové rozpuštěné látky, ale je propustná pro kyslík a některé další plyny. Jedna z elektrod je z drahého kovu, jako je zlato nebo platina a na jejím povrchu dochází k redukci kyslíku elektrochemickým procesem. Proces je umožněn tím, že se na elektrodě ustaví vhodný elektrochemický potenciál, který vznikne díky druhé elektrodě z jiného materiálu nebo z externího zdroje napětí na druhé elektrodě. Proud vznikající při redukci kyslíku je přímo úměrný transportní rychlosti kyslíku membránou a vrstvou elektrolytu, a tedy parciálnímu tlaku kyslíku ve vzorku při dané teplotě. Teplota má dva různé vlivy, první vliv se týká změny propustnosti membrány s teplotou a druhý působením teploty na elektrodové reakce.

Signál sondy musí být kompenzován zařazením teplotního senzoru, moderní přístroje jsou schopny provést kompenzaci automaticky. Pro výpočet procenta nasycení vzorků, které jsou ve styku s ovzduším, je nutné zahrnout skutečný tlak, to je možné provést manuálně nebo vřazením tlakového senzoru pro automatickou kompenzaci (ISO 5814, 2013).

Před začátkem měření je třeba vzorky naředit podle normy ČSN EN 1899-1 a provzdušnit, připravené vzorky rozlít do laboratorního skla Winkler o stanoveném přesném objemu. První polovina vzorků je pak změřena elektrodou a druhá odložena do termostatu a měřena po pěti dnech inkubace. Z rozdílu hodnot je vypočítána výsledná hodnota BSK₅ (ISO 5814, 2013).

3.3.4 Spektrofotometrická metoda

Jedná se o kyvetové stanovení BSK₅, kdy je barevná změna kyvety (síla zabarvení závisí na koncentraci kyslíku) stanovena spektrofotometricky. Principem této metody BSK₅ je stanovení rozpuštěného kyslíku ve vzorku. Kyslík obsažený ve vzorku je přetvořen v alkalickém roztoku s derivátem pyrokatecholem, za přítomnosti Fe²⁺, na červené barvivo, které je přímo úměrné množství kyslíku v roztoku. Následně se jeho množství stanoví pomocí spektrofotometru. Proces nitrifikace, který by mohl ovlivnit stanovení, je inhibován použitím 5 mg·l⁻¹ allylthiomočoviny (Cuvette, 2016).

Metoda je svým rozsahem použití vhodná pro povrchové vody, které jsou málo zatížené, a vody na odtoku komunálních a průmyslových čistíren odpadních vod s biologickým stupněm čištění bez dalšího očkování. Testovací činidla jsou stabilní při teplotě +2 až +8 ° C, až do uplynutí doby expirace na obalu (Cuvette, 2016).

Vlivy, které mohou rušit stanovení, jsou peroxidové sloučeniny, silná oxidační činidla, vysoká koncentrace chloru a silná redukční činidla. Ty způsobují vysoké nebo nízké zkreslení výsledků a jsou v rozporu s biologickou oxidací během 5 dní. Dusitan (NO₂⁻) a železo (Fe²⁺) narušují reakci, pokud jsou přítomny v koncentraci alespoň 1 mg·l⁻¹ v původním vzorku. Obsah chemické spotřeby kyslíku by neměl překročit 25 mg·l⁻¹ v původním vzorku nebo 50 mg·l⁻¹ v ředění 1:2. Dále mohou rušit stanovení vzorky s vysokým obsahem nečistot a zákalu, pokud je to nezbytné, je potřeba provést analýzu s kapalným supernatantem po homogenizaci, což umožňuje usadit sediment. Konzervované nebo zmrazené vzorky mohou být analyzovány pouze zjednodušeným očkovacím postupem. Tyto výsledky měření musí být podrobeny

kontrole věrohodnosti, to lze provést pomocí kyvetového testu LCK 554 BSK₅ prostřednictvím vícenásobného stanovení (Cuvette, 2016).

Hodnota pH vzorku vody musí být v rozmezí pH4 až pH10. Teplota vzorku vody a ředící vody musí být v rozmezí 18–24 °C. Vzorky, které obsahují řasy, musí být před analýzou filtrovány (1,2 µm filtr). Vzorky povrchové vody, které neobsahují žádnou komunální odpadní vodu, je potřeba naočkovat pomocí zjednodušeného postupu ještě před analýzou (viz aplikace). Přenosné pipety (špičky) by po použití měly být zlikvidovány. Odměrné nádoby by po použití měly být důkladně vypláchnuty horkou vodou z vodovodu nebo, jsou-li silně znečištěné, tak vyčištěny vhodným čisticím prostředkem. Z důvodů kvality a spolehlivosti by analýza měla být provedena pouze s originálním příslušenstvím firmy HACH LANGE (Cuvette, 2016).

Existují dva postupy stanovení, oba se vztahují na všechny typy fotometrů. První postup je inkubace vzorku roztoku ve větším objemu a následné pipetování do kyvety. Vzorek odpadní vody 20 ml je zředěn destilovanou vodou (BSK₅ < 0,5 mg·l⁻¹) 20 ml. Dostatečně provzdušněn se inkubuje po dobu pěti dní v reagenční lahvi k tomu určené (bez přístupu vzduchu, v termostatu). Z takto uchovaného vzorku o větším objemu (více jak 100 ml) se odpipetuje potřebné množství do kyvety, kde se následně analyzuje. Faktor ředění je třeba vzít v úvahu při výpočtu obsahu BSK₅ (výsledek měření krát dvě) (Cuvette, 2016).

Druhým možným způsobem je inkubovat roztok po dobu pěti dní přímo v měřené kyvetě, návod umožňuje oba postupy. Vzorek kyvety 1 se měří přímo a vzorek kyvety 2 po 5 dnech. Je vhodné kyvety označit například: A1 přímé měření, A5 měření po 5 dnech. Připravený vzorek odpadní vody je potřeba odpipetovat do dvou kyvet až po okraj. Zkušební kyveta 2 (měření po 5 dnech) nesmí obsahovat vzduchové bubliny a je potřeba ji neprodleně utěsnit. Inkubuje se ve tmě po dobu 5 dní při teplotě 20 °C v termostatu. Kyvetové testy se analyzují následovně (Cuvette, 2016).

Vzorek kyvety 1 (přímé měření)

Umístit nálevku na naplněný vzorek kyvety 1. Opatrně stáhnout hliníkovou folii z vršku kyvety a vylít obsah (činidla a skleněné kuličky) přes nálevku do vzorku kyvety 1. Odstranit nálevku a okamžitě uzavřít vzorek kyvety 1 vrškem, je třeba dát pozor, aby kyvety neobsahovaly žádné vzduchové bubliny. Poznámka: V případě, že kapalina menisku padá pod otvor kyvety, když je nálevka odstraněná, doplňte objem přidáním 2 až 4 skleněných kuliček. Následně je potřeba opakovaně obracet vzorek kyvety 1 (protřepat) po dobu 3 minut, dokud se reakční činidla zcela nerozpustí. Je třeba počkat

3 minuty, poté znovu důkladně vyčistit vnější povrch kyvety a vložit do spektrofotometru, vyhodnotit a zaznamenat výsledek (Cuvette, 2016).

Vzorek kyvety 2 (měření po 5 dnech)

Otevřít vzorek kyvety 2, který byl odstátý po dobu 5 dní (nebo odpipetovat inkubovaný vzorek do kyvety), a umístit na něj trychtýř. Opatrně stáhnout hliníkovou fólii víčka a vylít obsah (činidla a skleněné kuličky) přes nálevku do vzorku kyvety 2. Odstranit nálevku a okamžitě utěsnit kyvetu 2 pomocí víčka, dávat pozor, aby kyveta neobsahovala vzduchové bubliny. Poznámka: V případě, že kapalina menisku padá pod otvor kyvety, když je nálevka odstraněná, doplňte objem přidáním 2 až 4 skleněných kuliček. Opakovaně obracet vzorek kyvety 2 (promíchat) po dobu 3 minut, dokud se reakční činidla zcela nerozpustí. Počkat 3 minuty, poté znovu důkladně vyčistit vnější povrch kyvety a vložit do spektrofotometru, vyhodnotit a zaznamenat výsledek (Cuvette, 2016).

Aplikace

Zjednodušený postup očkování povrchové vody, která je jen minimálně biologicky kontaminovaná. Postup by měl být použit pro vodu, která neobsahuje komunální odpadní vody. Příslušenství potřebné pro tento postup je LZC 555 BioKit, LZP 065, reakční zkumavky s uzávěrem. Příprava očkovacího roztoku probíhá následovně. Do reakční zkumavky 1 je třeba přidat očkovací látku (LZC 555) tlumivý roztok 10 ml. Důkladně promíchat po dobu 1 minuty a nechat usadit na 20 min. Poté odpipetovat do reakční zkumavky 2 objem 0,2 ml roztoku z reakční zkumavky 1 a přidat 10 ml destilované vody, promíchat (Cuvette, 2016).

3.4 Legislativní prostředí České republiky pro stanovení ukazatelů kvality vod

V následující kapitole je uveden výčet právních předpisů týkajících se vodního hospodářství, konkrétně ukazatele kvality vody BSK₅. Legislativa navazuje na výše zmíněnou problematiku BSK₅ a způsoby měření. Udává, kde se mají jaké ukazatele stanovovat a jaké hodnoty jsou přípustné. Touto kapitolou chci upozornit, že ukazatel BSK₅ je jedním z významných, a proto je třeba se jeho stanovením zabývat.

3.4.1 Legislativní požadavky na jakost vody

Při analýzách vod pitných, užitkových, atmosférických a podzemních se BSK₅ nestanovuje, protože hodnoty u těchto vod bývají ve většině případů nižší než 1 mg·l⁻¹.

V povrchových vodách se hodnoty BSK₅ pohybují obvykle v jednotkách mg·l⁻¹. Například v řece Bílině, v oblasti průmyslové aglomerace v lokalitě Velvěty, se v letech 1994-1995 pohybovaly hodnoty BSK₅ asi od 4 mg·l⁻¹ do 40 mg·l⁻¹ a průměrná hodnota byla 14,8 mg·l⁻¹. Příkladem čistého toku může být Jizera v lokalitě Horní Sytová, u níž se hodnoty BSK₅ pohybovaly v rozmezí 0,7–3 mg·l⁻¹ ve stejném časovém období, s průměrem 1,48 mg·l⁻¹ (Pitter, 2015).

V požadavcích na jakost pitné a užitkové vody se BSK₅ jako ukazatel nevyskytuje. Pro povrchové vody je obecný imisní standard přípustného znečištění 6 mg·l⁻¹ (CHSK_{Cr} 35 mg·l⁻¹, TOC 13 mg·l⁻¹). Pokud se povrchová voda používá pro vodárenské účely je imisní standard jen 2,6 mg·l⁻¹. Klasifikace jakosti povrchových vod ČSN 75 7221 uvádí pro I. třídu „velmi čistá voda“ hodnotu BSK₅ pod 2 mg·l⁻¹, pro V. třídu „velmi silně znečištěná voda“ hodnotu nad 15 mg·l⁻¹. Orientační limity pro přípustnou míru znečištění průmyslových vod vypouštěných do kanalizace je BSK₅ 800 mg·l⁻¹ a CHSK_{Cr} 1 600 mg·l⁻¹ (Pitter, 2015).

Následující legislativní předpisy ČR definují přípustné hodnoty znečištění různých druhů vod, vybírám jen část legislativního prostředí k doplnění popisované problematiky.

Nařízení vlády č. 57/2016 Sb.

Nařízení vlády o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění odpadních vod a náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod podzemních

Emisní limity jsou nejvýše přípustné hodnoty ukazatelů znečištění odpadních vod, které je nutno dodržet v místě odběru vzorků.

Emisní standardy ukazatele přípustného znečištění odpadních vod vypouštěných do vod podzemních a nejvýše přípustné hodnoty těchto ukazatelů jsou uvedeny v příloze č. 1 k tomuto nařízení, kde jsou například ukazatele a emisní standardy přípustného znečištění odpadních vod vypouštěných do vod podzemních (Nařízení vlády č. 57, 2016).

Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.

Nařízení vlády 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.

Splašky, odpadní vody z domácností a služeb, které vznikají převážně jako produkt lidského metabolismu a činností v domácnostech.

Městské odpadní vody, splašky nebo směs splašků a průmyslových odpadních vod, anebo srážkových vod.

Ekvivalentní obyvatel (EO) je definovaný produkcí znečištění 60 g BSK₅ za den. Počet ekvivalentních obyvatel se pro účel zařazení čistírny odpadních vod do velikostní kategorie vypočítává z maximálního průměrného týdenního zatížení na přítoku do čistírny odpadních vod během roku s výjimkou neobvyklých situací, přívalových dešťů a povodní. Pro určení velikosti aglomerace se použije stejný postup pro všechny odpadní vody odváděné kanalizací pro veřejnou potřebu. Pro účely stanovení limitů se použije vyšší z obou hodnot. Toto nařízení ve své příloze č. 1 stanovuje například emisní standardy ukazatelů přípustného znečištění odpadních vod (Nařízení vlády č. 401, 2015).

Tab. 1 Emisní standardy odpadní vody vypouštěné z komunálních čistíren odpadních vod (Nařízení vlády č. 401, 2015, upraveno Šváb, 2017)

| Kategorie ČOV (EO) nebo velikost aglomerace | CHSK _{Cr} | | BSK ₅ | | NL | | N-NH ₄ ⁺ | | N _{celk} | | P _{celk} | |
|--|--------------------|-----|------------------|----|----|----|--------------------------------|----|-------------------|----|-------------------|---|
| | p | m | p | m | p | m | průměr | m | průměr | m | průměr | m |
| < 500 | 150 | 220 | 40 | 80 | 50 | 80 | – | – | – | – | – | – |
| 500–2 000 | 125 | 180 | 30 | 60 | 40 | 70 | 20 | 40 | – | – | – | – |
| 2 001–10 000 | 120 | 170 | 25 | 50 | 30 | 60 | 15 | 30 | – | – | 3 | 8 |
| 10 001–100 000 | 90 | 130 | 20 | 40 | 25 | 50 | – | – | 15 | 30 | 2 | 6 |
| > 100 000 | 75 | 125 | 15 | 30 | 20 | 40 | – | – | 10 | 20 | 1 | 3 |

Legenda: přípustné hodnoty (p), maximální hodnoty (m) a hodnoty průměru koncentrace ukazatelů znečištění vypouštěných odpadních vod v mg·l⁻¹ (Nařízení vlády č. 401, 2015).

Tab. 2 Emisní standardy, přípustná minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod (minimální procento úbytku) v procentech (Nařízení vlády č. 401, 2015, upraveno Šváb, 2017).

| Kategorie ČOV (EO) nebo velikost aglomerace | CHSK_{Cr} | BSK₅ | N-NH₄⁺ | N_{celk} | P_{celk} |
|--|--------------------------|------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| < 500 | 70 | 80 | – | – | – |
| 500–2 000 | 70 | 80 | 50 | – | – |
| 2 001–10 000 | 75 | 85 | 60 | – | 70 |
| 10 001–100 000 | 75 | 85 | – | 70 | 80 |
| > 100 000 | 75 | 85 | – | 70 | 80 |

Zákon č. 254/2001 Sb.

Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon).

Účelem 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 závislých suchozemských ekosystémů (Zákon č. 254, 2001).

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 (Zákon č. 254, 2001).

Vyhláška č. 252/2004 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody (Vyhláška č. 252, 2004).

I přes všechny své nedostatky patří ukazatel BSK mezi základní hodnoty jakosti povrchových a odpadních vod. Je porovnatelný s CHSK, který rovněž vyjadřuje kyslíkový ekvivalent organického znečištění vod. Stanovení BSK není dosud nahraditelné jiným druhem stanovení, které by kvantitativně vystihlo množství kyslíku spotřebovaného při biologickém rozkladu organických látek za aerobních podmínek. Hodnota BSK je jedním z nejdůležitějších parametrů při biologickém čištění odpadních vod a při posuzování samočisticích schopností v povrchových vodách. Významná je také hodnota poměru BSK ku CHSK, jak popisují výše, protože umožňuje přibližný odhad poměrného zastoupení látek podléhajících biologickému rozkladu za aerobních podmínek. Při analýze pitné a užitkové vody se BSK nestanovuje (Pitter, 2015).

4 MATERIÁL A METODIKA

Tato kapitola se věnuje praktické části práce, kdy bude popsáno, jak výzkum probíhal, zhodnocení a reflexe výsledků.

4.1 Odběr matric

Porovnání měřících metod jsem prováděl na výše zmíněných matricích. Měření a odběr vzorků byl prováděn od ledna a v průběhu celého roku 2016. Matrice byly odebírány vždy ke každému měření ideálně v den analýz, případně den předem, aby mohly být ráno analyzovány. Tento způsob odběru a práce byl zvolen záměrně a předpokládal jsem, že to může mít vliv na měření. Kvalita a zatíženost matric biologicky rozložitelnými látkami se v čase může lišit, především pak u odpadní vody a kalu, což je ovlivněno například množstvím srážek, zatížeností vod znečištěním atd. Přesto má měření svoji vypovídací hodnotu, protože jsem metody mezi sebou porovnával vždy v rámci jednoho měřeného pětidenního cyklu na jednom odebraném vzorku matrice, který tím pádem byl pro všechny metody stejný. Lišit se tak vlivem matrice mohou měření jen z různých dní, v rámci jednoho cyklu měření však nikoliv, což pro výsledky práce považuji za dostatečné v rozsahu měření, který byl prováděn.

Mohl jsem všechny matrice odebrat v jeden den ve větším množství a zamrazit je, následně je rozmrazovat po celou dobu měření a používat pro jednotlivá měření, čímž by se nejspíše dosáhlo více porovnatelných výsledků mezi různými dny měření mezi sebou. Takto zle porovnávat vždy jen měření z jednoho dne. Nicméně to nebylo cílem, protože by měření a práce byly ochuzeny o podněty a zkušenosti z proměnlivosti jednotlivých matric v průběhu roku. Z tohoto důvodu jsem zvolil tento způsob

odebírání vzorků. Jednotlivé matrice byly odebírány a připravovány následujícími způsoby.

4.1.1.1 Standardní roztok glukózy

Roztok glukózo glutamové kyseliny byl připraven rozpuštěním 150 mg glukózy a 150 mg glutamové kyseliny, přidáno 5 ml inokula (odpadní voda z přítoku na ČOV). Celý roztok byl zředěn do 1 000 ml. Následně byl standardní roztok rozléván dle požadovaného množství.

4.1.1.2 Pitná voda

Pitná voda byla odebírána z kohoutu, z vodovodního řádu města Brna, v laboratoři Mendelovy univerzity v Brně, Budova Q, místnost Q01.02, adresa Zemědělská 1.

4.1.1.3 Odpadní voda

Odpadní voda byla odebírána na přítoku do čistírny odpadních vod (ČOV), již bez anorganických nečistot, tedy za česlemi a lapákem písku Obr. 11 Příloha č. 1. Voda byla odebírána ze dvou ČOV, Moravany (5 500 EO) a z ČOV Brno (513 000 EO)

4.1.1.4 Kal

Kal byl odebíráán z aktivační linky čistírny odpadních vod Obr. 10 Příloha č. 1. Vzorky odpadní vody a kalu byly jímány ze dvou ČOV, Moravany (5 500 EO) a z ČOV Brno (513 000 EO). Pro účely výzkumu nebylo důležité, z jakého zdroje vzorek pochází, protože naším cílem nebylo stanovit BSK₅ pro dané vzorky, ale porovnat metody stanovení BSK₅ mezi sebou.

Všechny uvedené vzorky byly v laboratoři provzdušněny, aby v nich bylo počáteční množství kyslíku v rozmezí 8,5–9 [mg·l⁻¹], temperovány na 20 °C a následně použity pro jednotlivá stanovení.

4.2 Reflexe, zhodnocení metod stanovení BSK₅

V této části práce popisují zkušenosti získané při jednotlivých měřeních, jejich zhodnocení z hlediska dopadů na kvalitu práce a ovlivnění výsledků měření, zhodnocení metod z hlediska náročnosti postupu.

4.2.1 Volumetrická, titrační metoda

Odebral jsem vzorek matrice a postupoval dle normy Stanovení rozpuštěného kyslíku Jodometrickou metodou ČSN EN 25813, jejíž specifiky, princip a další souvislosti, jsou popsány výše v teoretické části.

Připravil jsem chemikálie dle normy, které byly uchovávány v nádobách k tomu určených. Standardizace a titrační stanovení bylo prováděno na klasické skleněné byretě, vybavení je patrné z přiloženého obrázku Obr. 1.



Obr. 1 Stůl pro jodometrické stanovení (Šváb, 2016)

U postupu standardizace odměrného roztoku thiosíranu sodného ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) je formulace: „přidá se roztok indikátoru“ (ČSN EN 25813), kde norma dále nestanovuje, kolik se ho má přidat. Přidával jsem indikátor, jak je v laboratorní praxi běžné, několik kapek (3–5) tak, aby se roztok zbarvil. Příprava škrobu jako indikátoru má úskalí v tom, že norma nedefinuje jak jej připravit, jen zmiňuje koncentraci $10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ škrobu. Ten je však potřeba uvařit tak, aby změnil konzistenci na gel, specifickou škrobovou barvu, Obr. 28 v Příloha č. 5. Postup a barevný průběh titrace je vyobrazen v Příloha č. 5 na Obr. 25, Obr. 26 a Obr. 27. Vždy je nutné standardizaci provést alespoň třikrát a stanovit průměr. Pro samotné stanovení BSK_5 je potřeba naředit vzorky matric odpadní vody a kalu, pitnou vodu a standardní roztok není třeba ředit (ČSN 25813, 1994).

Samo ředění zabralo asi 30 minut, na přípravu ředící vody a rozředění vzorků dle určeného ředění. Provzdušnění je dobré si naplánovat a nechat ředící vodu provzdušňovat několik hodin předem a mezitím se věnovat jiné práci, protože u provzdušnění není potřeba dohled pracovníka, proto časovou zátěž samotného

provzdušnění, která činila dvě až tři hodiny, nezapočítávám do času na stanovení jednotlivé metody.

Vzorek se rozdělí do Winklerových lahví, jedna polovina se použije ke stanovení a druhá se inkubuje po dobu pěti dní, následně se taktéž zanalyzuje. Při přelévání do Winklerových lahví je třeba dát pozor, aby na skle neulpěly vzduchové bublinky, těch je potřeba se zbavit, aby nevznikla v lahvi vzduchová bublina, čímž by kyslík v ní obsažený ovlivnil inkubaci a měření. Následně se do lahve odpipetují chemikálie dle postupu v normě, probíhá barevná změna a sedimentace vloček. Proces je zdokumentován na Obr. 19, Obr. 20, Obr. 21 a Obr. 22 v Příloha č. 4. Po sedimentaci a přidání kyseliny se odebere alikvotní podíl (objem V_1) Obr. 23 a Obr. 24 do titrační baňky a roztok se titruje. Norma nijak nedefinuje objem V_1 , já jsem vždy pipetoval 40 ml roztoku. Následně se titruje ještě druhý roztok matrice bez přidání chemikálií, kdy se stanoví obsah oxidujících látek mimo rozpuštěný kyslík. Proveďte se výpočet, druhý výsledek titrace se odečte od prvního (výpočet je přesně popsán v normě ČSN EN 25813 a pro potřeby práce nemá smysl jej zde rozepisovat). Po odečtu hodnot množství O_2 na počátku a konci inkubace je výsledným množstvím spotřebovaného kyslíku za pět dní tedy ekvivalent BSK_5 .

U odpadní vody a kalu, které je potřeba ředit Obr. 30, jinak by nedošlo k normou požadovanému úbytku kyslíku (viz výše), je úskalí v předběžné znalosti zatížení matrice a určení ředícího poměru. Může se pak stát, jako mě, že laborant neodhadne ředění, protože například na menší ČOV vyvezli septiky z okolních obcí a je tak voda výrazně zatížena. Vliv mají také bezdeštné období, kdy není odpadní voda ředěna srážkami v jednotné kanalizační síti nebo naopak vydatné deště, které odpadní vodu naředí. Kal je pak ovlivňován úplně stejně jen s určitou dobou zdržení vůči odpadní vodě, protože kal vzniká zkoncentrováním, sedimentací látek v odpadní vodě. Pokud se nepovede dobře určit ředící poměr, tak dojde buď k větší spotřebě O_2 než stanoví norma nebo naopak menšímu. V obou případech je výsledek ovlivněn chybou a není vypovídající. Při stanovení byl u odpadní vody ředící poměr nejčastěji 15–20 ml v 1 000 ml roztoku ředící vody, při méně zatížených vzorcích jsem použil ředění až 60 ml v 1 000 ml roztoku, u kalu, který je více zatíženým druhem matrice, pak rozmezí 5–15 ml v 1 000 ml roztoku ředící vody. Při této metodě vzniká nebezpečný odpad a to roztoky, v kterých je obsažen azid sodný, jenž je toxický. S roztoky po titraci, kde je obsažen, je potřeba nakládat jako s nebezpečným odpadem.

Dalším potenciálním úskalím metody je samotný pracovník, který může do celého měření zanést vlastní chybu způsobem práce. Co se týče náročnosti této metody na čas, je ze všech čtyř metod nejvíce náročná. Na začátku výzkumu mi standardizace s přípravou trvala 60 minut a jedno stanovení (3 opakování) přibližně 90 minut. Po tom, co jsem se s postupem práce více seznámil, a stalo se stanovení rutinou, bylo možné (za předpokladu, že jsem měl již nachystané a naředěné potřebné chemikálie, jejichž příprava zabere asi 60 minut) standardizaci stihnout za 30 minut, jedno stanovení na jedné matrici při třech opakováních pak za 45 minut.

4.2.2 Respirometrická metoda

Princip metody a postup měření je popsán výše. Pracoval jsem na přístroji OxiTop® měřicí hlavice s induktivním míchacím systémem a OxiTop® OC 100 ovladač pro odečítání výsledků Obr. 2 výrobce WTW, Německo. Vzorky není potřeba pro tento způsob analýzy ředit, jen je potřeba znát přibližně rozmezí očekávané spotřeby kyslíku, tedy zatíženost vzorku biologicky rozložitelnými látkami (Slevogt, 2006).



Obr. 2 OxiTop® sada 6 lahví s měřicím přístrojem (Šváb, 2016)



Obr. 3 Pohled zespu na snímací hlavici a v ní zabudovanou membránu citlivou na tlak (Šváb, 2016).

U této metody je potřeba při postupu práce dávat pozor především na utažení měřicích hlavic. Stalo se, že při nedostatečném utažení, utěsnění hlavic, v rámci jednoho měření došlo v průběhu inkubace k přisávání kyslíku do lahve z okolního vzduchu a znehodnocení výsledků. Dalším možným úskalím jsou baterie v digitálním měřidle, počítači, který odečítá data z hlavic a skrz který se ovládají (startují a ukončují) jednotlivé měřicí hlavice. Může dojít k vybití baterie a tím k přerušení pokusu. Data se v tom případě u tohoto modelu neuchovají, ztratí se, nebo jsou ovlivněna výpadkem. Stejně tak je na elektrické energii závislé magnetické míchadlo, které je umístěováno do každé lahve. V případě výpadku elektrického proudu v laboratoři dojde na termostatu k pozastavení míchání Obr. 16 Příloha č. 3, což může ovlivnit výsledek, jelikož nebude zajištěna homogenita prostředí.

Mezi výhody tohoto způsobu stanovení patří především časová nenáročnost, kdy celé stanovení lze spustit za 30 min, při ukončení pak přibližně 30 minut na vyčištění a vmytí lahví a přetažení dat do počítače. Přenosný snímací počítač pracoval s programem Achat OC verze 2.03, z kterého jsem převáděl data do Excelu na počítači, kde byla dále zpracována.

4.2.3 Elektrochemická metoda

Při stanovení rozpuštěného kyslíku elektrochemickou metodou s membránovou sondou jsem postupoval dle normy ČSN EN ISO 5814, která je popsána spolu s principem metody výše.

Měření probíhalo na více parametrovém přenosném měřiči Multi 3320 (Obr. 4), sériové číslo 15430032, výrobce WTW, Německo v kombinaci se senzorem Cellox[®] 325, který měří koncentraci kyslíku v miligramech na litr. Před začátkem měření bylo potřeba vzorky naředit podle normy ČSN EN 1899-1 a provzdušnit. Připravené vzorky jsem rozlil do laboratorního skla Winkler. První polovina vzorků byla změřena elektrodou a druhá odložena do termostatu a měřena po pěti dnech. Z rozdílu hodnot byla vypočítána výsledná hodnota BSK₅.



Obr. 4 Měřicí přístroj Multi 3320 a senzor Cellox[®] 325 v kalibrační nádobě OxiCal[®] SL (Šváb, 2016)

Při měření je třeba dbát na to, aby se elektrodou neustále pohybovalo a voda vzorku se vířila, protože při měření dochází ke spotřebě O₂ a tím se snižuje množství O₂ v okolí elektrody a snižuje se tak zobrazovaná (měřená) hodnota O₂ v roztoku. Nejvýraznější je tento jev spotřeby O₂ v roztoku po pěti dnech inkubace, kdy je množství O₂ v roztoku již sníženo a elektroda jej ještě snižuje. V tomto případě je pak potřeba zapsat několik rozkolísaných hodnot během deseti sekund a udělat průměr. Tato nevýhoda pramenící z fyzikální podstaty této metody může být i výhodou, a to proto, že může měřit tekoucí vodu a kontinuálně posílat informaci o množství kyslíku v ní.

Polopropustná membrána v měřicí sondě se časem degraduje a do měření se zanáší chyba, proto je potřeba v pravidelných intervalech dle návodu výrobce sondu kalibrovat. Po nějaké době se snižuje životnost elektrody a je nutná finančně nákladná výměna. Nicméně je to metoda velmi rychlá, snadno se dá použít v terénu a měřicí přístroj obvykle umožňuje výměnu elektrod, takže je z něj možné udělat i pH metr, měřit vodivost, redoxní potenciál a podobně. Záleží na výběru sondy (elektrody) pro připojení k přístroji. Inkubace vzorků pak probíhá ve Winklerově skle a měří se po pěti dnech, z výpočtu rozdílů a započítání ředění se stanoví BSK₅. Časová náročnost a náročnost práce je výraznější než u respirometrické metody, je nutné vzorky ředit a provzdušnit a následně každý proměřit elektrodou, to v průměru zabralo 45 minut na tři matrice (standardní roztok nebyl pravidelně měřen, důvody popisují níže ve výsledcích).

4.2.4 Spektrofotometrická metoda

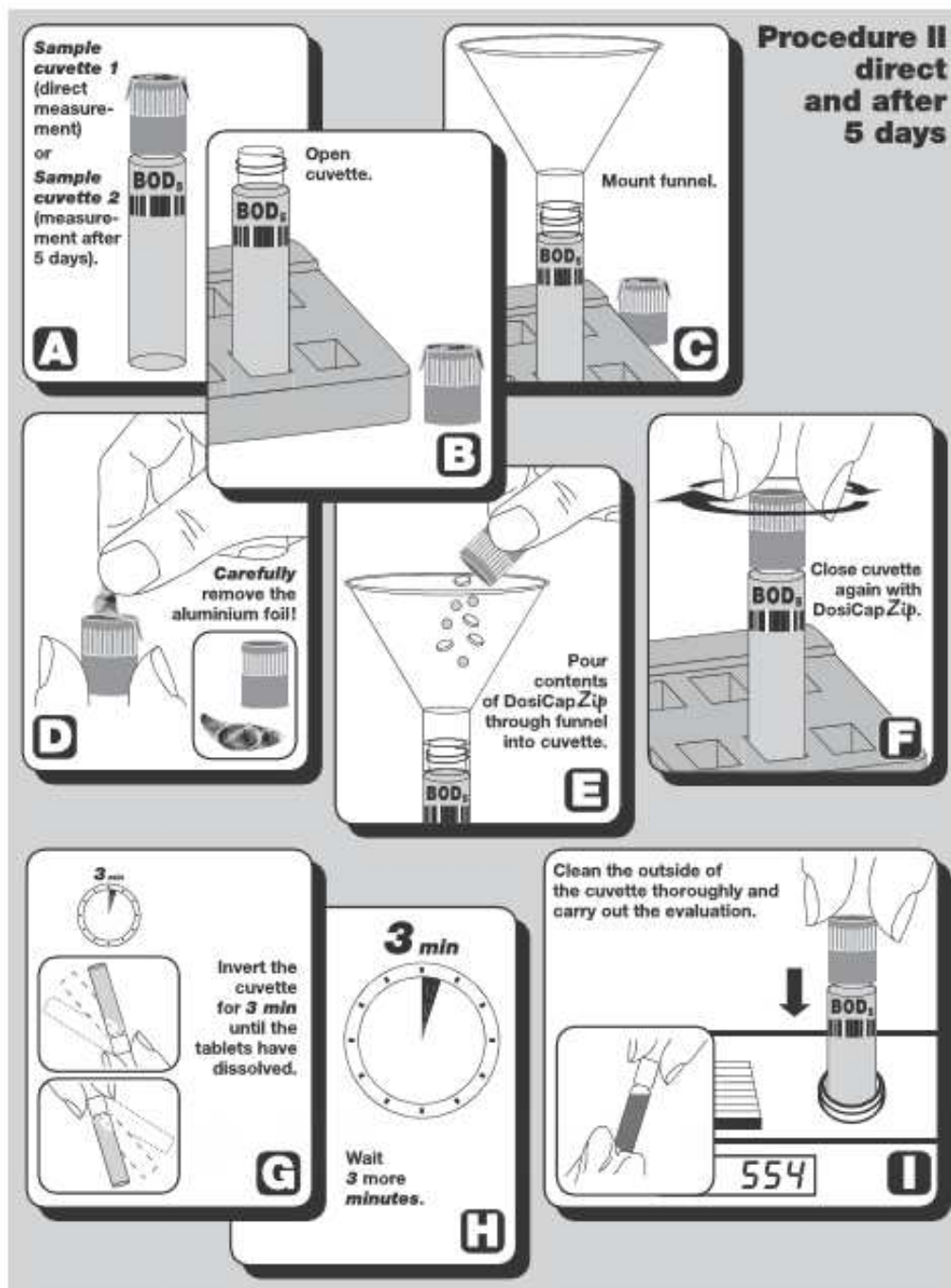
Stanovení probíhalo dle postupu od výrobce (viz výše) ke kyvetovému testu LCK 554. Práce probíhala na spektrofotometru DR 2800 výrobce Hach Obr. 34, ten se bohužel již nevyrobí, obdobou mu je modernější DR 1900 od téže firmy. Kyvetový test LCK 554 má pracovní rozmezí 0,5 - 12,0 mg·l⁻¹ O₂

Obr. 5. Jedná se o velmi jednoduchý test, který zvládne jakákoliv obsluha po přečtení návodu bez větší znalosti laboratorní práce (Příloha č. 6). Vše je v postupu podrobně vysvětleno, Obr. 6. Test pracuje podle normy EN 1899-1 a je určen pro spektrofotometry s čtečkou čárového kódu (Hach, 2017).



Obr. 5 Kyvetový test LCK 554 (Hach, 2017)

Otestoval jsem oba dva postupy a došel jsem k závěru, že pro pitnou vodu je dobrý postup dva, tedy inkubace přímo v kyvetě, kdy nemá malý objem vzorku takový vliv na proces biologické oxidace. Pro ředěné roztoky odpadní vody a kalu je naopak více vypovídající postup jedna, inkubace v reagenční lahvi o větším objemu než je kyveta, protože ve větším objemu vzorku může lépe probíhat proces spotřeby kyslíku mikroorganizmy než jen v bodovém vzorku, který může být zkreslen. Nicméně je to jen můj osobní závěr, k potvrzení tohoto tvrzení nemám dostatečný počet měření. Oba postupy jsou tak použitelné (Hach, 2017).



Obr. 6 Postup kyvetového stanovení (Hach, 2017)

Výhodou kyvetových testů je, že všechny chemikálie jsou již součástí balení. U balení, se kterým jsem pracoval já, chyběla nálevka zmíněná v návodu, ale může se jednat o jednu chybu v balení (nijak dál jsem nezjišťoval, zda tam být měla), nicméně

to není nepostradatelný komponent stanovení. Díky menším objemům chemikálií výrobce uvádí, že je šetrný k životnímu prostředí, což je očividné v porovnání s volumetrickou metodou, která pracuje na podobném principu, ale chemikálií se spotřebuje výrazně více, navíc vzniká nebezpečný odpad. Každá kyveta obsahuje čárový kód, který fotometr automaticky rozpozná a automaticky nastaví spektrum, prosvítí, přepočítá a zobrazí již výslednou hodnotu O₂, vše se děje plně automaticky. Dá se pořídit celá škála testů na všechny možné ukazatele kvality vod, čímž se fotometr více vytíží, a pokud je potřeba stanovovat škálu parametrů může to být dobrý způsob. Navíc jsou jednotlivé testy barevně rozlišené, takže by nemělo dojít k jejich záměně (Hach, 2017).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následující kapitole popisují náročnost jednotlivých metod z hlediska času, práce, financí a srovnatelnosti výsledků.

5.1 Opakovatelnost měření, vyhodnocení dat

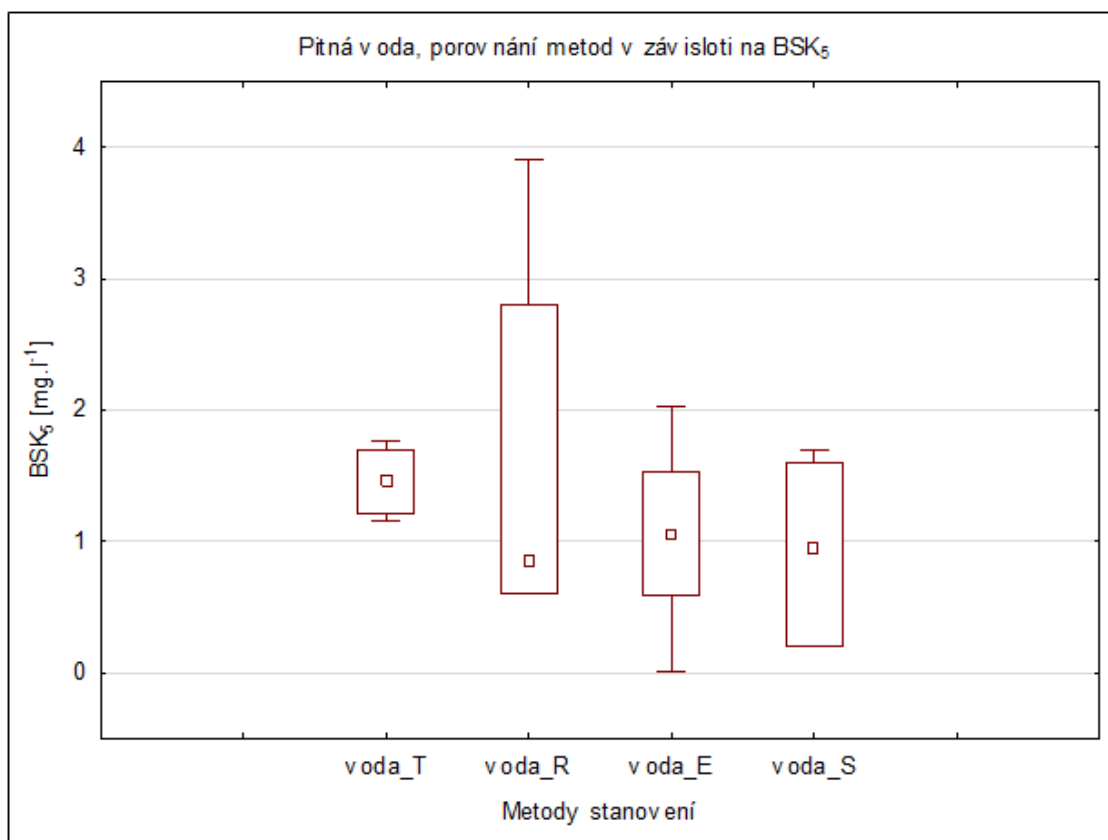
Zde jsou pospány jednotlivé výsledky a provedena statistická analýza s komentářem, jakou má daná metoda přesnost a vypovídatelnost měření na daných maticích.

5.1.1 Vyčlenění výsledků matrice standardní roztok

Standardní roztok glukózy (definován výše) není součástí výsledků, jelikož se nepodařilo dosáhnout požadované spotřeby O₂ ve standardním roztoku, jak vyžaduje norma. Vždy byl výsledek příliš nízký a nedošlo tak ke spotřebování látek mikroorganismy. Domnívám se, že to bylo způsobeno dlouhou lag fází (adaptační fáze), kdy si mikroorganismy zvykaly na změnu prostředí a k nastartování začalo docházet až kolem čtvrtého dne inkubace. Řešením by mohlo být očkovat mikroorganismy ze standardního roztoku, který by byl v laboratoři uchovávan zvláště a ve kterém by se organizmy kultivovaly, místo aby se očkovalo odpadní vodou, čímž by mohlo dojít ke snížení doby lag fáze, protože by již byly organizmy přizpůsobeny dané matici a živinám v ní. K tomuto testu jsem se však už během práce z časových důvodů nedostal a výsledky na matici standardní roztok dále neuvádím v měření, protože nesplnily podmínky normy.

5.1.2 Pitná voda

Z výsledných dat u stanovení BSK₅ pitné vody Obr. 7 vyplývá, že nejmenší variabilita dat byla zjištěna u titrační metody stanovení. Mezi všemi porovnávanými metodami nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, Tab. 3. Lze konstatovat, že respirometrická metoda je pro tuto, matrici nejméně vhodná, důvodem jsou zřejmě malé změny BSK₅, které tlakové čidlo není schopno detekovat a chyba měření, dána měřením na hranici možností měřicího přístroje, je vyšší. Metody elektrochemická a spektrofotometrická poskytují výsledky v dosti podobném rozmezí.



Obr. 7 Krabicový graf pitné vody

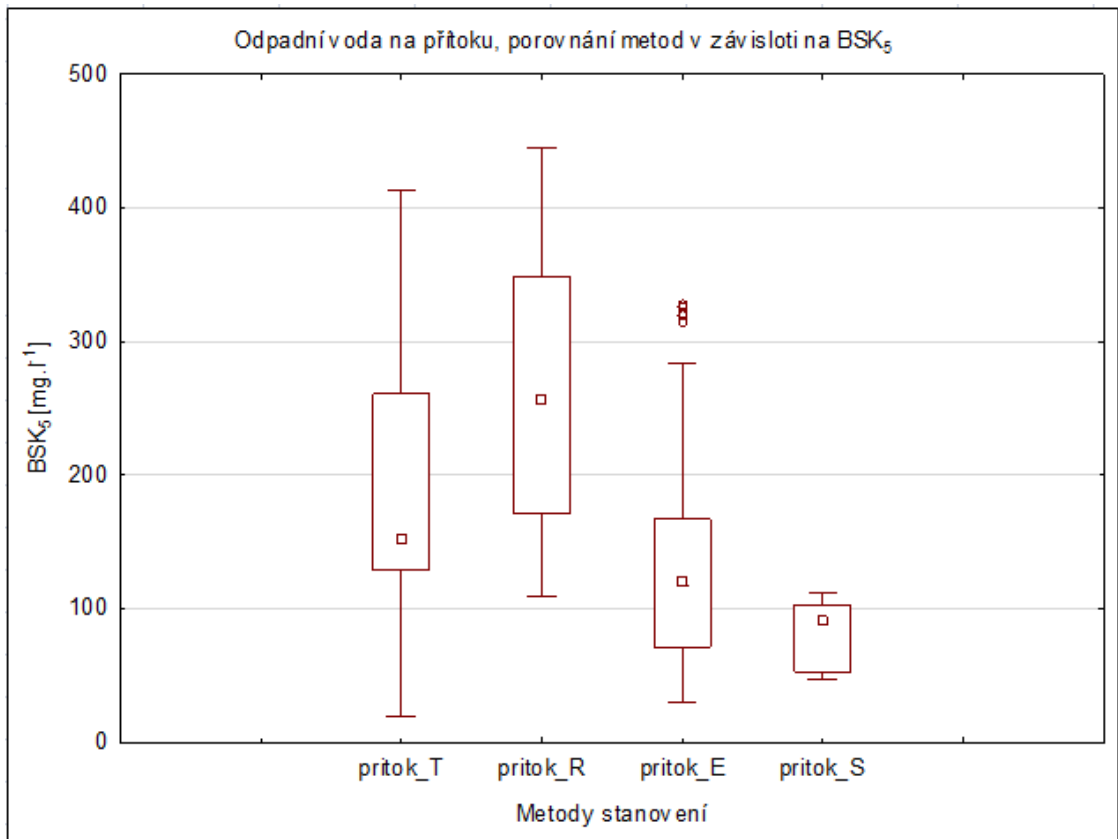
Jelikož se nejednalo o normální rozdělení dat, použil jsem Kruskal – Wallisův test.

Tab. 3 Kruskal – Wallisův test pitné vody

| KRUSKAL – WALLISŮV TEST | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Pritok_T | Pritok_R | Pritok_E | Pritok_S |
| Pritok_T | | 1,000000 | 1,000000 | 0,977460 |
| Pritok_R | 1,000000 | | 1,000000 | 1,000000 |
| Pritok_E | 1,000000 | 1,000000 | | 1,000000 |
| Pritok_S | 0,977460 | 1,000000 | 1,000000 | |

5.1.3 Odpadní voda na přítoku

Krabicový graf Obr. 8 u odpadní vody ukazuje relativně symetrické rozdělení dat u metody respirometrické, medián leží uprostřed vykresleného obdélníku. U metody elektrochemické jsou odlehle hodnoty, nejsou rovnoměrně rozloženy, jelikož minimální a maximální hodnoty mají různou vzdálenost od mediánu. Metoda spektrofotometrická je naopak hodnotami velmi nízko, což je nejspíš způsobeno nižším počtem měření než u ostatních metod, to bylo dáno cenou kyvetových testů. Významný rozdíl Tab. 4 byl zjištěn u metody respirometrické v porovnání s metodami elektrochemickou a spektrofotometrickou.



Obr. 8 Krabicový graf odpadní vody

Jelikož se nejednalo o normální rozdělení dat, použil jsem Kruskal – Wallisův test.

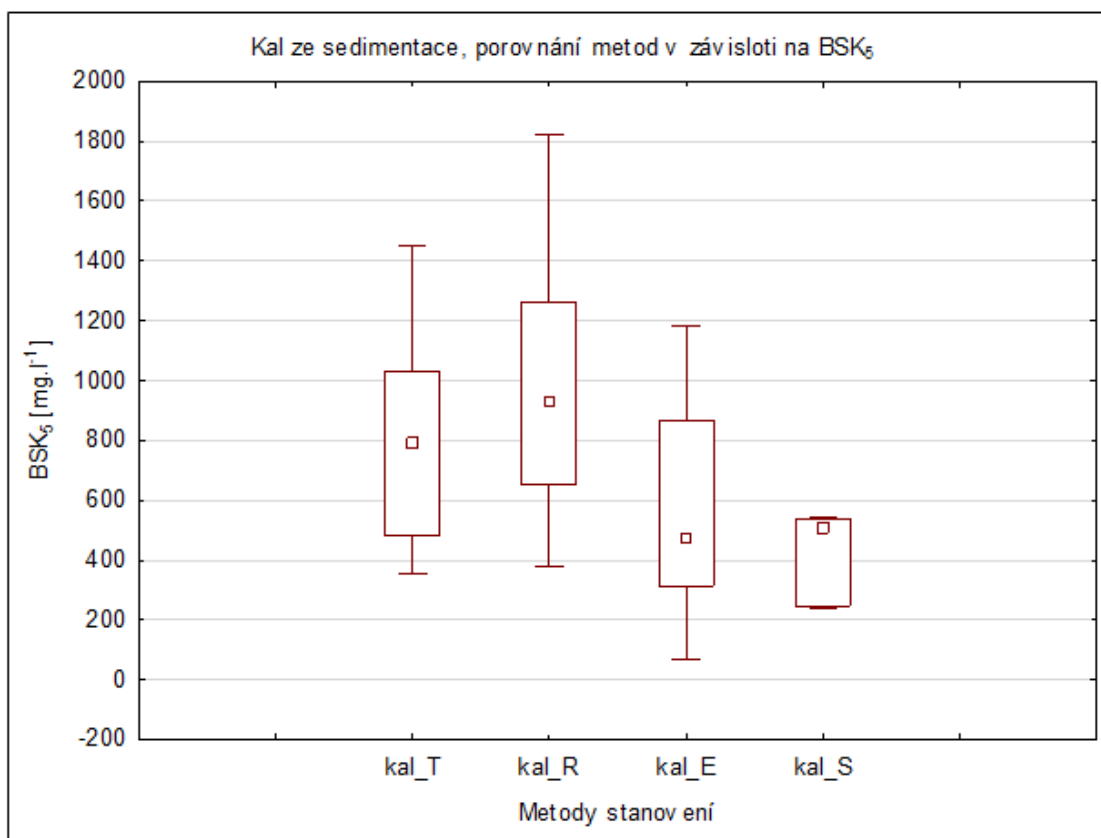
Tab. 4 Kruskal – Wallisův test odpadní vody

| KRUSKAL – WALLISŮV TEST | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Přítok_T | Přítok_R | Přítok_E | Přítok_S |
| Přítok_T | | 0,434864 | 0,971345 | 0,059452 |
| Přítok_R | 0,434864 | | 0,000001* | 0,000006* |
| Přítok_E | 0,971345 | 0,000001* | | 0,355685 |
| Přítok_S | 0,059452 | 0,000006* | 0,355685 | |

*statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha=0,05$

5.1.4 Kal z aktivace

Nejširší rozmezí měření kalu má metoda respirometrická Obr. 9, což považuji za výhodu této metody, jelikož hodnota BSK₅ kalu se v průběhu času mění, to způsobují různé vlivy působící také na odpadní vodu (jak již vysvětluji výše). Například: déšť, sucho, vyvezení jímek na ČOV, různé období sezóny atd. Někdy se tak hodnoty kalu blíží spíše odpadní vodě, jindy je kal velmi zatížen biologicky rozložitelnými organickými látkami. Titrační metoda se dá také považovat za vypovídající u této matrice, nicméně je omezena horní hodnotou zatížení biologicky rozložitelných organických látek, jelikož dochází k výraznému úbytku O₂ v inkubovaném Winklerově skle a pokud je úbytek vyšší než uvádí norma, tak je výsledek ovlivněn výraznou chybou. Do určité míry to lze ovlivnit prvotním provzdušněním, ale oproti respirometrické metodě má metoda titrační strop výrazně níže, což je dáno technickými podmínkami. Elektrochemická metoda je na tom obdobně, navíc je horní hranice snížena ještě o vlastnost elektrody spotřebovávat kyslík pro samotné stanovení, proto si myslím, že je tato metoda spíše vhodná pro středně zatížené vody. U spektrofotometrické metody jsou výsledky pouze v nižším rozmezí BSK₅, což je způsobeno, jak se domnívám, zakalením vody, které ovlivňuje stanovení, právě biologicky rozložitelnými látkami. Tato metoda tudíž není příliš vhodná pro vysoce zatížené vody, jako je matrice kal z aktivační nádrže ČOV.



Obr. 9 Krabicový graf kalu z aktivační nádrže ČOV

Tab. 5 Kruskal – Wallisův test kalu z ČOV

| KRUSKAL – WALLISŮV TEST | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Pritok_T | Pritok_R | Pritok_E | Pritok_S |
| Pritok_T | | 0,670056 | 1,000000 | 0,290076 |
| Pritok_R | 0,670056 | | 0,000009* | 0,000506* |
| Pritok_E | 1,000000 | 0,000009* | | 1,000000 |
| Pritok_S | 0,290076 | 0,000506* | 1,000000 | |

*statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha=0,05$

Hlavním tématem práce nebylo jen porovnávat jednotlivé metody na výše popsaných maticích, protože pro to by bylo nejlepší odebrat větší množství vzorků na počátku, zamrazit je a měřit vše na stejných, minimálně ovlivněných vzorcích, jak jsem popsal v teoretické části práce, ale zabývat se i dalšími vlastnostmi jednotlivých metod. Já jsem se rozhodl, po diskuzi s vedoucím, pro opakované

odebírání vzorků v průběhu roku, čímž se matrice kal a odpadní voda měnily a to mělo jistě vliv na výsledná data, která nelze za těchto podmínek považovat za plně statisticky vypovídající a nesoucí nějakou obecně platnou informaci. Nicméně poskytují přibližný obrázek o jednotlivých matricích a schopnosti jednotlivých metod s nimi pracovat. Závěrem této kapitoly se pak dá konstatovat, že metody neměří stejně a jsou mezi nimi na různých matricích mírné rozdíly. Hypotézu práce se tak povedlo ověřit a předpoklad, že metody nemají stejnou vypovídající hodnotu, což pramení z technické rozdílnosti jednotlivých stanovení, se povedlo potvrdit, tudíž obecně uznávaný předpoklad, že nezáleží na tom, jakou metodu použijete pro stanovení BSK₅, se povedlo alespoň částečně otevřít pro další práce tohoto typu. Nicméně práce se zaměřuje, kromě opakovatelnosti a vypovídatelnosti výsledků, také na hodnocení metod z více hledisek, technických úskalí, finanční a časové náročnosti.

5.2 Finanční a časová náročnost

U všech metod nebyl uvažován nákup termostatu, základní vybavení laboratoře (příloha č. 2) a přístup k destilované vodě, toto vybavení není zahrnuto v následujících cenách. Ve výsledcích se počítá s tím, že každá chemická laboratoř toto vybavení má, navíc je to vybavení, které je potřeba u všech metod a nedělá tak rozdíl v ceně jednotlivých metod. Termostat je nutný k uchovávání vzorků po dobu pěti dní. Destilovaná voda je třeba k umývání skla a u metod, kde se ředí, k ředění vzorků. Základní laboratorní vybavení jako sklo, stříčky, stoly, skříně, předvážky, analytické váhy apod. je potřeba pro komfort práce obsluhy v laboratoři. Pro převod cen byl v době psaní práce kurz 1 € za 27 Kč. Cena měření je počítána na stanovení tří matric.

5.2.1 Finanční prostředky na pořízení jednotlivých metod

Volumetrická metoda vyžaduje nákup chemikálií všeho druhu pro pravidelné stanovení, pro standardizaci či přípravu roztoků. Celková suma za nákup potřebných chemikálií byl v době psaní práce 265,5 €. Dále je potřeba pořídit byretu za 17,1 € a titrační baňky, kterých je potřeba 6 (tři na standardizaci a tři na jedno stanovení) 13,06 € za kus, celkem tedy 78,36 €. Uchovávání vzorků se provádí pomocí laboratorního skla přístroj Winkler, cena se pohybuje kolem 17,6 €. Na 3 měření je potřeba 6 lahví. Celkem to je 105,6 €. Výsledné náklady na tuto metodu jsou tedy 466,56 €. Při tomto nákupu chemikálií, vydrží na velmi dlouho, jelikož je jejich obvykle potřeba v řádu miligramů až gramů a pořizují se v balení 250 g až 1 000 g, záleží na druhu látky (P-LAB 2016).

U metody respirometrické je potřeba pořídit sadu OxiTop® s 6 lahvemi, míchací plošinou, měřicím přístrojem a softwarem. Ta celkem vyjde za OxiTop® Control S6 (6×510 ml lahve) na 4 965,1 €. Z chemikálií se pak používá NaOH, který stojí kolem 4,8 € a jeho spotřeba je malá, pár peciček na jedno stanovení, takže kilové balení vydrží na několik stanovení (P-LAB 2016; VWR 2016).

Cena pořízení vybavení k elektrochemické metodě stanovení BSK₅. Cena laboratorního skla přístroj Winkler se pohybuje kolem 17,6 €. Na 3 měření je potřeba 6 lahví. Celkem to je 105,6 €. Měřicí přístroj Multi 3320 stojí 1 246,2 €, měřicí sonda CellOx® 325 s kalibrační nádobou 775,5 €. Další položkou jsou chemikálie na přípravu ředícího roztoku, při nákupu jejich cena vyjde 53,8 €. Celkem to je 2 181,1 € (P-LAB, 2016; WTW, 2016).

Spektrofotometrické stanovení, neboli stanovení pomocí kyvet, vyžaduje nákup spektrofotometru, který umí číst čárový kód. Já jsem používal přístroj DR 2800, který se již nevyrábí, nejbližší jeho obdobou je DR 1900 přenosný spektrofotometr, od firmy Hach, jehož cena je 3 324,7 €. Pak je potřeba koupit kyvetové testy na BSK₅. Používal jsem v laboratoři kyvetový test LCK554, jehož škála je 0,5–12,0 mg·l⁻¹ O₂, cena testu je 115,9 € za 20 kyvet. Celkem to tedy činí 3 440,6 € (Hach, 2017; VWR 2017).

5.2.2 Náročnost na práci a čas

U titrační metody ředění zabralo asi 30 minut, na přípravu ředící vody, rozředění vzorků dle daného ředění. Standardizace se dá stihnout za 30 minut, stanovení tří matric pak za 135 minut. K tomu je nutné připočítat přípravu chemikálií přibližně 60 minut, ty se však nepřipravují pokaždé, ale při opakovaných měřeních se dají připravit ve větším množství a používat na více stanovení, čímž se časový náklad rozmělní do více měření. Pro celé stanovení start i konec je to pak 360 minut bez přípravy chemikálií.

Při měření jsem zjistil, že nejméně náročná na obsluhu je metoda respirometrická, jelikož není nutné vzorek ředit a po odběru stačí jen rozlít odměřené množství do lahví. Měření pak probíhá automaticky, po pěti dnech jsou pouze odečtena data přístrojem z hlavic a převedena do počítače, navíc nemusí odečet probíhat přesně pátý den, ale klidně i později, což je výhoda, kterou jiná metoda nemá. Celkově tak časová náročnost byla 30 minut na přípravu a odstartování měření tří matric, plus 30 minut na ukončení, umytí a převedení dat z měření, celkem tedy 60 minut.

U elektrochemické metody je práce časově náročnější. Je potřeba připravit ředící vodu, následně naředit vzorky a rozlít do lahví. Provést měření ponořením elektrody do vzorků a zapsáním hodnoty z přístroje, totéž po pěti dnech. Čas potřebný u tří souběžných měření byl asi 45 minut, příprava ředící vody následně 45 minut, rozlítí do nádob tak, aby v ní nezůstaly vzduchové bubliny a proměření. To samé (45 minut) proměření s vymytím lahví po pěti dnech. Celkem tedy 135 minut.

U kyvetového testu na spektrofotometru trvá proměření tří kyvet na jednu matici 20 minut i s přípravou Winklerovy nádoby na inkubaci, u tří měření je to pak 60 minut, po pěti dnech zabere proměření přibližně 45 minut, celkem tedy 105 minut.

6 ZÁVĚR

Práce se zabývá problematikou ukazatele kvality vod, biologické spotřeby kyslíku za pět dní, především pak porovnáním metod jeho stanovení mezi sebou. V úvodní části práce jsou vymezeny základní pojmy, popsána problematika ukazatele biologické spotřeby kyslíku a dalších ukazatelů organického znečištění vod, definovány matrice, se kterými bylo plánováno pracovat, a vymezeny jednotlivé analytické metody stanovení.

Stěžejní část práce je věnována zkušenostem získaným při jednotlivých měření, jejich zhodnocení z hlediska dopadů na kvalitu práce a ovlivnění výsledků měření, zhodnocení metod z hlediska náročnosti postupu. Dále pak náročnost jednotlivých metod z hlediska času práce, financí a srovnatelnosti výsledků, jsou popsány jednotlivé výsledky a provedena statistická analýza s komentářem.

Cílem práce bylo porovnat metody volumetrickou, respirometrickou, elektrochemickou a spektrofotometrickou. Z výsledků se dá konstatovat, že metody neměří stejně a jsou mezi nimi na různých maticích mírné rozdíly. Hypotézu této práce se tak povedlo ověřit a předpoklad, že metody nemají stejnou vypovídající hodnotu, což pramení z technické rozdílnosti jednotlivých stanovení, se povedlo potvrdit. Tedy obecně uznávaný předpoklad, že nezáleží druhu použité metody pro stanovení biologické spotřeby kyslíku za pět dní, se povedlo alespoň částečně otevřít pro další práce tohoto typu. Nicméně nebylo jediným cílem práce zjistit, zda jsou výsledky opakovatelné a vypovídající, ale dále se práce také zabývá hodnocením metod z hlediska technického, tedy jaká úskalí metoda obsahuje, finančních nákladů, na pořízení a provoz, a časové náročnosti. Časová náročnost ovlivňuje jednak požadavek na kvalifikaci obsluhy, zda je potřeba u dané metody vyšší kvalifikace a schopnost práce v laboratoři, jak je práce náročná a délka provedení jedné série měření, z čehož plyne cena obsluhy.

V rámci porovnání z hlediska cen u všech metod nebyl uvažován nákup termostatu a základního vybavení laboratoře (popsáno výše). Počítá se s tím, že každá chemická laboratoř toto vybavení má a je potřeba u všech metod, nedělá tak rozdíl v ceně jednotlivých metod. Pro převod cen byl v době psaní práce kurz 1 € za 27 Kč. Cena měření je počítána na celé stanovení (začátek i konec) tří matic (vzorků).

Volumetrická metoda vyžaduje nákup chemikálií pro pravidelné stanovení, pro standardizaci a přípravu roztoků. Dále je potřeba pořídit byretu, titrační baňky a sklo Winkler na uchovávání vzorků. Výsledné náklady na tuto metodu činí 466,56 €. Jedná se o metodu nejlevnější, ale zároveň časově nejnáročnější. Je zde potřeba odborné práce laboranta, práce se dá dnes již částečně zrychlit automatickými byretami, které ale v práci nebyly použity. Celé stanovení, start i konec, zabralo asi 360 minut bez přípravy chemikálií. Vůči nejrychlejší metodě je časově šestkrát náročnější. Nicméně je velmi přesná, ze všech metod byla nejvhodnější pro pitnou vodu. Obecně se pak dá říci, že nejpřesnější výsledky metoda dává u méně zatížených vod, u matrice kalu vznikaly problémy s vysokou spotřebou kyslíku v inkubovaných lahvích a stávalo se že pak rozdíl byl na horní hranici, jež stanoví norma, nicméně se metoda dá použít i zde. Úskalím je pak možnost vnesení chyby v průběhu celého postupu, je tak potřeba pečlivé analytické práce.

Metoda respirometrická je naopak metodou nejdražší, vyjde na 4 969,9 €. Nicméně se jedná o plně automatickou na obsluhu nenáročnou metodu. Celková časová náročnost byla 60 minut. Vše probíhá automaticky a jako jediná metoda umožňuje odečíst vzorky i po uběhnutí doby inkubace, což umožňuje elektronické číslo s pamětí, obsluha tak nemusí být v laboratoři v termínu odečtu. Úskalím metody je předběžná znalost rozmezí, v kterém se BSK₅ bude pohybovat. Předpokládá se tedy určitá znalost měřené matrice. Několikrát se mi stalo, že při odběru vzorků po dešti byla odpadní voda více naředěna a výsledek byl na hranici měřeného rozmezí a nedal se použít, bylo potřeba nastavit nižší škálu měření. Dalším možným úskalím je vzduchotěsné utažení hlavic tak, aby nedošlo k přísávání vzduchu z okolí. Metoda je jinak vhodná pro měření všech druhů vod, vyjma pitné, při tak nízkém zatížení se metoda pohybuje na hranici svých možností a výsledky jsou zaneseny vysokou chybou.

Cena pořízení vybavení k elektrochemické metodě je 2 181,1 €. Je tedy více jak o polovinu levnější než předešlá metoda. Práce je o něco časově náročnější než u respirometrické, celkem 135 minut. Základem metody je měřicí elektrochemický článek, který ji umožňuje aplikovat pro rychlé stanovení množství kyslíku ve vzorku. Jejím výhodou je možnost zapojení do proudu protékajícího vzorku odpadní vody, kde je tak možné měřit množství kyslíku. Problémem je pravidelná kalibrace a s časem dochází k degradaci polopropustné membrány, díky čemuž se do měření zanáší chyba. Nevýhodou je také spotřeba kyslíku přímo na elektrodě, což u inkubace vysoce zatížených vod dělá problém, jelikož v samotném vzorku po inkubaci většinou již moc

kyslíku nezbývá, výsledky na měřicím přístroji pak mají výraznou variabilitu. Z tohoto důvodu není metoda vhodná pro měření vysoce zatížených vod, dokonce je méně vhodná než metoda volumetrická.

Spektrofotometrické stanovení, neboli stanovení pomocí kyvet, vyžaduje nákup spektrofotometru DR 1900 a následně pak kyvetových testů LCK554. Celkem to tedy činí 3 440,6 €. Čas potřebný ke stanovení je v porovnání s ostatními metodami příznivý, potřebná práce trvá cca 105 minut. Práce s kyvetami je snadná, návody jsou intuitivní a chemikálie jsou již nadávkovány v kyvetách, pro obsluhu je práce nenáročná. Nevýhodou je cena kyvet, které z ceny činí 115,9 €. Metoda je tak spíše vhodná pro nárazová, nepravidelná měření, při pravidelných měřeních více vzorků se vyplatí pořídit jinou z metod, i dražší, jelikož cena se vrátí s počtem měření.

Výsledkem práce je soubor informací o zmíněných metodách, jenž poskytne základní přehled o metodách a umožní čtenáři se lépe rozhodnout, pokud by vybíral metodu měření biologické spotřeby kyslíku tak, aby co nejvíce vyhovovala jeho požadavkům na zatíženost vod, které bude měřit, četnost měření, která bude třeba provádět, požadavek na obsluhu a v neposlední řadě na cenu.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

BINNER, Erwin et al. Large scale study on measurement of respiration activity (AT4) by Sapromat and OxiTop. *Waste Management* [online]. 2012, 32(October), Pages 1752–1759 [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: <http://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.05.024>

BSK5 kyvetový test 0,5–12,0 mg/L O₂. *Hach: Tam, kde voda a kvalita splývají.* [online]. U.S.: Hach, 2017 [cit. 2017-04-03]. Dostupné z: <https://cz.hach.com/bsk-sub-5-sub-kyvetovy-test-0-5-12-0-mg-l-o-sub-2-sub/product?id=25651592786>

Conventional sensors. *WTW: a xylem brand* [online]. Germany: Xylem Inc., 2016 [cit. 2016-09-15]. Dostupné z: <http://www.wtw.com/en/products/product-categories/sensor-technology/conventional-sensors-lab.html>

Cuvette Test LCK 554: BOD₅. *AE 554 F / Druckfarbe burgund* [online]. HachLange, 2016, 6 [cit. 2017-04-07]. Dostupné z: http://www.prosess-styring.no/nedlasting/prosman/dr6000/English-International/PDF_EN/AE_554_F_Druckf_burgund.pdf

ČSN EN ISO 5814 *Kvalita vod - Stanovení rozpuštěného kyslíku - Elektrochemická metoda s membránovou sondou*. 1. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2013.

ČSN EN 25813. *Jakost vod, Stanovení rozpuštěného kyslíku: Jodometrická metoda*. 1. Praha: Český normalizační institut, 1995.

ČSN EN 1899-1 *Water Quality - Determination of biochemical oxygen demand after n days (BOD_n) - Part 1: Dilution and seeding method with allylthiourea addition*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 1999.

DR 1900 Portable Spectrophotometer, Hach. VWR [online]. U.S.: VWR International, 2017 [cit. 2017-04-03]. Dostupné z: <https://us.vwr.com/store/product/13552859/dr-1900-portable-spectrophotometer-hach>

Hydrochemie: Organické látky. *Mendelova univerzita v Brně* [online]. Brno: Připraveno v rámci projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF Mendelu, 2016 [cit. 2017-03-22]. Dostupné z:

http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=3183&typ=html

JOUANNEAU, S et al. Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review. *Water Research* [online]. 2014, 49(1), Pages 62–82 [cit. 2017-04-24]. Dostupné z: <http://doi.org/10.1016/j.watres.2013.10.066>

Katalog. *P-LAB: potřeby pro laboratoř* [online]. Praha: P-LAB, 2016 [cit. 2016-09-15]. Dostupné z: <http://www.p-lab.cz/katalog/>

MALÝ, Josef a Jitka MALÁ. *Chemie a technologie vody*. 2., dopl. vyd. Brno: ARDEC, c2006. ISBN 80-860-2050-9.

Measurement of biodegradability, OxiTop® control A6/A12 and OxiTop® control S6/S12. *VWR international: chemikálie a laboratorní vědecké produkty* [online]. Czech Republic: VWR, 2016 [cit. 2016-09-15]. Dostupné z: <https://cz.vwr.com/store/product/581422/measurement-of-biodegradability-oxitop-control-a6-a12-and-oxitop-control-s6-s12>

Nařízení vlády č. 57/2016 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění odpadních vod a náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod podzemních. In: 2016, Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-57>

Nařízení vlády č. 401/2015 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. In: 2015, Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401>

PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 5. aktualizované a doplněné vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2015. ISBN 978-80-7080-928-0.

SLEVOGT, Dr. Karl. OperatingManual WTW, SystemOxiTop® Control: OxiTop® OC110 Controller. 1. Germany, 2006.

SOJKA, Jan. *Čistírny odpadních vod pro rodinné domy*. Praha: GradaPublishing, 2013. ISBN 978-80-247-4504-6.

Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. In: 2004, Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252>

Zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon)In: 2001, Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-254>

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obr. 1 Stůl pro jodometrické stanovení (Šváb, 2016) | 27 |
| Obr. 2 OxiTop® sada 6 lahví s měřicím přístrojem (Šváb, 2016)..... | 29 |
| Obr. 3 Pohled zesponu na snímací hlavici a v ní zabudovanou membránu citlivou na tlak (Šváb, 2016). | 30 |
| Obr. 4 Měřicí přístroj Multi 3320 a senzor Cellox® 325 v kalibrační nádobě OxiCal® SL (Šváb, 2016) | 31 |
| Obr. 5 Kvetový test LCK 554 (Hach, 2017)..... | 32 |
| Obr. 6 Postup kvetového stanovení (Hach, 2017) | 34 |
| Obr. 7 Krabicový graf pitné vody | 36 |
| Obr. 8 Krabicový graf odpadní vody | 38 |
| Obr. 9 Krabicový graf kalu z aktivační nádrže ČOV | 40 |
| Obr. 10 Kal z ČOV Modřice (Šváb, 2016) | 54 |
| Obr. 11 Odpadní voda na přítoku (Šváb, 2016)..... | 54 |
| Obr. 12 Odběr odpadní vody (Šváb, 2016)..... | 55 |
| Obr. 13 Odpadní voda (Šváb, 2016) | 55 |
| Obr. 14 Laboratoř (Šváb, 2016)..... | 56 |
| Obr. 15 Laboratorní sklo (Šváb, 2016) | 56 |
| Obr. 16 Termostat (Šváb, 2016) | 57 |
| Obr. 17 Inkubace hlavic a vzorků (Šváb, 2016) | 57 |
| Obr. 18 Čistý vzorek odpadní vody (Šváb, 2016) | 58 |
| Obr. 19 Vzorek po aplikaci chemikálií (Šváb, 2016) | 58 |
| Obr. 20 Vzorek po zamíchání (Šváb, 2016) | 59 |
| Obr. 21 Vzorek sedimentuje (Šváb, 2016) | 59 |
| Obr. 22 Vzorek sedimentoval do 1/3 objemu (Šváb, 2016) | 59 |
| Obr. 23 Vzorek zamíchán (Šváb, 2016) | 60 |
| Obr. 24 Vzorek po přidání kyseliny (Šváb, 2016)..... | 60 |
| Obr. 25 Titrační baňka (Šváb, 2016) | 61 |
| Obr. 26 Barevná změna při titraci (Šváb, 2016)..... | 61 |
| Obr. 27 Odbarvení, bod ekvivalence (Šváb, 2016)..... | 62 |
| Obr. 28 Škrobový maz, indikátor (Šváb, 2016)..... | 62 |
| Obr. 29 Mikropipeta (Šváb, 2016)..... | 63 |

| | |
|--|----|
| Obr. 30 Ředění vzorků (Šváb, 2016) | 63 |
| Obr. 31 Balení kyvet pro stanovení BSK ₅ (Šváb, 2016) | 64 |
| Obr. 32 Balení kyvet s přichystanou chemií (Šváb, 2016) | 64 |
| Obr. 33 Kyvety po měření (Šváb, 2016)..... | 65 |
| Obr. 34 Spektrofotometr DR 2800 (Šváb, 2016)..... | 65 |

9 SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| Tab. 1 Emisní standardy odpadní vody vypouštěné z komunálních čistíren odpadních vod (Nařízení vlády č. 401, 2015, upraveno Šváb, 2017) | 23 |
| Tab. 2 Emisní standardy, přípustná minimální účinnost čištění vypouštěných odpadních vod (minimální procento úbytku) v procentech (Nařízení vlády č. 401, 2015, upraveno Šváb, 2017). | 24 |
| Tab. 3 Kruskal – Wallisův test pitné vody..... | 37 |
| Tab. 4 Kruskal – Wallisův test odpadní vody..... | 38 |
| Tab. 5 Kruskal – Wallisův test kalu z ČOV | 40 |

10 SEZNAM ZKRATEK

| | |
|--------------------|--|
| BSK | – biologická spotřeba kyslíku |
| BSK ₅ | – biologická spotřeba kyslíku za 5 dní |
| Obr. | – obrázek |
| CO ₂ | – oxid uhličitý |
| ČOV | – čistírna odpadních vod |
| ČR | – Česká republika |
| ČSN | – česká státní norma |
| CHSK | – chemická spotřeba kyslíku |
| CHSK _{Mn} | – chemická spotřeba kyslíku za použití oxidující látky manganistanu draselného |
| CHSK _{Cr} | – chemická spotřeba kyslíku za použití oxidující látky dichromanu draselného |
| O ₂ | – kyslík |
| Sb. | – sbírka |
| Tab. | – tabulka |
| TOC | – koncentrace celkového organického uhlíku |
| TSK | – teoretická spotřeba kyslíku |

11 PŘÍLOHY

12 SEZNAM PŘÍLOH

| | |
|--------------------|----|
| Příloha č. 1 | 54 |
| Příloha č. 2 | 56 |
| Příloha č. 3 | 57 |
| Příloha č. 4 | 58 |
| Příloha č. 5 | 61 |
| Příloha č. 6 | 64 |

Odběry vzorků



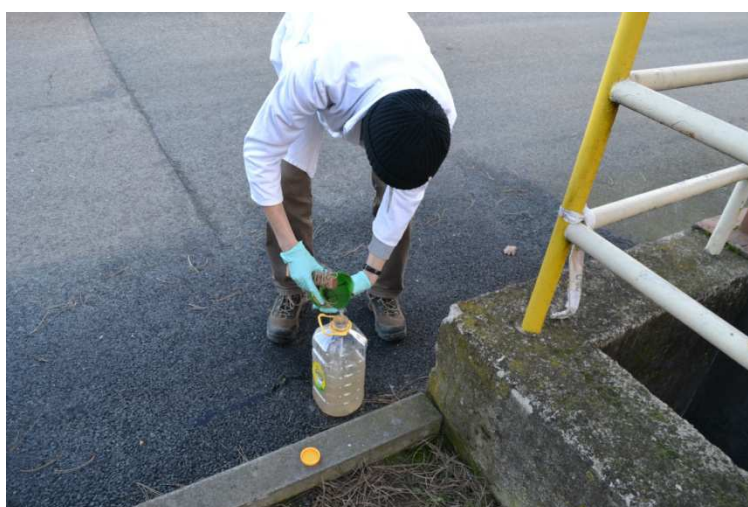
Obr. 10 Kal z ČOV Modřice (Šváb, 2016)



Obr. 11 Odpadní voda na přítoku (Šváb, 2016)



Obr. 12 Odběr odpadní vody (Šváb, 2016)



Obr. 13 Odpadní voda (Šváb, 2016)

Vybavení laboratoří



Obr. 14 Laboratoř (Šváb, 2016)

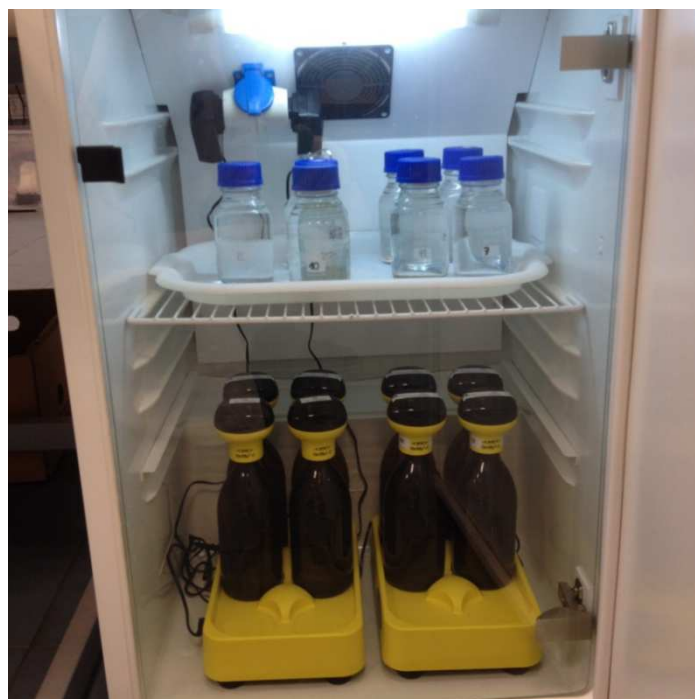


Obr. 15 Laboratorní sklo (Šváb, 2016)

Resporometrická metoda

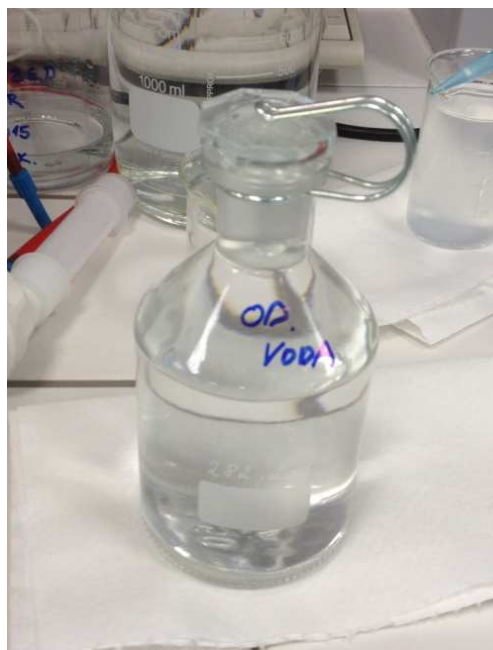


Obr. 16 Termostat (Šváb, 2016)

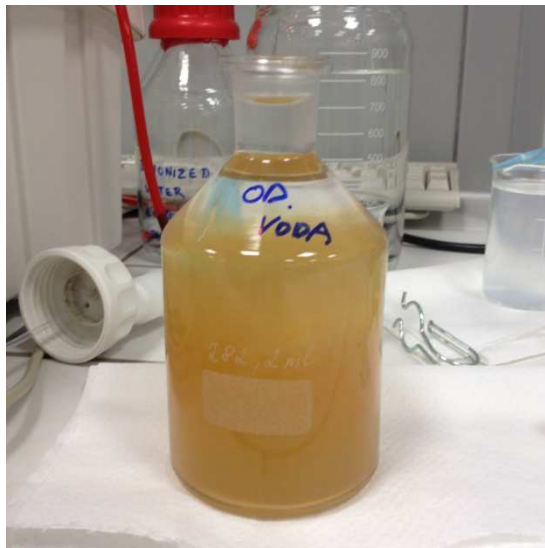


Obr. 17 Inkubace hlavic a vzorků (Šváb, 2016)

Volumetrická metoda



Obr. 18 Čistý vzorek odpadní vody (Šváb, 2016)



Obr. 19 Vzorek po aplikaci chemikálií (Šváb, 2016)



Obr. 20 Vzorek po zamíchání (Šváb, 2016)



Obr. 21 Vzorek sedimentuje (Šváb, 2016)



Obr. 22 Vzorek sedimentoval do 1/3 objemu (Šváb, 2016)

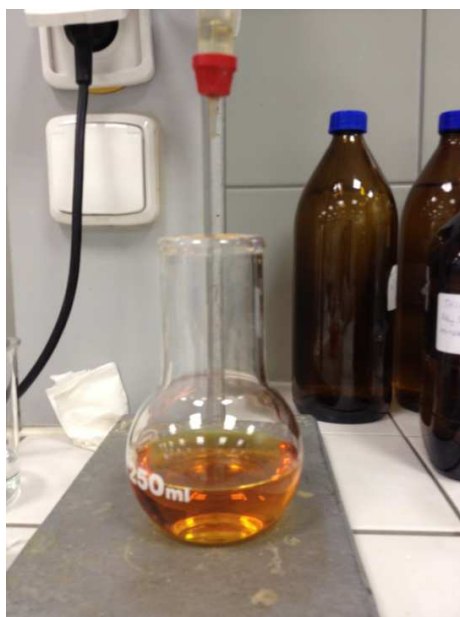


Obr. 23 Vzorek zamíchán (Šváb, 2016)

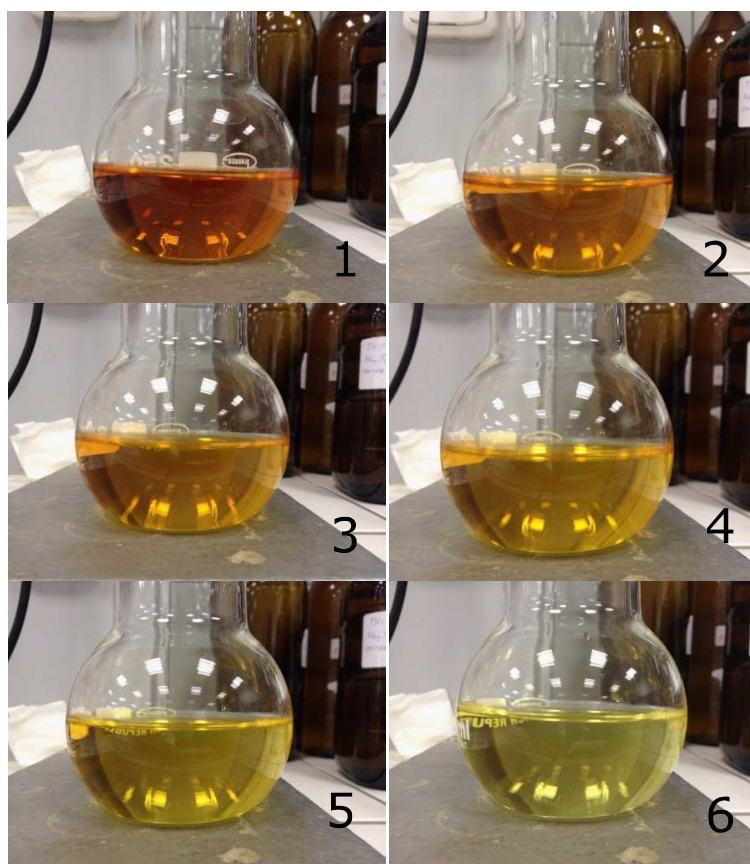


Obr. 24 Vzorek po přidání kyseliny (Šváb, 2016)

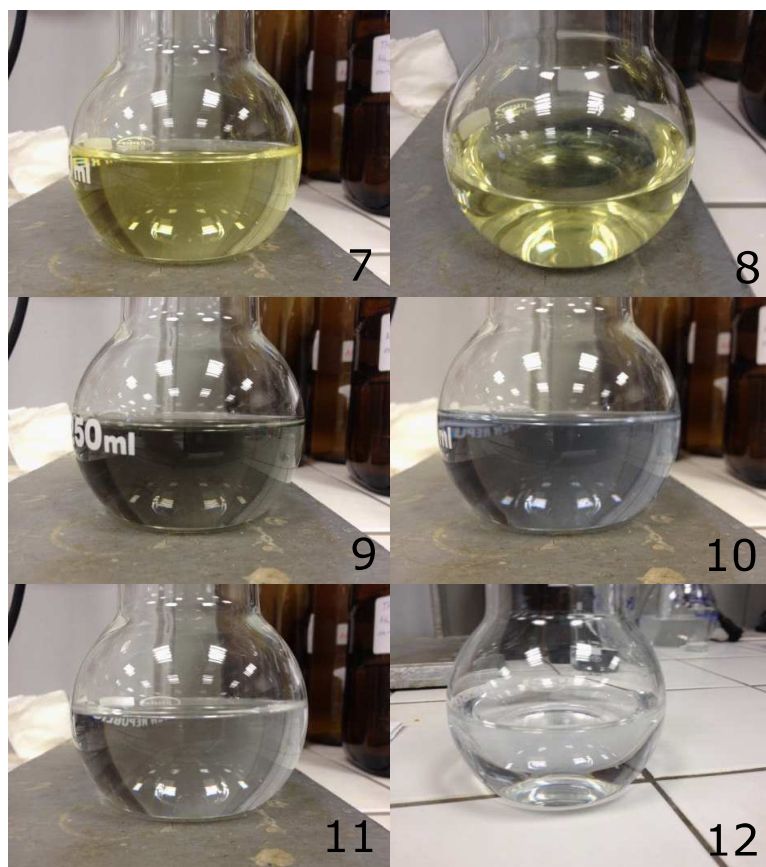
Průběh titrace



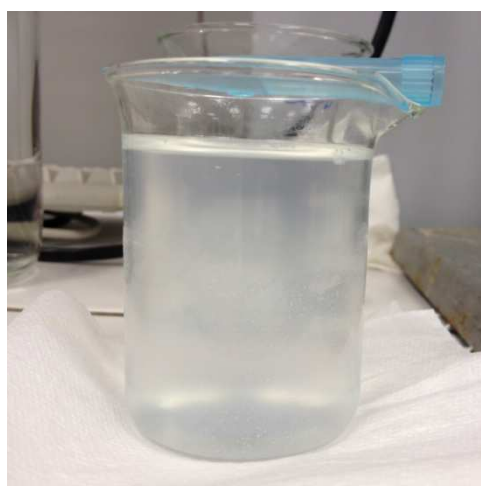
Obr. 25 Titrační baňka (Šváb, 2016)



Obr. 26 Barevná změna při titraci (Šváb, 2016)



Obr. 27 Odbarvení, bod ekvivalence (Šváb, 2016)



Obr. 28 Škrobový maz, indikátor (Šváb, 2016)

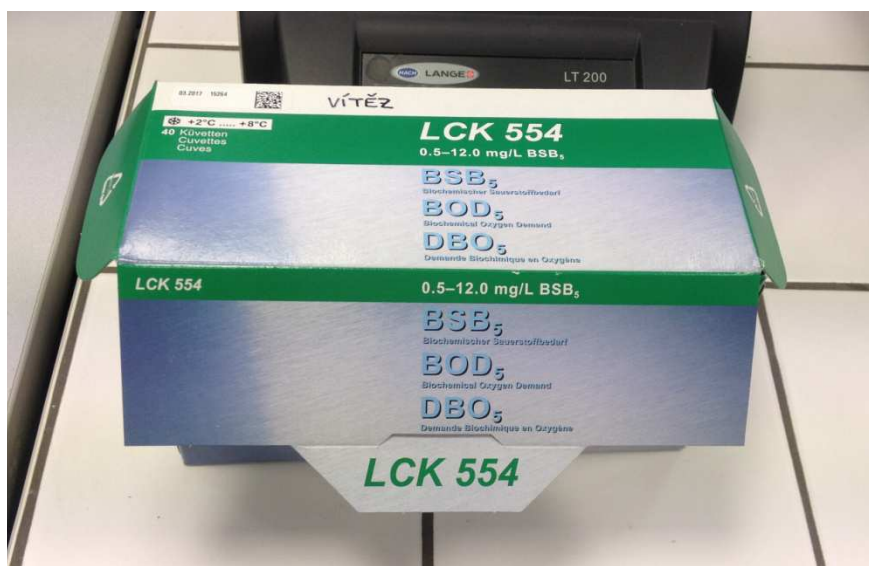


Obr. 29 Mikropipeta (Šváb, 2016)



Obr. 30 Ředění vzorků (Šváb, 2016)

Kyvetové testy



Obr. 31 Balení kyvet pro stanovení BSK₅ (Šváb, 2016)



Obr. 32 Balení kyvet s přichystanou chemií (Šváb, 2016)



Obr. 33 Kyvety po měření (Šváb, 2016)



Obr. 34 Spektrofotometr DR 2800 (Šváb, 2016)