

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

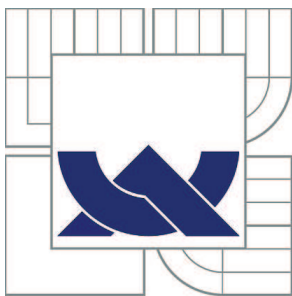
POSOUZENÍ VHODNOSTI TERMÁLNÍ VODY PRO RELAXAČNĚ
TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

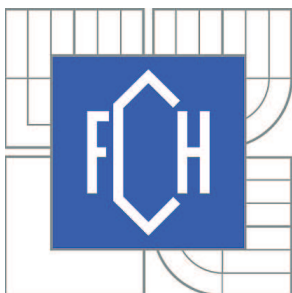
Bc. JAKUB LYSÝ

BRNO 2010



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY
ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF
ENVIRONMENTAL PROTECTION

POSOUZENÍ VHODNOSTI TERMÁLNÍ VODY PRO RELAXAČNĚ TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ

ASSESSMENT OF THE SUITABILITY OF THERMAL WATER FOR THE RELAXATIONAL-
THERAPEUTIC APPLICATION

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

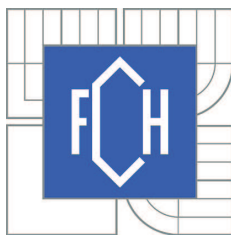
Bc. JAKUB LYSÝ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. MILADA VÁVROVÁ, CSc.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0445/2009	Akademický rok: 2009/2010
Ústav:	Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí	
Student(ka):	Bc. Jakub Lysý	
Studijní program:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (N2805)	
Studijní obor:	Chemie a technologie ochrany životního prostředí (2805T002)	
Vedoucí práce	prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.	
Konzultanti:	MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.	

Název diplomové práce:

Posouzení vhodnosti termální vody pro relaxačně terapeutické využití

Zadání diplomové práce:

1. Zpracování literární rešerše
2. Na základě vypracované literární rešerše provést výběr vhodných ukazatelů pro posouzení kvality termální vody určené pro relaxačně terapeutické využití
3. Provést odběry vody a stanovit její parametry.
4. Na základě získaných výsledků a v souladu s platnou legislativou provést rozhodnutí, zda voda vyhovuje pro dané účely

Termín odevzdání diplomové práce: 14.5.2010

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Jakub Lysý
Student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
Vedoucí práce

doc. Ing. Josef Čáslavský, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Diplomová práce je založena na zhodnocení vhodnosti termálního pramene v oblasti Jižní Moravy pro relaxačně, terapeutické účely. Pomocí kapilární elektroforézy je zjištěn obsah minerálních látek, kterými jsou termální vody využívány a vyhledávány pro léčebné účinky.

ABSTRACT

My thesis is based on an assessment of the suitability of thermal spring in the Southern Moravia for a relaxing, therapeutic purposes. By capillary electrophoresis are measured concentration of natural substances, which are used in thermal waters and are searched for therapeutic effects.

KLÍČOVÁ SLOVA

Přírodní minerální voda, lázeňský zákon, analýza vody, anorganické ionty, kapilární zónová elektroforéza, separace iontů, elektroforegram

KEYWORDS

Natural water, spa directive, water analysis, anorganic ions, capillary electrophoresis, ions separation, electrophoretic diagram

LYSÝ, J. *Posouzení vhodnosti termální vody pro relaxačně terapeutické využití*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 51 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Chtěl bych poděkovat vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc., za poskytnutí nezbytných studijních materiálů a za vedení při zpracovávání práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1. Termální vody	8
2.1.1. Zdroje termálních pramenů	9
2.1.2. Lokality termálních pramenů v ČR.....	9
2.2. Zdroj termálního pramene Pasohlávky	11
2.3. Léčebné účinky termálních vod.....	11
2.4. Významné vlastnosti látek obsažených v přírodních vodách.....	14
2.5. Kritéria pro hodnocení zdrojů minerálních vod	19
2.5.1. Přírodní minerální vody se hodnotí podle:	19
2.5.2. Legislativa platná pro přírodní léčivé zdroje	20
2.5.3. Hodnocení a využívání přírodních léčivých zdrojů.....	20
2.6. Elektromigrační metody pro stanovení iontů ve vodách	21
2.6.1. Princip elektroforézy	21
2.6.2. Elektroosmotický tok	22
2.6.3. Detekce	24
2.6.4. Vyhodnocení elektroforézy.....	25
2.6.5. Uspořádání kapilární elektroforézy.....	25
2.7. Mobilní analytika	26
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	28
3.1. Vzorkování podzemní vody	28
3.2. Instrumentace	29
3.3. Použité chemikálie	30
3.4. Pokrývání křemenných kapilár polyakrylamidem	30
3.5. Kalibrace standardů anorganických iontů	32
3.6. Separační metody analýzy iontů.....	33
3.6.1. Metoda souběžné separace aniontu a kationtu pomocí komplexace s EDTA	34
3.6.2. Metoda separace iontů pomocí kyseliny pikrové.....	35
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	36
4.1. Výsledky semikvantitativního stanovení dusičnanů a chloridů pomocí testu Microquant [®]	36
4.2. Výsledky experimentu separace aniontů pomocí tvorby komplexu s EDTA.....	36

4.3. Výsledky experimentu s kyselinou pikrovou.....	40
4.4. Analýza vzorku termální vody spektrofotometricky	42
4.5. Analýza vzorku termální vody pomocí CZE.....	44
4.6. Výpočet koncentrací iontů ve vzorku.....	45
5. ZÁVĚR.....	47
6. LITERATURA A INTERNETOVÉ ZDROJE	49
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	50

1. ÚVOD

Využívání termálních pramenů v lidské historii začalo již někdy v dobách starověkého Egypta, kdy lidé vyhledávali zdroje teplé přírodní vody k relaxačním účelům. První dochované zmínky pochází z Prvního Římského státu. Tehdejší Římané také pojmenovali první lázně s termální vodou jako Thermy.

V moderní historii balneologie se vědci začali zabývat léčivými účinky minerálních vod teprve na začátku 18. století, kdy došlo k masivnímu rozvoji moderní vědy. Využívání přírodních léčivých zdrojů, koupele, lázně, pití vod a lázeňské léčení sehrály v lékařství odedávna značnou roli, a to jako jeden z nejstarších způsobů terapie, používané od nepaměti až do současnosti. V blízkosti zdrojů, především okolo vývěrů minerálních a termálních vod ke koupelím a k pití, vznikala postupně léčebná místa.

Lázně a lázeňství nejsou rozloženy po celém světě rovnoměrně. Třebaže se využitelné zdroje odedávna vyskytovaly na mnoha místech, zůstalo lázeňství v našem slova smyslu převážně evropskou záležitostí. Jen menším dílem se vyvíjelo v jiných světadílech, například v Asii.

Tradice našeho lázeňství jsou mladší, než je tomu v jižní Evropě a v zemích středomořské oblasti navazujících na antické vzory. Přesto si naše lázeňství získalo v minulosti mimořádný věhlas i vážnost v evropském povědomí a konečně i své místo v dějinách lékařství a balneologie. Vždyť místa jako Karlovy Vary, Mariánské Lázně, Františkovy Lázně, Třeboň a Luhačovice jsou známy po celém světě.

S tímto rozvojem se začaly i zdokonalovat také metody nezbytné ke stanovení koncentrace jednotlivých „léčivých“ látek ve vodách. V dnešní době je nedílnou součástí posouzení každého podzemního zdroje přírodní minerální vody i fyzikálně-chemická analýza, která má za úkol zdokonalit léčebný proces, případně doporučit nebo nedoporučit příslušný termální pramen k léčebným účelům. Důležitou roli hraje zejména analýza anorganických iontů (rozpuštěných minerálních látek), dále pak přítomnost plynů, které doprovázejí každý podzemní pramen.

Tato práce byla zaměřena na posouzení jednoho zdroje přírodní minerální vody na Jižní Moravě, a to v oblasti obce Pasohlávky. Jižní Morava má již několik lázeňských oblastí, které se věnují terapeutickým a relaxačním potřebám občanů. Ty nejznámější jsou v oblasti města Hodonín, kde se lidé s nemocemi pohybového aparátu a nemocemi oběhového ústrojí mohou léčit pomocí jodobromové minerální vody. K dalším patří Ostrožská Nová Ves, ve které se nachází pramen velmi silné sirnaté minerální vody. Sirnaté lázně se specializují na léčení kožních onemocnění, především lupénky, atopických ekzémů a akné, dále rovněž na problémy spojené s pohybovým ústrojím.

Lokalita u Pasohlávek by měla být novým lázeňským areálem, určeným k léčení kožních nemocí pomocí sirnaté termální vody vyvěrající z hloubky okolo 1200 m. Na základě vyžádání obce Pasohlávky bylo proto vypsáno téma na diplomovou práci, v rámci které byla tato problematika řešena.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Termální vody

Termální pramen neboli horký pramen je speciální druh pramenu, ze kterého vystupuje ohřátá voda často obohacená o minerální složky. Voda proniká puklinami do zemské kůry do značných hloubek, kde se vlivem tektonických poruch dostává do blízkosti magmatu, o který se ohřívá a vystupuje nahoru. Její teplota nedosahuje ale takové velikosti, aby umožňovala přeměnu na páru, čímž nedochází ke vzniku gejzírů a ohřátá voda jen zvolna vytéká ze země. Ohřátá voda vytváří unikátní systémy, které se využívají pro vytápění nebo pro rekreaci. Nejznámější lokality s termálními prameny pocházejí z Islandu, kde se lidé často koupají v horkých jezerech i přes studené okolní klima a teplá voda je využívána i pro vytápění chodníků. Termální prameny se využívají také k léčbě různých onemocnění, zejména nemocí kůže, na kterou blahodárně působí minerální složení vody a nízký stupeň radiace způsobený rádiem. Prameny byly k léčbě využívány již od pradávna (Antické Řecko) [1].

Termální prameny nejsou vázány pouze na suchozemské prostředí, ale vyskytují se i v podmoří, kde se nazývají černí kuřáci. Vlivem poklesu teploty dochází ke srážení nasycené vody, minerální složky vytvářejí pevná tělesa, která tvoří různé komíny, terasy, či valy.

Voda v podzemí obsahuje velké množství rozpuštěných minerálních látek; liší se však rozdílnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Minerální voda má také fyziologické účinky na živé organismy, hojně využívané především v lázeňském průmyslu. Jako minerální vody lze v nejširším slova smyslu označit všechny přírodní vody, v hydrogeologické praxi jsou však takto označovány přírodní podzemní vody, které mají některé zvláštní fyzikální, chemické či fyzikálně-chemické vlastnosti, které je předurčují pro využití léčebné nebo dietetické. Ostatní vody obsahující ve větší míře rozpuštěné látky (např. některé vody důlní apod.) jsou označovány jako mineralizované a to i tehdy, jsou-li člověkem využívány například k průmyslové produkci [1].

V českých zemích se tradičně dělily minerální vody z běžných podzemních vod podle pěti kritérií, která jsou následující:

- celkové množství rozpuštěných pevných látek,
- obsah oxidu uhličitého,
- teplota,
- radioaktivita,
- obsah některých důležitých látek (sirovodík, železo, arsen, jod aj.).

V průběhu let se měnily a stále se mění hodnoty jednotlivých mezí, odlišujících obě kategorie vod, ale podstata tohoto základního dělení zůstává stále stejná. Podobně je tomu i v dalších zemích obdařených bohatstvím minerálních vod, tak jak je tomu v Čechách a na Moravě.

Podle současné české právní úpravy (zákon č. 164/2001 Sb. „lázeňský zákon“ a vyhláška č. 423/2001 Sb. „vyhláška o zdrojích a lázních“) je minerální vodou v ČR přirozeně se vyskytující podzemní voda původní čistoty, stálého složení a vlastností, která má z hlediska dietetického fyziologické účinky dané obsahem rozpuštěných látek nebo jiných součástí. Výše uvedená tradiční kritéria jsou však zachována pro tzv. minerální vody pro léčebné využití, které musí dosáhnout alespoň jednoho z následujících limitů [1]:

- $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ rozpuštěných pevných látek (celková mineralizace),

- $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ volného rozpuštěného CO_2 ,
- obsah pro zdraví významného chemického prvku (jod, fluor, křemík, síra aj.),
- teplota u vývěru $20 \text{ }^\circ\text{C}$,
- radioaktivita způsobená ^{222}Rn $1500 \text{ Bq}\cdot\text{l}^{-1}$ [1].

2.1.1. Zdroje termálních pramenů

Podle způsobu, kterým se teplá voda dostává z podzemí na povrch, můžeme definovat několik typů pramenů z geologického hlediska. Za příznivých hydrogeologických podmínek se od pramene vytvoří vodní tok, který odvádí vyvěrající vodu dále do vodní sítě. Jiným zdrojem vody je prosak, což je způsob, kdy voda v místě nevyvěrá, ale pouze prosakuje. Pokud se však na jednom místě vyskytuje více pramenů z téhož podzemního zdroje, označuje se toto místo jako prameniště. Některé prameny vyvěrají přímo do vodního toku, jezera, moře a označují se jako utajené prameny. Z některého pramene se může stát utajený pramen i lidskou činností (vyvěrá na dně rybníka). Prameny dělíme:

Podle způsobu vývěru

- sestupný – pramen je nejnižším bodem vodního sloupce:
 - vrstevní - voda stéká pod povrchem po nepropustné vrstvě a v jednom místě proniká na povrch,
 - suťový - voda protéká pod sutí a na dolním konci suťoviště volně vytéká na povrch,
 - vrstevně suťový - voda nejprve stéká pod povrchem a proniká do suťové vrstvy, z níž vytéká na povrch.
- přelivný - voda se hromadí v podzemní zásobě, přes jejíž okraj přetéká na povrch.
- výstupný - nejnižší bod vodního sloupce je pod úrovní pramene, vývěr je důsledkem tlaku přitékající vody:
 - vrstevní - voda stéká pod povrchem a nepropustná vrstva se stáčí směrem vzhůru,
 - zlomový - voda vytéká prasklinami v nepropustné vrstvě. [2]

Podle teploty

- prameny studené (s průměrnou teplotou nepřesahující $20 \text{ }^\circ\text{C}$),
- prameny teplé (s průměrnou teplotou vyšší než $20 \text{ }^\circ\text{C}$):
 - vlažné (hypotermální, do $37 \text{ }^\circ\text{C}$),
 - teplé (termální, do $50 \text{ }^\circ\text{C}$),
 - vřídla (termy, přes $50 \text{ }^\circ\text{C}$) [2].

2.1.2. Lokality termálních pramenů v ČR

Naše krajina je velmi bohatá na přírodní minerální vody vyvěrající na povrch; skoro v každém regionu můžeme najít termální pramen. Tato skutečnost je dána polohou České republiky a velkým množstvím podzemní vody, která se zde vyskytuje. Nejznámější lázeňské regiony jsou tyto:

- Karlovarský kraj:

- Františkovy Lázně, Jáchymov, Karlovy Vary, Mariánské Lázně;
- Zlínský kraj:
 - Luhačovice, Ostrožská Nová Ves;
- Moravskoslezský kraj:
 - Darkov-Karviná, Klimkovice, Karlova Studánka;
- Královéhradecký kraj:
 - Janské lázně, Lázně Bělohrad, Velichovky.



Obr.č.1: Rozmístění termálních pramenů na území České republiky[16].

Karlovarské minerální vody

Nejznámější a také nejstarší lokalita s výskytem termálních pramenů je Karlovarská lázeňská oblast. Karlovarské minerální prameny představují zcela ojedinělou vzájemně úzce spojenou soustavu jednotlivých termálních pramenů, uloženou při jižním okraji rudohorského žulového masívu a probíhajícího protáhle napříč Krušnými horami na trase Karlovy Vary, Nejedek a Eibenstock. Zde v propadlině, vzniklé tektonickými pohyby, se vytvořily v době třetihorní v hloubce asi 2000 metrů [3].

Soustava hlubokých zlomů umožňuje nepřetržité soustředění oxidu uhličitého, který zde spolu s vodou, pocházející z podzemních dílčích proudů a z malého množství kondenzované vodní páry zemního vzduchu, vystupuje při jižním okrajovém zlomu ohareckém, kde se setkává se srážkovou vodou, jež prosakuje od povrchu země a sestupuje po puklinách krušnohorského zlomu. Tepelné bohatství karlovarských minerálních pramenů má svůj původ především v teplých pochodech uvnitř země a také vzhledem k exogennímu teplu chemických reakcí, které zde probíhají [3].

Teplé prameny vyvěrají na povrch na různých místech a s různými teplotami; nejvyšší teplota je u pramene Vřídlo (72,2 °C) a nejnižší u pramene Libuše (41,2 °C).

2.2. Zdroj termálního pramene Pasohlávky

Oblast termálního vrtu je situován v obci Pasohlávky nedaleko nádrží Nové mlýny na Jižní Moravě. Tato oblast se nachází v karpatské předhlubni – bloku jih, v povrchové stavbě reprezentované komplexem miocenních sedimentů, které pokrývají sedimenty mesozoika – jury (karbonátový, resp. peliticko-karbonátový vývoj, klastické sedimenty). V jejich podloží leží horniny krystalinika (granitoidy) [18].

V popisovaném území byly realizovány průzkumné práce zaměřené především na vyhledávání ropy, na přelomu 80. a 90. let později i na hledání termální vody. Vrt, z kterého byly odebírány vzorky vody se nachází přibližně 1200 m pod zemí, s přibližným přírodním průtokem 40 l/s, při přetlaku na ústí 0,06 MPa. Teplota vody je 43,6 °C a je silně mineralizována. Jde především o natrium-chloridovou vodu s rozpuštěným metanodusíkovým plynem a vyšším obsahem sirovodíku. Voda je převážně vadózního původu, smíšená s primární marinogenní vodou [18].

Z měření, které byly na vrtu prováděny v minulosti, byly zjištěny koncentrace rozpuštěných látek na úrovni termálních vod vhodných pro lázeňské a terapeutické účely.

V dnešní době je na vrtu provozováno jedno rekreační zařízení, jde o bazén s průtokovým systémem z tohoto vrtu. Kraj i obec hodlají v budoucnu vybudovat na tomto prameni rozsáhlý rekreační a lázeňský komplex.

2.3. Léčebné účinky termálních vod

Lázeňské léčení je jedním z nejstarších způsobů léčby vůbec. Již Keltové znali význam nejen teplých, ale také studených zemitých pramenů, které se odlišovaly od normální vody zvláštní chutí, vůní a zbarvením. V klasickém starověku navštěvovali nemocní Řekové hromadně léčivé prameny, kde později vybudovali ozdravná zařízení.

Rozvoj lázeňství se díky církvi zastavil během středověku, ke znovu obnově došlo až po zavlečení malomocenství do Evropy; v souvislosti s rozvojem lékařství v 14. století se pomalu začal projevovat zájem o využití minerálních vod. Sedmnácté a osmnácté století umožnilo prohloubení balneoterapie, což bylo způsobeno rozvojem vědy a budováním lázeňských měst a především rozšiřováním lázeňské praxe mezi širší obyvatelstvo [3].

Pitná léčba

Hlavním léčebným faktorem byl v počátcích balneologie pitný režim, což je vnitřní podávání teplých minerálních pramenů pacientovi v předepsaných dávkách. Nejzřetelnější a nejlépe reprodukovatelné změny po podání minerální vody vznikají v trávicím a uropoetickém ústrojí. Avšak jen v gastrointestinálním traktu mohou minerální vody působit

přímo na sliznici. Účinek pitné léčby se odlišuje od účinků léků tím, že nastupuje pomaleji a zasahuje celý organismus bez vedlejších účinků.

Během pitné léčby je třeba počítat s těmito faktory minerální vod:

- teplota a množství vypité minerální vody
- složení minerální vody (plyny a minerální látky)
- stopové prvky a farmakologicky účinné látky
- stupeň disperze látek (ionty, koloidy) a jejich vzájemný poměr ve vodě
- koncentrace vodíkových iontů
- elektrická vodivost vody
- zvláštní biologické vlastnosti.

Při dozování pitné léčby je kromě výše uvedených chemických a fyzikálních vlastností léčivé minerální vody brát v úvahu fyziologii resorpce vody u člověka, dále individuální potřeby a omezení každého pacienta [3].

Gastrointestinální choroby

Výběr druhů vod pro léčení těchto chorob je proveden většinou na základě dlouhodobých zkušeností a analýz jednotlivých vod; není možné určit všechny specifické i nespecifické vlastnosti pramenů. Každý pramen je individuální. K léčení gastrointestinální chorob se nejvíce využívá těchto typů vod: hydrogenuhličitano-sodné, chlorido-sodné, sírano-vápenaté, sírano-hořečnaté a železnaté vody.

Převážná část těchto vod používaných k pitné léčbě je kombinací dvou nebo více druhů výše uvedených typů.

Okamžitý přímý a nepřímý účinek minerální vody na gastrointestinální systém

Minerální voda působí na sliznici trávicí soustavy, v ní uložené intrareceptory a v mírném rozsahu také na hladké svalstvo stěn trávicí soustavy. Chování minerální vody v žaludku a ve střevě závisí přitom na stavu sekreторické, motorické a resorpční funkci těchto orgánů.

Již při průchodu minerální vody trávicím traktem dochází ke změnám v elektrolytovém složení, a to přimísením slin v ústech a žaludeční šťávy v žaludku. Dochází ke změnám pH, teploty a osmotického tlaku léčebné vody ve směru k izohydrii, izotermii a izotonii. Velikost těchto změn je dána rychlostí průchodu léčivé minerální vody žaludkem [3].

Vliv objemu vody

Samotný objem vody vede podrážděním tlakových receptorů v žaludku k vyvolání gastrické fáze sekrece. To vede ke zrychlenému peristaltickému pohybu střev. Silné podráždění peristaltiky způsobují vody studené a silně hypotonické [3].

Vliv teploty vody

Teplota vody stupňuje uvolnění acetylcholinu, prokrvení sliznice, a to jak žaludku tak rovněž střeva a přispívá ke zlepšení resorpce a s mechanicky zvýšenou peristaltikou k odsunu zánětlivých produktů střevem.

Horké vody mají účinek spasmolytický, uklidňují motilitu žaludeční i střevní. Studené vody mohou naopak vyvolat křeče [3].

Vliv osmotického tlaku

Všude kde buňka, případně tkáň přichází do bezprostředního kontaktu s minerální vodou, vzniká osmotický rozdíl. Citlivost jednotlivých orgánů na osmotické podněty je různá. Hypertonické roztoky se stoupající koncentrací vyvolávají již v ústech silné vylučování slin. Podráždění sliznic a dutiny ústní povzbuzuje díky nepodmíněnému reflexu vyměšování žaludečních šťáv. Tento faktor je důležitý právě při pitné léčbě. Při nepatrné koncentraci solného roztoku lze stimulovat žaludeční sekreci a při pití solného roztoku trvale dráždíme chuťové receptory.

Naopak hypotonické minerální vody působí mnohem větší podráždění žaludeční sliznice (nezávisle na iontovém složení). Mohou se objevit příznaky pálení v žaludku, někdy dochází až k vyvolání zvracívého reflexu. Proto se takovéto vody k pitné léčbě nevyužívají [3].

Vliv jednotlivých iontů

Chemickému účinku látek, které jsou rozpuštěny v minerální vodě, je připisován daleko větší efekt než fyzikálním vlastnostem minerální vody. I když minerální voda působí jako celek a jednota účinku je dána vzájemným synergistickým a antagonistickým působením jednotlivých aniontů a kationtů, přece mohou některé ionty uvnitř tohoto systému svojí převahou představovat hlavní směr působení (ostatní ionty ho poté jen doplňují, či upravují). Největší účinky mají tyto látky:

Oxid uhličitý - přítomnost volného CO_2 v minerálních vodách nebo disociovaný z HCO_3 působí ve větším množství jako stimulátor sekrece trávicího ústrojí. Jeho působením na rozšíření cévního řečiště se urychlují resorpční pochody pro ionty [3].

Hydrogenuhlíčan - základem hydrogenuhlíčanových vod je alkalizace; neutralizuje kyselinu chlorovodíkovou v žaludku, následně se však opět zvyšuje sekrece žaludeční šťávy. Kromě alkalizace duodenálního obsahu zlepšují a normalizují peristaltiku dvanáctníku (zvláště při opakovaném pití malých dávek). Stejně působí na motilitu žaludeční, a to přímým účinkem na žaludek, zejména na jeho pylorickou část. Alkalické vody rozpouštějí hlen a upravují nárazníkovou schopnost žaludeční šťávy [3].

Síranové ionty - přímý účinek sulfátových vod v žaludku není ještě zcela vyjasněn. Rozhodujícím faktorem jejich vlivu na vyprazdňování žaludku je koncentrace tohoto iontu v minerální vodě. Jenom hypertonické minerální vody se zadržují déle v žaludku a obohacují se zde. Tímto účinkem se podílejí na zředění žaludeční sekrece, snížení acidity i koncentrace žaludečních fermentů (působí tlumivě).

V tenkém střevě se sulfátové vody resorbují velmi pomalu v závislosti na své stoupající koncentraci, pomocí dvoumocných kationtů a množství podané minerální vody v jednotlivé dávce. Tím je dán jejich dráždivý účinek na střevní peristaltiku. Projímavý účinek sulfátových vod je také vysvětlován jako dráždění receptorů sirovodíkem (vzniklým ze sulfátů činností střevní flory). Sírné vody příznivě ovlivňují střevní floru, zvláště při hnilobných dispepsiích. Jejich účinek při pitné léčbě je následující: vzrůstá množství normálního *E.coli* ve střevě na účet toxických kmenů *coli* a *paracoli* a putridní flory [3].

Chloridové ionty - chloridové ionty v minerálních vodách jsou většinou vázány na sodík. Působí na žaludeční sekreci stejně jako hydrogenuhličitanové ionty, tj. buď tlumivě, nebo dráždivě. Chloridová minerální voda podaná společně s potravou působí na receptory žaludeční sliznice a podněcuje sekreci. Pokud podáváme tuto vodu hodinu před jídlem, působí minerální vody na receptory dvanáctníku a reflektoricky tlumí činnost žaludečních žlázek. Rozhodujícím faktorem je přítomnost CO₂ a teplota vody. Minerální vody přitom nejen dráždí receptory, ale během delšího pravidelného podávání zvyšují práh dráždivosti na intenzitu chemického podnětu. Natriumchloridové vody vedou k rozpouštění nadměrně vytvořeného hleny v žaludku [3].

Kationty - vápník se uplatňuje na sliznici žaludku a střev svým protizánětlivým, antialergickým a spasmolytickým účinkem. Snižuje prokrvení žaludeční sliznice a také žaludeční sekreci (zvláště při spojení s HCO₃). Vápenaté ionty utěsňují mezibuněčné prostory a tak brzdí transudaci a exsudaci při zánětu. Vápník se resorbuje jen asi z 10 %, a proto se jeho účinek dobře uplatňuje u chronických průjemových onemocnění.

Hořčík má podobný místní účinek jako vápník. Ve formě síranu hořečnatého tlumí žaludeční sekreci. Jako dvojmocný kationt zesiluje účinek sulfátů při jejich působení v tenkém střevě. Hořčík dále zesiluje acidifikační účinek vápníku. Tento účinek je vyvažován přítomností HCO₃ [3].

Tabulka č.1: Některé fyzikální a chemické vlastnosti Karlovarských minerálních pramenů[3].

Název	Teplota (°C)	pH	volný CO ₂ (mg/l)	SO ₄ ⁻² (mg/l)	HCO ₃ ⁻ (mg/l)	Cl ⁻ (mg/l)	Na ⁺ (mg/l)
Vřídlo	72,2	7,1	409,2	1403,0	2105,0	612,5	1566,0
Karel IV.	42,6	6,9	721,6	1590,1	2066,8	582,1	1619,4
Zámecký dol.	62,3	6,7	796,4	1710,6	2007,5	609,82	1669,8
Zámecký hor.	49,8	6,7	630,7	1573,7	2033,9	573,44	1613,6
Tržní	49,6	6,9	756,8	1675,6	2111,5	606,58	1698,4
Mlýnský	52,9	6,8	712,8	1638,0	2094,0	609,3	1672,4
Rusalka	49,1	6,8	726,0	1675,5	2150,5	594,21	1695,6
Václav	59,4	6,8	778,8	1464,0	2116,0	591,6	1588,0

Rozdílnost ve složení termálních vod je dokladována na základě vod z některých vřidel z Karlovarského kraje. Rozložení jednotlivých pramenů je nestejně, předpokládá se, že prameny se vzájemně neovlivňují.

2.4. Významné vlastnosti látek obsažených v přírodních vodách

S minerálními vodami se setkáváme prakticky každý den, konzumujeme je jako vody pitné nebo léčebné, a proto je důležité znát chování a charakter nejvýznamnějších sloučenin, které obsahují. Některé látky působí na lidský organismus prospěšně, některé ho naopak mohou poškodit; tyto efekty závisí na koncentraci a fyzikálně chemických vlastnostech PMV. Mnoho těchto faktorů se využívá v lázeňství, zejména při lázeňských procedurách.

Chloridy

Čisté chloridy jsou čiré až bílé krystalické látky, většinou velmi dobře rozpustné ve vodě. Velmi běžný chlorid sodný je krystalická látka s teplotou tání 801 °C a varu 1413 °C. Hustota této látky je 2160 kg.m⁻³. Rozpustnost ve vodě činí 360 g/l [5].

Chlorid draselný je krystalická látka s teplotou tání 773 °C a varu 1420 °C. Hustota této látky je 1980 kg.m⁻³. Mezi vysoce toxické chloridy patří například chlorid kademnatý, což je krystalická látka s teplotou tání 565 °C, varu 967 °C a hustotou 4050 kg.m⁻³. Podobné vlastnosti mají i jiné chloridy, především ty, které mají významnější toxický efekt; je to způsobeno především přítomným kationem v molekule (například kovy - olovo, rtuť). Na kationu záleží rovněž i ostatní vlastnosti chloridu. Proto je velmi obtížné konkrétně popsat chloridy celkově. Typickým příkladem chloridů jsou chlorid sodný a draselný, které se běžně vyskytují v přírodě a zároveň neobsahují toxický kationt, který by působením zcela zastínil chloridový aniont [4, 6].

Jejich vlastnosti proto skupinu nejlépe reprezentují. Rozpustíme-li směs různých chloridů, zjištěná koncentrace chloridu ve vodě bude tvořena sumou chloridu ze všech rozpuštěných chloridových solí [6, 8].

Dopady na zdraví člověka

Chloridy zastoupené chloridem sodným jsou pro člověka nezbytnou složkou potravy, bez které lidský organismus není schopen správně fungovat. Na druhou stranu přílišné dávky solí mohou způsobit závažné poškození organismu (zasolování, zatížení ledvin atd.). Toxikologické vlastnosti běžně se vyskytujících chloridů však nejsou významné, například u již zmíněného chloridu kademnatého je za toxicitu odpovědné kadmium, nikoli chloridový aniont [7].

Dusičnany

Dusičnany patří mezi čtyři hlavní anionty vyskytující se ve vodách. Můžeme je detekovat ve všech druzích vod, ovšem v různých koncentracích, a to od desetin až po jednotky mg.l⁻¹ NO³⁻ ve srážkových vodách, přes jednotky až desítky mg.l⁻¹ NO³⁻ v podzemních a povrchových vodách, až po stovky mg.l⁻¹ NO³⁻ v některých odpadních vodách [4].

Dusičnany jsou konečným produktem mineralizace organicky vázaného dusíku a za oxických podmínek jsou stabilní. Za anoxických podmínek však podléhají denitrifikaci, a to za vzniku elementárního dusíku, resp. oxidu dusného. Velká koncentrace dusičnanu, případně i dusitanu bývá charakteristická pro podzemní vody v oblastech s borovými lesy, kde písčité, dobře provzdušněná půda obsahuje ve svrchních vrstvách jednak kmeny bakterií schopných fixovat elementární dusík a zejména potom kmeny nitrifikačních bakterií [4, 7].

Dopady na zdraví člověka

Jednotlivé dusíkaté sloučeniny se mohou navzájem přeměňovat. Amoniakální dusík může nitrifikací přecházet na dusičnany. Dusičnany se mohou v gastrointestinálním traktu redukovat bakteriální činností na toxické dusitany. Dusitany reagují s hemoglobinem na methemoglobin, který nemá schopnost přenášet kyslík v krvi. Problém vzniká především u kojenců cca do 3 měsíců věku. Dusitany mohou v silně kyselém prostředí, například

v žaludku, také reagovat se sekundárními aminy, které mohou vznikat v žaludku rozkladem organických dusíkatých látek, a to za vzniku N-nitrosaminu, z nichž se některé považují za potenciální karcinogeny [7, 8].

Sírany

Síra se ve vodách vyskytuje anorganicky i organicky vázaná. Mezi anorganické sloučeniny síry vyskytující se ve vodách patří sulfan a sulfidy, thiokyanatany, elementární síra, thiosírany, siřičitany a sírany. Z anorganických sloučenin jsou ve vodách nejdůležitější sírany a sulfidy. Některé bílkoviny přítomné ve vodách obsahují rovněž síru; jsou to thioly a sulfosloučeniny [4].

Thiokyanatany a siřičitany jsou ve vodách nestabilní, za určitých podmínek lze ve vodách stanovit sulfan nebo sulfid. Vylučování elementární síry není obvyklé a připadá v úvahu jen v poměrně úzké oblasti hodnot pH a oxidačně redukčního potenciálu (kyselé a neutrální prostředí). V oxických a anoxických podmínkách jsou velmi stabilní právě sírany, které jsou nedílnou součástí termálních vod [4].

Sírany spolu s hydrogenuhličitany, chloridy a dusičnany patří mezi nejdůležitější složku přírodních minerálních vod. V podzemních a povrchových vodách se koncentrace síranů pohybuje obvykle v desítkách či stovkách mg/l^{-1} . Některé PMV se vyznačují právě vysokým obsahem síranů, který v některých vodách dosahuje až tisíce mg/l^{-1} ; platí to zejména pro Šaratickou minerální vodu [5].

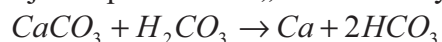
Dopady na zdraví člověka

Sírany rozpuštěné ve vodách neznamení větší riziko pro člověka. Naopak sirmé vody jsou vyhledávány jako léčebný prostředek k terapeutickým účelům. Působí blahodárně především na gastrointestinální systém. Nebezpečné pro člověka mohou být až v ovzduší, kde působí negativně v polétavém prachu, a to na horní cesty dýchací [7].

Hydrogenuhličitany

Sloučeniny uhlíku jsou také nedílnou součástí přírodních minerálních vod. Patří mezi ně volný oxid uhličitý, který se vyskytuje v přírodních vodách s $\text{pH} < 8,3$ (jednotky až desítky mg/l v prosté vodě a více v minerálních vodách), v závislosti na hodnotě pH. Samotné uhličitany jsou přítomny v PMV jen ve velmi malých koncentracích a při nízkém pH jsou jen velmi těžko stanovitelné [4, 8].

Pro terapeutické účinky přírodních vod jsou však nejdůležitější hydrogenuhličitany, které koncentračně převládají v podzemních vodách. Často tvoří společně s vápníkem vápnikovo-uhličitánovou rovnováhu, která je zodpovědná za „tvrdost“ vody [5].



Dopady na zdraví člověka

Hydrogenuhličitany se vyskytují často vázané s prvky alkalických zemin (sodík, draslík). Tyto sloučeniny nejsou vedeny jako nebezpečné látky, a proto nehrozí vážné poškození

organismu. Vody jsou vhodné k léčebným účelům, mají blahodárny vliv jak na gastrointestinální systém, tak i na degenerativní onemocnění kloubů a na různé druhy artritidy [7].

Pro terapeutické účely jsou nejdůležitější výše zmiňované anionty, které jsou v přírodních vodách ještě doprovázeny různými kationty. Tyto ionty nemalou mírou také ovlivňují vlastnosti vody a někdy i mění její vlastnosti. Výskyt a spojení s anionty často záleží na geologickém podloží, ve kterém se podzemní voda vyskytuje.

Sodík

Obsah v zemské kůře je 2,6 %, do vody se vyluhuje převážně z alkalických hlinitokřemičitanů (např. albit $\text{Na}[\text{AlSi}_3\text{O}_8]$), solných ložisek a z některých jílových materiálů. Ve vodách se sodík vyskytuje nejčastěji jako jednoduchý kationt, ve více mineralizovaných vodách dochází ke tvorbě iontových asociátů s HCO_3^- , SO_4^{2-} a Cl^- . V přírodních vodách se obsah sodíku pohybuje v rozsahu desetin až desítek mg/l, v minerálních vodách i v jednotkách gramů v litru [9].

Dopady na zdraví člověka

Sodík není hygienicky významný, minerální vody s obsahem hydrogenuhličitanu sodného mají význam při léčbě chorob žaludku a žlučových cest. Pro lidský organismus je sodík nepostradatelnou složkou, bez které by nemohl fungovat. Je známo, že sodík je v buňkách stále „v konfliktu“ s draslíkem, tzn., že je-li jednoho z nich nadbytek, dojde ke zdravotním potížím:

- mnoho sodíku - zadržování vody v tkáních
- mnoho draslíku - vylučování sodíku z organismu [10].

Draslík

Zemská kůra obsahuje přibližně 2,4 % draslíku, do vody se vyluhuje převážně z alkalických hlinitokřemičitanů (např. orthoklas $\text{K}[\text{AlSi}_3\text{O}_8]$, muskovit $\text{KAl}_2[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}](\text{OH})_2$) a z odklizových draselných polí, které převrstvují naleziště soli kamenné. Ve vodách se draslík vyskytuje nejčastěji jako jednoduchý kation (KNO_3), v minerálních a podzemních vodách poté dochází opět k tvorbě asociátů HCO_3^- , SO_4^{2-} a Cl^- . Z měření draslíku ve vodách vyplývá, že činí obvykle 4 až 10 % obsahu sodíku. Hlavním faktorem je jeho sorbce do půdy [9].

Dopady na zdraví člověka

Draslík patří mezi biogenní prvky, to znamená, že lidské tělo ho přímo vyžaduje ke správné funkci. Je nezbytný pro přesnou funkci kardiovaskulárního systému, pro svalový tonus, k udržení rovnovážného stavu tekutin v organismu, pro mnoho enzymů, pro přeměnu glukózy v energii – glykogen a k udržování rovnováhy kyselin. Při nedostatku draslíku se zvyšuje krevní tlak a poškozuje srdce. Srdeční mrtvice u osob mladších 50 let často není zapříčiněna krevní sraženinou, ale zejména nedostatkem draslíku [10].

Vápník

Do vodních zdrojů se dostává převážně vyluhováním z vápenců (CaCO_3), dolomitů ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$), sádrovce ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a dalších minerálů. Větší množství Ca ve vodách je dáno obsahem rozpuštěného CO_2 , který výrazně zvyšuje rozpustnost látek na bázi uhličitánů. Obsah Ca ve vodách ovlivňuje jeho pH a to směrem k alkalickým hodnotám (pH nad 9). Často tvoří sloučeniny CaCO_3 s vodou [9].

Množství Ca ve vodách závisí převážně na geologickém podloží, v prahorních útvarech (žuly, ruly) mívají toky pouze několik $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, vody z vápencových (krasových) útvarů i několik set $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ [9].

Tabulka č.II: Závislost vápníku na hořčíku ve vodách s různou mineralizací[9].

mineralizace ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	poměr Ca:Mg
100-500	4:1
500-1000	2:1 - 1:1
nad 1000	1:1 - 1:2 - 1:3

Dopady na zdraví člověka

Dospělý člověk vážící 70 kg má v těle 1200 g vápníku, z toho 98% je obsaženo v kostech. Vápník povzbuzuje nervovou a svalovou soustavu, činnost srdce a ovlivňuje srážlivost krve. Přebytku vápníku se tělo nezbavuje vyloučením, ale ukládá ho v dlouhých kostech. Nedostatek Ca v lidském organismu způsobuje řídnutí kostí, svalové křeče, nervové napětí a mnoho dalších negativních účinků [10].

Hořčík

Větší množství hořčíku ve vodách je dáno obsahem rozpuštěného CO_2 , který výrazně zvyšuje rozpustnost látek na bázi uhličitánů. Obsah v zemské kůře je přibližně 2 %, do vody se dostává opět z geologického podloží, vyluhováním dolomitů ($\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$), magnezitu (MgCO_3) a dalších minerálů. Z tabulky č. 2 je zřejmé, že hořčík je ve vodě kvantitativně zastoupen méně než vápník. V minerálních vodách může být i několik $\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Mg, obsah Mg nad $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ se projevuje hořkou chutí; v normě pro pitnou vodu je obsah hořčíku limitován hodnotou $125 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Vody s vysokým obsahem Mg mají laxativní účinky (minerální vody Zaječická, Šaratice) [9].

Dopad na zdraví člověka

Hořčík je opět prvek, bez kterého lidský organismus nemůže fungovat. Hořčík se nalézá v kostech i v buňkách těla. Udržuje elektrickou potenci membrán, buněk, nervů i všech tělesných tkání. Jeho denní potřeba je 200 - 300 mg. Při jeho nedostatku odchází z těla močí mnoho vápníku.

Následky: předčasná ztráta vlastních zubů, špatný vývoj kostí, pomalé hojení zlomených kostí. Vápník a hořčík musejí být ve správném poměru. Samotný vápník může způsobit nedostatek hořčíku, mnoho hořčíku zabraňuje vstřebávání vápníku. Správný poměr je 1 díl hořčíku a 2 díly vápníku [10].

2.5. Kritéria pro hodnocení zdrojů minerálních vod

U každé přírodní minerální vody je uvedena stručná charakteristika, tradované mechanismy účinku, tradované nebo prokázané klinické efekty, způsoby aplikace, možné léčebné využití, které je vázané na vlastnosti přírodní minerální vody, historií empiricky získané podklady nebo vědecko-výzkumnými důkazy podložené léčebné využití konkrétního zdroje přírodní minerální vody.

Přírodní minerální vody jsou v současné době hodnoceny podle kritérií platných od 1. 1. 2002 (viz příloha č. 1 Vyhlášky č. 423/2001 Ministerstva zdravotnictví ze dne 20. 11. 2001) [11].

2.5.1. Přírodní minerální vody se hodnotí podle:

- celkové mineralizace jako minerální vody
 1. velmi slabě mineralizované s obsahem rozpuštěných pevných látek do 50 mg/l
 2. slabě mineralizované s obsahem rozpuštěných pevných látek 50-500 mg/l
 3. středně mineralizované s obsahem rozpuštěných pevných látek 500-1500 mg/l
 4. silně mineralizované s obsahem rozpuštěných pevných látek 1 500 mg/l až 5g/l
 5. velmi silně mineralizované s obsahem rozpuštěných pevných látek vyšším než 5g/l
- obsahu rozpuštěných plynů a obsahu významných složek jako vody
 1. uhličitě nad 1g oxidu uhličitého/l vody,
 2. sírné nad 2 mg titrovatelné síry; sulfan disociovaný v různém stupni a thiosírany vztažené na l vody
 3. jodové nad 5 mg jodidů/l vody
 4. ostatní, např. se zvýšeným obsahem kyseliny křemičité (nad 70 mg/l vody) a fluoridů (nad 2 mg/l vody);
- aktuální reakce vyjádřená hodnotou pH se pro rozdělení vod použije jen tehdy, jde-li o vody:
 1. silně kyselé - s hodnotou pH pod 3,5;
 2. silně alkalické - s hodnotou pH nad 8,5;
- radioaktivity; jako vody radonové s reaktivitou nad 1,5 kBq/l vody způsobenou radonem ^{222}Rn ;
- přirozené teploty u vývěru jako vody:
 1. studené s teplotou do 20°C
 2. termální, a to:
 - do 35°C vody vlažné
 - do 42°C vody teplé
 - nad 42°C vody horké
- osmotického tlaku:
 1. hypotonické s osmotickým tlakem menším než 710 kPa
 2. isotonické s osmotickým tlakem 710-760 kPa
 3. hypertonické s osmotickým tlakem nad 760 kPa
- hlavních složek (tj. složek, které jsou v součtu součinů látkové koncentrace a nábojového čísla všech aniontů zastoupeny nejméně 20%; rovněž tak pro kationty). Typ vody se

charakterizuje v pořadí od nejvíce zastoupených složek, a to nejprve aniontů, potom kationtů;

- využitelnosti jako léčivé, pokud jich lze na základě odborného posudku využít k léčbě;
- vlastnosti jako stabilní, pokud jejich teplota, celková mineralizace a obsah volného CO₂ kolísá pouze v rámci přirozených výkyvů a typ vody se nemění. U vod, jejichž léčivost se opírá o určitou složku chemismu (např. obsah titrovatelné síry), nebo o radioaktivitu; nadřazuje se hodnocení stability této složky s kolísáním ne větším než $\pm 30\%$. Minimální hodnoty nesmí klesat pod kritérijní hodnoty [11].

2.5.2. Legislativa platná pro přírodní léčivé zdroje

Zákon ze dne 13. dubna 2001 (č. 164/2001) o přírodních léčivých zdrojích, zdrojích přírodních minerálních vod, přírodních léčebných lázních a lázeňských místech a o změně některých souvisejících zákonů (lázeňský zákon; 423/2001).

Předmět úpravy

Tento zákon stanoví podmínky pro vyhledávání, ochranu, využívání a další rozvoj přírodních léčivých zdrojů, zdrojů přírodních minerálních vod určených zejména k dietetickým účelům, přírodních léčebných lázní a lázeňských míst [11].

Vymezení pojmů

Přírodním léčivým zdrojem je přirozeně se vyskytující minerální voda, plyn nebo peloid, které mají některou vlastnost vhodnou pro léčebné využití, a o tomto zdroji bylo vydáno osvědčení podle tohoto zákona. Peloidem se rozumí rašelina, slatina nebo bahno. Minerální vodou pro léčebné využití se rozumí přirozeně se vyskytující podzemní voda původní čistoty, s obsahem rozpuštěných pevných látek nejméně 1 g/l nebo s obsahem nejméně 1 g/l rozpuštěného oxidu uhličitého, případně s obsahem jiného, pro zdraví významného chemického prvku. Minerální voda pro léčebné využití je také ta, která má u vývěru přirozenou teplotu vyšší než 20 °C nebo radioaktivitu radonu nad 1,5 kBq/l.

Zdrojem přírodní minerální vody je přirozeně se vyskytující podzemní voda původní čistoty, stálého složení a vlastností, která má z hlediska výživy fyziologické účinky dané obsahem minerálních látek, stopových prvků nebo jiných součástí, které umožňují její použití jako potraviny a k výrobě balených minerálních vod.

Přírodními léčebnými lázněmi se rozumí soubor zdravotnických a jiných souvisejících zařízení sloužících k poskytování lázeňské péče.

Lázeňským místem se rozumí území nebo část území obce nebo více obcí, v němž se nacházejí přírodní léčebné lázně, stanovené za lázeňské místo [11].

2.5.3. Hodnocení a využívání přírodních léčivých zdrojů

Způsob a rozsah hodnocení přírodního léčivého zdroje a zdroje přírodní minerální vody, způsob získávání minerální vody, plynu a peloidu z těchto zdrojů (výtěžek), úpravu, přepravu a skladování výtěžku z těchto zdrojů a označování výrobku z přírodního léčivého zdroje

stanoví vyhláška Ministerstva zdravotnictví. Při výrobě balených přírodních minerálních vod a nakládání s výrobkem ze zdroje PMV se postupuje podle zvláštních právních předpisů.

K účelům lázeňské péče lze využívat pouze ty zdroje minerální vody, plynu nebo peloidu, o nichž je vydáno osvědčení, že jsou přírodním léčivým zdrojem [11].

2.6. Elektromigrační metody pro stanovení iontů ve vodách

Elektromigrační metody patří do skupiny separačních analytických metod. Jsou založeny na rozdílné pohyblivosti nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Využívají dvou základních elektrokinetických jevů - elektroforézy a elektroosmózy.

2.6.1. Princip elektroforézy

Elektroforetická separace je založena na orientovaném pohybu iontů (nabitých částic) vůči roztoku rozpouštědla, který je vyvolaný vnějším elektrickým polem o určitém napětí (V). Toho lze docílit vložením stejnosměrného napětí na dvě elektrody ponořené do roztoku elektrolytu. Kladně nabitě částice (kationty) migrují k zápornému pólu (katodě), záporně nabitě částice (anionty) ke kladnému pólu (anodě) a neutrální částice se nepohybují. Po vložení stejnosměrného napětí se rychlost elektroforetického pohybu ustálí, a to řádově během 10^{-13} sec. Pro jakýkoliv iont roztoku platí, že rychlost jeho elektroforetického pohybu, v je přímo úměrná intenzitě elektrického pole E (gradient napětí, $\text{grad } V = E$) [12].

$$v = u \cdot E$$

Konstanta úměrnosti u (v anglické literatuře označovaná písmenem, μ) je nazývána pohyblivostí neboli mobilitou iontu. Tato veličina udává rychlost iontu vůči rozpouštědлу (v m/s), která byla vyvolána elektrickým polem o jednotkové intenzitě (1 V/m). Tato rychlost je velmi malá, a proto se obvykle udává v jednotkách $10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ [12].

$$u = \frac{v}{E}$$

Kde v je rychlost pohybu v elektrickém poli o intenzitě E . Intenzita pole v kapiláře je dána podílem napětí U připojeného ke koncům kapiláry a její délky L a je svázána Ohmovým zákonem s hustotou procházejícího elektrického proudu i prostředím o specifické vodivosti κ .

$$E = \frac{U}{L} = \frac{i}{\kappa}$$

Výsledný rovnoměrný pohyb iontů v roztoku je výsledkem působení dvou sil. Ion s nábojem q je uváděn do pohybu silou elektrického pole F_e [12].

$$F_e = q \cdot E$$

Tento pohyb iontu o poloměru r je brzděn frikční silou prostředí F_f danou Stokesovým zákonem [12].

$$F_f = -6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v$$

Kde v je rychlost pohybu iontu a η je viskozita prostředí. Z rovnosti těchto opačně orientovaných sil v ustáleném stavu, $\mathbf{F}_e = -\mathbf{F}_f$, lze pro elektroforetickou pohyblivost u odvodit:

$$u = \frac{v}{E} = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r}$$

Z této rovnice vyplývá, že pohyblivost iontu je přímo úměrná jeho náboji a nepřímo úměrná jeho poloměru (velikosti, relativní molekulové hmotnosti) a viskozitě roztoku.

Směr elektroforetického pohybu iontu závisí na polaritě náboje iontu i na směru elektrického pole. Jako kladný pohyb iontů vůči rozpouštědлу byl zvolen směr od anody (+) ke katodě (-), tzv. katodická elektroforéza. Opačný, záporný směr pohybu iontů (od katody k anodě) je označován jako anodická elektroforéza. Proto jsou rychlosti kationtů definovány jako kladné a rychlosti aniontů jako záporné [12].

2.6.2. Elektroosmotický tok

Základním jevem elektroforetického děje je elektroosmotický tok (EOF). EOF je celkový tok kapaliny v kapiláře a je důsledkem povrchového náboje na vnitřní stěně kapiláry. EOF je výsledkem účinku vloženého elektrického pole na dvojrstvu mezi roztokem a stěnou kapiláry. EOF řídí dobu, po kterou látky zůstávají v kapiláře pomocí skládání toku EOF v kapiláře přes mobilitu analytu. Za podmínek ve vodných roztocích získává většina pevných povrchů přebytek záporného náboje. To může vyplynout z ionizace povrchu (kde je acidobazická rovnováha) nebo z adsorpce iontových látek na povrch. V případě křemenné kapiláry se vyskytují oba zmíněné procesy, i když EOF je mnohem více řízen počtem silanolových skupin; SiOH, které mohou existovat v aniontové formě (SiO⁻) [13].

Ačkoliv přesný izoelektrický bod pI křemenné kapiláry je obtížné stanovit, EOF začíná být měřitelná nad pH = 4. Neiontové materiály, jako je třeba Teflon, také vykazují EOF, které je pravděpodobně výsledkem adsorpce anionů na jeho povrchu. Proti-ionty (nejčastěji kationy), jež se hromadí v těsné blízkosti povrchu kapiláry a zabezpečují vyrovnávání náboje dvojrstvy a vytváří rozdíl potenciálu velmi blízko stěny kapiláry. Tento potenciál se nazývá zeta potenciál. Jakmile je vloženo napětí na kapiláru, kationy vytvářející difúzní vrstvu jsou přitahovány ke katodě. Protože jsou solvatovány, jejich pohyb strhává celý roztok v kapiláře směrem ke katodě [12, 13].

Velikost EOF může být vyjádřena, pokud jde o rychlost nebo mobilitu, následujícím vztahem.

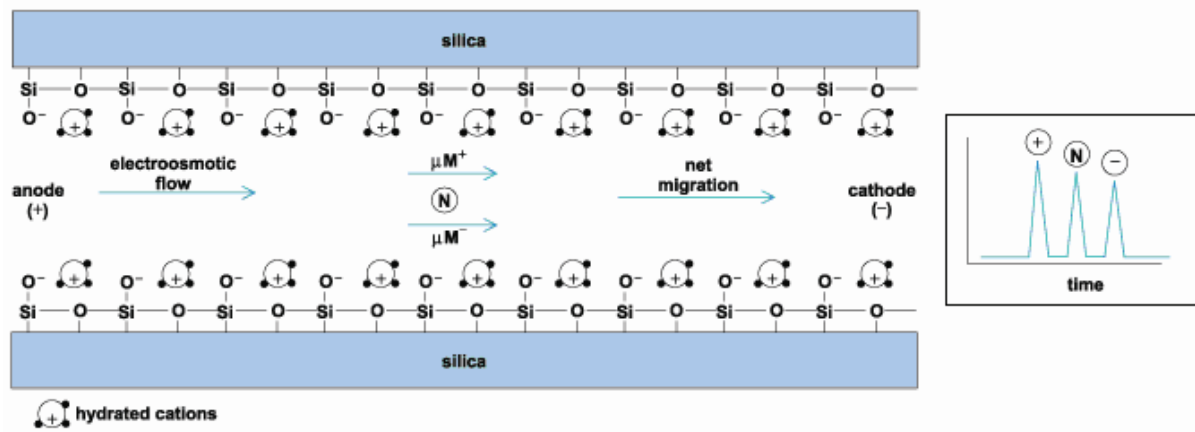
$$v_{eof} = \frac{\varepsilon \cdot \zeta}{\eta} \cdot E \quad \text{nebo} \quad \mu_{eof} = \frac{\varepsilon \cdot \zeta}{\eta}$$

Kde v_{eof} = rychlost, μ_{eof} = „mobilita“ EOF, ζ = zeta potenciál, ε = dielektrická konstanta.

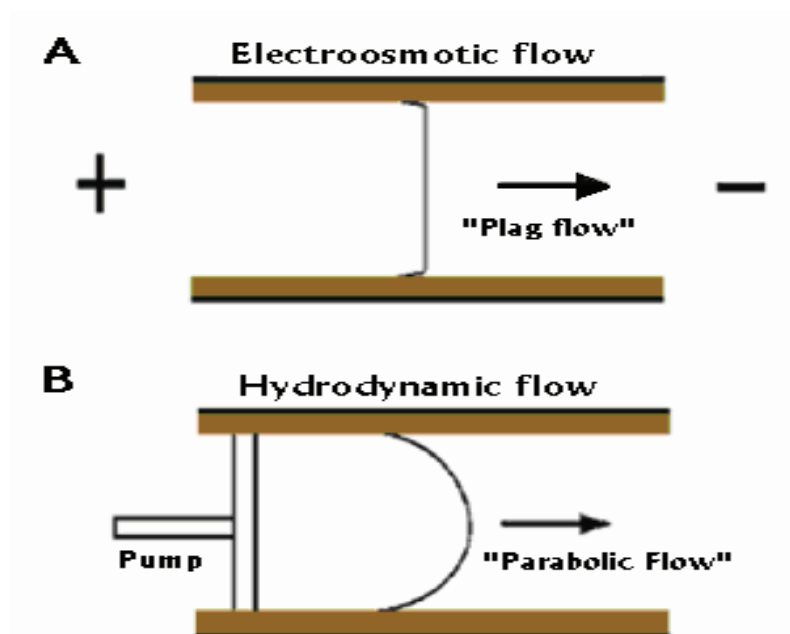
Při vysokém pH, kdy jsou silanolové skupiny převážně deprotonizovány, je EOF výrazně vyšší než při nízkém pH, kde jsou silanolové skupiny protonizovány. V závislosti na specifických podmínkách se může EOF měnit až více jak o řád mezi pH = 2 až 12 [13].

Specifickým rysem EOF v kapiláře je pístový profil toku, jak ukazuje Obr. 3. Proto je hnací síla toku stejnoměrně rozmístěna po celé délce kapiláry, nevyskytuje se zde žádný

pokles tlaku, a tok je téměř jednotný. Píستový profil toku EOF je prospěšný, pokud přímo nepřispívá k rozšíření zóny vzorku. Tím se píستový profil toku liší od profilu toku vznikajícího působením externí pumpou, která vytváří laminární nebo parabolický tok, a to v závislosti na povrchových silách u stěny kapiláry [13].



Obr.č.2: Vznik elektroosmotického toku v kapiláře[14].



Obr.č.3: Píستový profil toku v kapiláře, hnací síla je rozmístěna rovnoměrně [14].

Existence elektroosmotického toku umožňuje v jednom experimentu vzájemně rozdělit a detekovat kationy, aniony i elektricky nenabitě složky vzorku jako neseparovanou skupinu. Elektroosmosa má vliv na rychlost i účinnost separací. Zásadním způsobem ovlivňuje selektivitu separací i výsledné rozlišení migrujících zón.

Elektroosmotický tok lze různě modifikovat. Lze jej potlačit, například pomocí nízkého pH (nedojde k ionizaci silanolových skupin). Další možností je modifikace silanolových skupin, například kovalentním navázáním neutrálního polymeru. EOF lze také otočit, a to pomocí přidavku vhodné látky kationické povahy [12, 13].

2.6.3. Detekce

U kapilární elektroforézy existuje několik možností jak detekovat měřené analyty. Nejpoužívanější jsou optické metody, zejména fotometrická detekce nebo fluorescenční detekce. Do křemenné kapiláry se podle velikosti kapilární kazety udělá výřez (detekční okénko).

Přímá fotometrická detekce

Přímá detekce umožňuje detekovat látky schopné absorbovat UV-VIS záření v rozmezí vlnových délek 200 - 800 nm. Prochází-li záření homogenním roztokem vzorku, dochází k zeslabení jeho intenzity. Velikost zeslabení světla závisí především na tloušťce absorbující vrstvy. V ideálním případě je procházející paprsek absorbován jen detekovanou látkou. V kapilární elektroforéze slouží jako detekční celá část separační křemenné kapiláry o světlosti 75 μm . Při přímé fotometrické detekci je nezbytnou vlastností detekované látky její schopnost absorbovat procházející světlo [14].

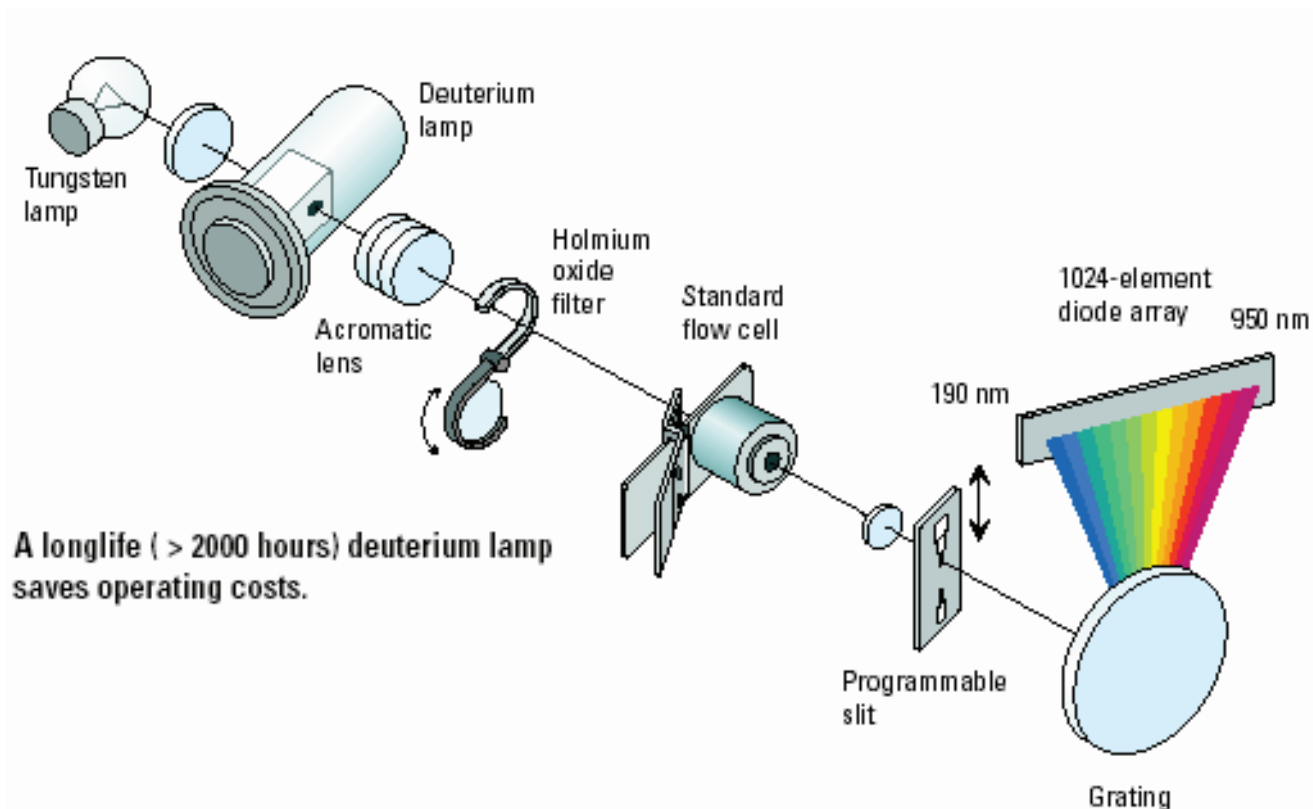
Nepřímá fotometrická detekce

Nepřímá fotometrická detekce byla vyvinuta pro detekci opticky transparentních látek. Při nepřímé detekci musí být složkou základního elektrolytu silně absorbující ion (tzv. probe), který má stejný náboj jako analyt. Detekované ionty nahrazují během elektroforetického transportu iontovou absorbující látku a v detektoru se pokles koncentrace silně absorbujícího iontu projeví zesílením procházejícího světla. Při nepřímé detekci je kritickou vlastností detekované látky polarita jejího náboje, která musí být identická s polaritou náboje probe.

Pro reprodukovatelnost separací pomocí nepřímé detekce je velmi důležité pufrování základního elektrolytu. Jedním z možných způsobů pufrování základního elektrolytu při analýze aniontů je možnost využití absorbujícího iontu i jako pufrující složky, kdy se jako absorbující ion zvolí slabá kyselina (benzoát, ftalát) a pH základního elektrolytu je udržováno blízko pK_a absorbujícího iontu. K nevýhodám tohoto způsobu pufrování však patří částečná ionizace absorbujícího iontu a tedy i jeho nižší mobilita, dále možnost využití pouze pro analýzu aniontů s nižší mobilitou a závislost pufrací kapacity na koncentraci absorbující složky. Pro pufrování základního elektrolytu, který slouží k analýze aniontů pomocí nepřímé detekce, je proto vhodnější použít pufrujícího kationtu, např. Tris nebo triethylamin [14].

UV-VIS detekce

Jak bylo naznačeno výše, nejvyžívanější detekcí v CE je optická detekce, UV-VIS detekce s diodovým polem. K minimalizaci detekčního zkreslení, a tedy k vysoké účinnosti analýz, napomáhá využití části separační kapiláry jako detekční cely. Čím kratší část kapiláry je takto využita, tím méně detekce zkresluje tvar zón. Namísto jednoho měřícího elementu je zde pole měřících elementů, umožňující v jednom okamžiku sejmout UV-VIS spektrum v definovaném rozsahu, jak znázorňuje obrázek č.4 [15].



Obr.č.4: Schéma UV-VIS detektoru s diodovým polem[15].

2.6.4. Vyhodnocení elektroforézy

Výstupní částí elektroforézy je diagram zaznamenávající závislost migračního času látky na absorpci záření při stanovené vlnové délce. Z elektroforegramu můžeme podle migračního času jednotlivých iontů vypočítat jejich mobilitu. Doba separace začíná u vstupní části kapiláry a končí průchodem detekčním okýnkem.

Použitím rovnice číslo X lze pomocí parametrů měření a instrumentálních hodnot přístroje vypočítat elektroforetickou pohyblivost (mobilitu) [15].

$$\mu_{eff} = \frac{v}{E} = \frac{t_m}{U} = \frac{L \cdot l}{U} \cdot \frac{1}{t_m}$$

kde L je celková délka kapiláry, l vzdálenost detekčního okénka od vstupu do kapiláry, U napětí vložené na separační kapiláru ve voltech a t_m je migrační čas analytu separační kapilárou.

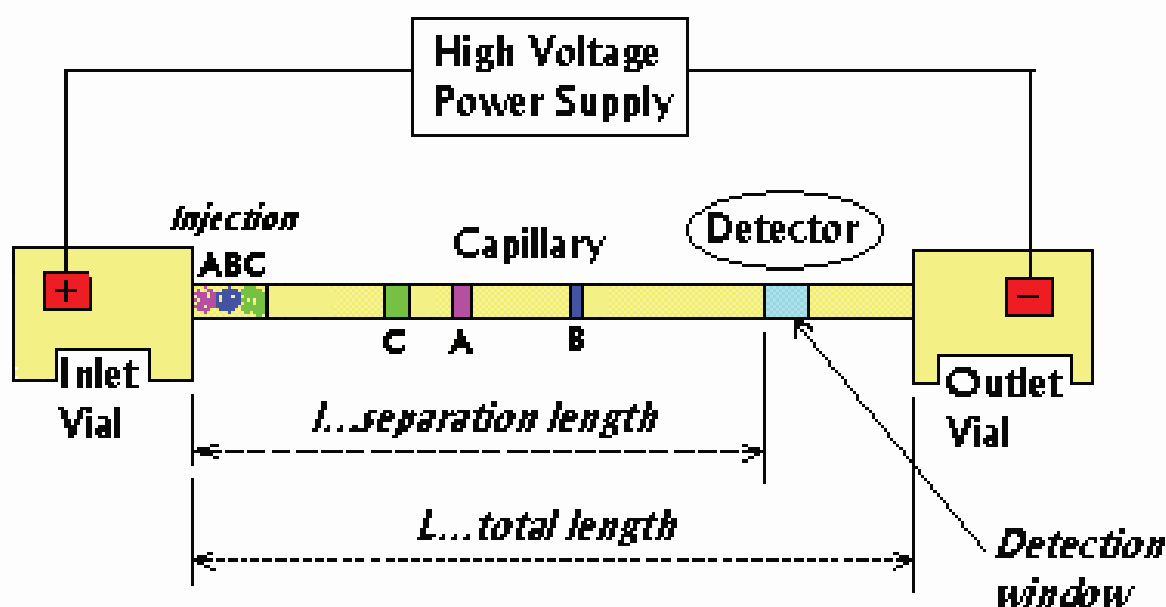
Migrační čas t_m se zjistí integrací jednotlivých píků elektroforegramu [15].

2.6.5. Uspořádání kapilární elektroforézy

V uspořádání kapilární zónové elektroforézy jsou drátové platinové elektrody umístěny v oddělených, zpravidla stejně velkých elektrodových prostorách o objemu mezi 1 – 20 ml. Až

na výjimky se používají kapiláry z vysoce čistého křemene pro optická vlákna, který propouští UV světlo. Celková délka kapiláry L se volí obvykle v rozmezí 25 – 100 cm a nejčastěji používané vnitřní průměry jsou 50 a 75 μm . Ve vnějším polyimidovém pokrytí kapiláry, které zlepšuje mechanické vlastnosti křemenné kapiláry, se zhotovuje detekční okénko pro světelný paprsek procházející kapilárou radiálně. Vzdálenost okénka od vstupu do kapiláry vymezuje separační (efektivní) délku kapiláry l [14].

Standardním prostředím elektroforetické separace je tlumivý vodný roztok o koncentraci 5 mM až 100 mM, k němuž jsou podle potřeby analýzy přidány další složky (tzv. základní elektrolyt, BGE). Základním elektrolytem se plní elektrodové prostory i kapilára. Mezi elektrody se vloží vysoké napětí, zpravidla 10 – 30 kV. Malý objem vzorku, obvykle 10 až 100 nL, je nadávkován do konce kapiláry, která prochází přes detektor. Záznam závislosti odezvy detektoru na čase se nazývá elektroforegram, kde poloha píků určuje kvalitu a plocha nebo výška píků kvantitu [15].



Obr.č.5: Schéma kapilární zónové elektroforézy[15].

2.7. Mobilní analytika

Mobilní analytika byla vyvinuta pro rozšíření možností klasického laboratorního vyšetření. Její hlavní výhodou je mobilnost a rychlost, s níž obdržíte výsledky testů. Lze ji použít zejména tam, kde je zapotřebí rychle zjistit základní parametry vody. Důležitými veličinami jsou v případě této screeningové metody zjišťovaný parametr (analyt), jeho okolí (matrice) a koncentrační rozmezí [19].

Základním principem metod mobilní analytiky je chemická reakce mezi sledovanou látkou a chemickým činidlem, která vede ke vzniku barevné sloučeniny. Stupeň vybarvení lze pak různými způsoby vyhodnotit a určit tak koncentraci výchozí látky obsažené ve vzorku. Mobilní analytika lze zařadit mezi screeningové metody, pomocí kterých můžeme určit nutrienty i některé kontaminanty přímo v terénu. Příslušné sety mobilní analytiky byly sestaveny pro stanovení ve vodě a v půdě. Každý set obsahuje výklad o použité metodě, počtu

stanovení, rozsahu měření, oblastech použití, vlivu cizích iontů na vlastní stanovení, optimální přípravě vzorku a provedení analýzy.

Pro vody jsou nejčastěji používány následující tři typy testů mobilní analytiky.

- Aquaquant^R: Testy pro stanovení velmi nízkých koncentrací. Patentovaný princip vyhodnocení výsledků dovoluje stanovit i obsah škodlivin v pitných vodách. Pro zvýšení přesnosti pracujeme se „slepým“ vzorkem.
- Microquant^R: „Robustní“ hotové testy s barevným komparátorem. Výhodné zejména do provozu a do terénu. Velmi jednoduché provedení. Lze pracovat se „slepým“ vzorkem a zahrnout tak i vlastní zbarvení roztoku nebo zákalu.
- Spectroquant^R: Nejvyšší přesnost, kvalita výsledků i škála možných stanovení. Obsahuje parametry jako chemická spotřeba kyslíku, dusičnany, amoniak, fosforečnany, stanovení kovů nebo aniontaktivních, kationaktivních a neionogenních tenzidů a mnoho dalších. Kromě již klasických setů lze po odpovídající přípravě vzorku stanovit například celkový fosfor, celkový dusík, celkový chrom a jiné [19].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Vzorkování podzemní vody

Složení podzemní vody je v konkrétním místě dáno různými fyzikálními, chemickými a biologickými procesy, a to jak přírodními, tak také antropogenními. Obecně platí, že podzemní voda je v neovlivněném stavu v hydrogeochemické rovnováze s prostředím, ve kterém se vyskytuje. Vývoj složení podzemní vody odráží její pohyb v horninovém prostředí. Kromě laterálních změn složení má v hydrogeochemii zásadní význam vertikální zonálnost. Ta se projevuje nejen u přírodních nekontaminovaných vod, ale především v případech, kdy došlo k antropogennímu znečištění horninového prostředí a podzemní vody. V tomto případě lze zaznamenat zcela zásadní vertikální změny chemismu podzemní vody i v řádu prvních decimetrů [16].

Odběr vzorků vody

Vzorky termální vody mohly být z termálního pramene odebrány až poté, co byla v rámci Jihomoravského kraje povolena roční tlaková zkouška (duben 2010 - duben 2011) síly tohoto termálního pramene, spojená s kontrolou jakosti termální vody. Tato kontrola je zaměřena převážně na hodnocení obsahu dominantních anionů přítomných v této vodě. Bohužel bylo možné odebrat tuto vodu pouze jednorázově, protože nám bylo umožněno provést odběr přímo ze zdroje pouze jedenkrát.

Vzorky vody byly odebrány u pramenu termální vody v Pasohlávkách. Zařízení na odběr bylo již, a to zejména pro účely roční zkoušky, vybaveno čerpacím mechanismem. Během celého roku bude voda, která je odčerpávána, vedena do malého bazénu s průtokovým systémem a zdroj vody bude využíván k rekreačním a relaxačním účelům v nedalekém rekreačním středisku. Provádět odběry z tohoto bazénu však nebylo možné, protože tato voda musí být z hlediska hygienických požadavků ošetřena, což se v tomto rekreačním středisku provádí chlorací.

Prvním krokem při vzorkování bylo několikaminutové vypouštění vody z čerpadla napojeného na vrt (jeho pročištění od usazenin); potom došlo k samotnému odběru vzorků do PET lahví, v časových intervalech (15 min). Celkem byly naplněny čtyři vzorkovnice o objemu 5 l.

Protože bylo účelem stanovit v termální vodě pouze anorganické ionty, nebyla provedena speciální úprava vzorku. PET vzorkovnice byly převezeny do laboratoře a uloženy do chladničky, kde byly až do doby analýzy uchovávány při teplotě 4 °C. Vzorkování vody proběhlo v souladu s příslušnou normou ČSN ISO 5667-18 (Pokyny pro odběr vzorků podzemních vod na znečištěných místech).

Metodický pokyn pro odběr vzorků při průzkumu a sanaci znečištění životního prostředí (dále MP) vychází ze zákona č. 62/1988 Sb., o geologických pracích v platném znění a z prováděcích předpisů, zejména vyhlášky č. 369/2004 Sb. o projektování, provádění a vyhodnocování geologických prací, oznamování rizikových geofaktorů a o postupu při výpočtu zásob výhradních ložisek. Tento metodický pokyn navazuje na Metodický pokyn pro průzkum kontaminovaného území a Metodický pokyn pro analýzu rizik kontaminovaného území, uveřejněných ve Věstníku MŽP 9/2005 v září 2005 [16].

Způsob analýzy vzorků vody

První analýza vzorků byla provedena prostřednictvím testů mobilní analytiky (Microquant^R), a to bezprostředně po příjezdu do laboratoře. Pomocí této screeningové semikvantitativní metody bylo sledováno více iontů, ale vzhledem k tomu, že jsme se při aplikaci rozhodčí metody (kapilární elektroforéza) zaměřili na dominantní ionty sírany, chloridy a dusičnany, jsou ve výsledcích dále uváděny pouze tyto analyty.

Vzorky vody byly zfiltrány přes 0,45 μm PTFE filtr (Labicom, Olomouc, ČR). Přefiltrovaná voda byla rozdělena na dvě části, pro stanovení mobilní analytikou se spektrofotometrickou koncovkou (Spectroquant^R) a pro stanovení kapilární zónovou elektroforézou. Pro tyto účely byla voda převedena do vialek (objem 1,5 ml) určených k analýze na CZE, a to v poměru 1:1 (voda:elektrolyt).

3.2. Instrumentace

Přístroje, chemikálie a ostatní pomůcky, které byly během měření využity, byly poskytnuty Ústavem chemie a technologie ochrany životního prostředí FCH VUT v Brně.

Pro analýzu byly použity následující přístroje:

- kapilární elektroforéza Agilent CE (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo) model G1600A doplněný detektorem Agilent 35900E s diodovým polem, který pracuje od 190 nm do 600 nm;
- křemenná kapilára (MicroSolv Technology Corporation, Eatontown, USA);
- pH metr inoLab s elektrodou (WTW GmbH, Weilheim, Německo), který byl nakalibrován standardními pufrů pH $10,01 \pm 0,02$ a $7,00 \pm 0,01$ (Hamilton Bonaduz AG, Švýcarsko);
- analytické váhy HR-120-EC (A&D Instruments Ltd, Japonsko)
- vysokotlaké čerpadlo Tesla, ČR
- rotační mixér Autovortex SA6
- přístroj pro mobilní analytiku Spektroquant Nova 60 (Merck, Německo)



Obr.č.6: Spektrofotometr pro mobilní analýzu.

3.3. Použité chemikálie

Semikvantitativní testy mobilní analytiky Microquant^R (komplexní postupy jsou součástí příslušného setu).

Pro přípravu standardů byly použity soli jednotlivých aniontů:

- Chloridový ion byl připraven z NaCl (Lachema, Brno, ČR)
- dusičnanový ion z NaNO₃ (LachNer, Neratovice, ČR)
- síranový ion ze síranu sodného (Onex, Rožnov pod Radhoštěm, ČR)

Pro další účely měření byly použity:

- methanol (SigmaAldrich, Steinheim, Německo)
- báze Tris[hydroxymethyl]aminomethan (Sigma, St. Louis, USA)
- mesityloxid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- cetyltrimethylammoniumbromid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- EDTA (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- kyselina pikrová (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- hydroxid sodný (Onex, Rožnov pod Radhoštěm, ČR)
- ethanol (Merck, Damstadt, Německo)
- akrylamid (Sigma, St. Louis, USA)
- γ -methakryloxypropyltrimethosiloxan (Sigma, St. Louis, USA)
- N, N, N', N'-tetramethylethyldiamin (Fluka, Buchs, Švýcarsko)
- K₂S₂O₈, Merk, Německo
- deionizovaná voda (deionizátor QuantumTM EX, Millipore).
- K₂CrO₄ (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- kyselina boritá (Fluka, Buchs, Švýcarsko)

Použité základní elektrolyty:

- 5 mM K₂CrO₄ , 3 mM kyseliny borité, 35 μ M cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB), 12 μ M EDTA. Pomocí NaOH byl chelát nastaven na pH 8,2.
- 11 mM kyselina pikrová jako absorbující aniont, nastavená na pH 7,2 pomocí TRIS ve vodě

3.4. Pokrývání křemenných kapilár polyakrylamidem

Pro potřeby separace aniontu je důležité připravit pokryté kapiláry. Pro tyto účely byly kapiláry pokryty polyakrylamidem (neutrální polymer), který se navázal kovalentně na silanolové skupiny uvnitř kapiláry, EOF je nulový. Rychlost aniontů již není menší než EOF a proto se separují mnohem rychleji než na pokryté kapiláře.

Aktivace:

1. Pomocí 0,5 M roztoku NaOH byla kapilára promývána po celý den, roztok byl nabrán do injekční stříkačky a aplikován na kapiláru pomocí tlaku. Kapilára byla ponechána na stojanu a promývána samovolným průtokem roztoku NaOH gravitačním samospádem. Další den byla kapilára promývána roztokem 0,1 M NaOH, opět pomocí tlaku z injekční stříkačky, pomocí gravitačního samospádu byla promývána tři dny.
2. Po aktivaci NaOH byla kapilára několikrát propláchnuta deionizovanou vodou.
3. Na takto promytou kapiláru byl aplikován 0,5 M roztok HNO₃ a kapilára se aktivovala 7 hodin (gravitačně, s využitím injekční stříkačky)

Silanizace:

Po aktivaci následuje silanizace kapiláry. Čerstvě připraveným γ -methakrylopropyltri-(methoxy)silanu v ethanolu (4 μ l/ml) se nechala kapilára silanizovat, a to po dobu 12 hodin. Směs byla opět ponechána ke gravitačnímu promývání na stojanu (opačný konec kapiláry byl ponořen do roztoku ethanolu).

Dalším krokem po silanizaci bylo promytí kapiláry ethanollem, pomocí tlaku z injekční stříkačky (vždy několik kapek na výstupu).

Všechny promývací roztoky při aktivaci a silanizaci byli předem zfiltrány pomocí mikrofiltru (PTFE 0,45 μ m).

Polymerizace akrylamidem:

Při polymerizaci je důležité dokonalé rozpuštění akrylamidu ve vodě. Deionizovaná voda byla převařena a v ní bylo rozpuštěno:

- 2,1 g akrylamidu
- 30 mg K₂S₂O₈.

Roztok byl dále přefiltrován pomocí mikrofiltru (PTFE 0,45 μ m).

K takto vzniklému roztoku bylo přidáno 40 μ l TEMEDu (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin). Celá směs byla promíchána pomocí ultramixéru AUTOVORTEX SA6. Celý postup je nezbytné provádět v digestoři.

Polymerujícím roztokem byla kapilára naplněna pomocí injekční stříkačky tlakem tak, aby ethanol byl dokonale nahrazen polymerem. V tomto kroku analýzy je velmi důležitá rychlost aplikace roztoku na kapiláru, jelikož dochází k rychlému tunutí polymerační směsi.

Po aplikaci se oba dva konce kapiláry vloží do polymeračního roztoku a ponechají se k aktivaci bez průtoku. Takto polymerovat se kapiláry nechaly vždy jeden den. Potom se kapiláry vyjmuly z polymeračního roztoku a oba dva konce se zavoskovaly; takto připravená kapilára se ponechala v horizontální poloze po dobu jednoho dne.

Vytlačení polymeru z kapiláry:

Vytlačení polymeru z kapilár bylo provedeno pomocí vysokotlakého čerpadla. Kapilára (po odstranění zavoskovaných konců) byla připojena jedním koncem k čerpadlu a druhým

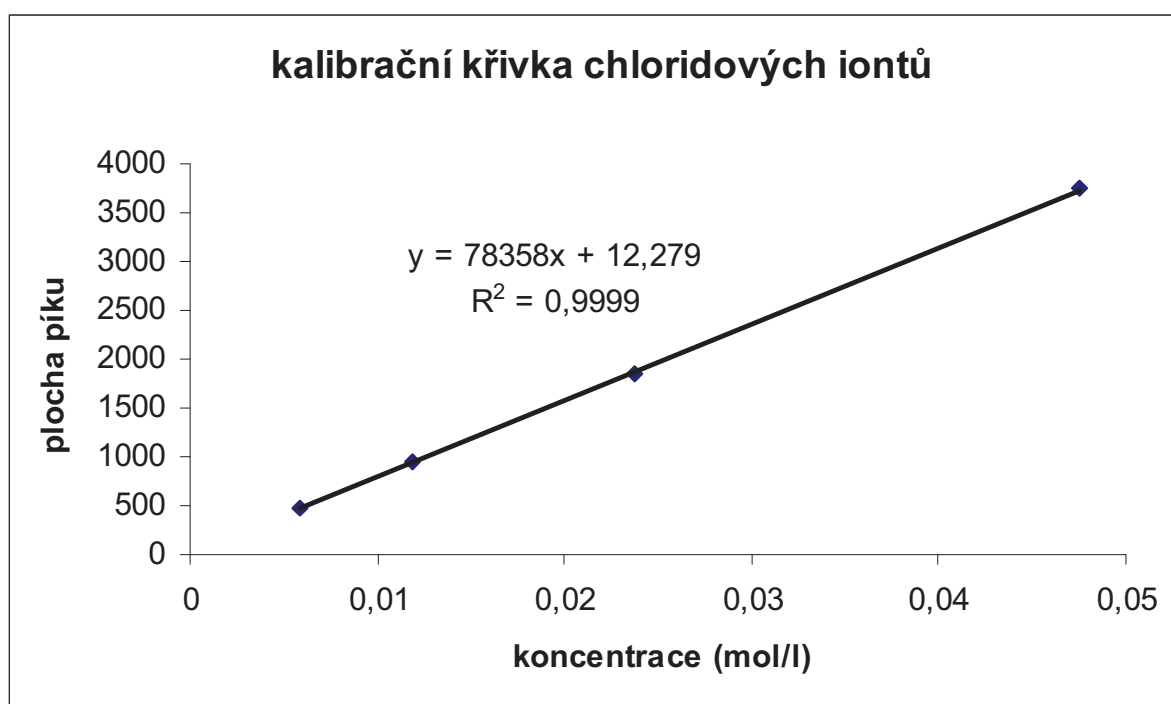
byla ponořena do odpadní kádinky. Na čerpadle byl nastaven tlak 40 MPa a polymer z kapiláry byl vytlačen pomocí deionizované vody; po odstranění polymeru byla kapilára několik hodin promývána vodou.

3.5. Kalibrace standardů anorganických iontů

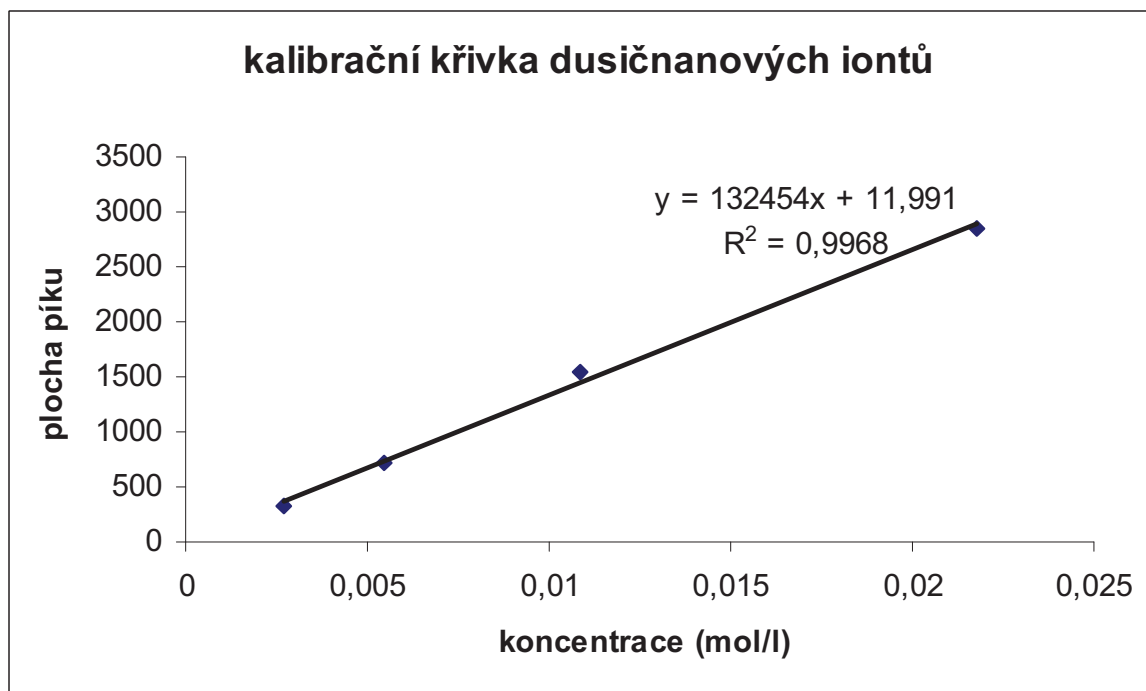
Jako standardy určené pro zhotovení kalibračních křivek byly vybrány pevné, dehydratované sloučeniny jednotlivých aniontů. Základní roztoky o koncentraci 1 g/l byly připraveny do odměrných baněk (100 ml). Pro přípravu standardu chloridových iontů byl použit NaCl, standardu iontů síranu Na_2SO_4 a standard obsahující dusičnanové ionty byl připraven z NaNO_3 .

Prvním bodem kalibrační přímky byl přímo roztok o koncentraci 1 g/l, další body byly vytvořeny již zředěnými roztoky. Pomocí všech standardních roztoků byly sestrojeny kalibrační přímky, a to pro rozhodčí metodu kapilární elektroforézy. Jako základní elektrolyt byla použita kyselina pikrová.

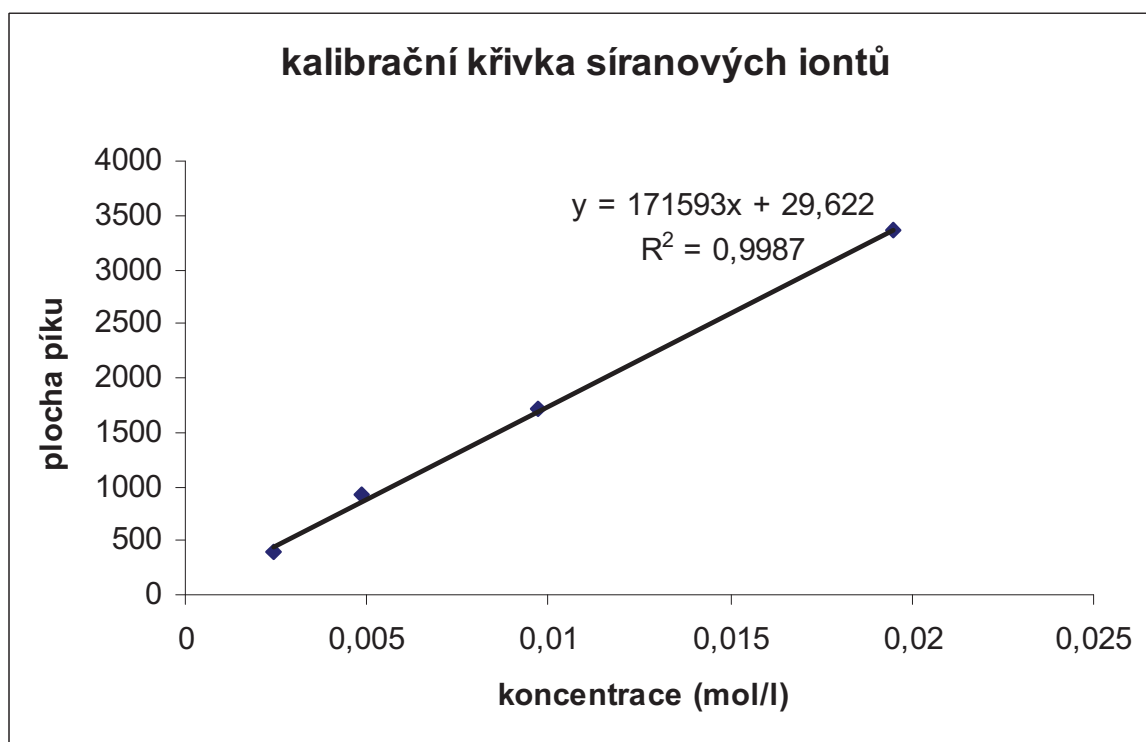
Získané hodnoty byly zpracovány v programu MS Excel, jednotlivé body byly proloženy lineární, regresní přímkou, na základě které byla vypočtena rovnice regrese a koeficient R.



Obr.č.7: Kalibrační křivka chloridového aniontu v kyselině pikrové jako BGE.



Obr.č.8: Kalibrační křivka dusičnanových iontů v kyselině pikrové jako BGE.



Obr.č.9: Kalibrační křivka síranových aniontů v kyselině pikrové jako BGE.

3.6. Separační metody analýzy iontů

Při zpracování této práce byly ověřovány a následně zhodnoceny tři různé postupy pro separaci jednotlivých aniontů pomocí kapilární zónové elektroforézy (CZE). Pro separaci

jednotlivých analytů byly použity jak rozdílné vlnové délky, tak také rozdílné elektrolyty (pro každou metodu jiné BGE).

3.6.1. Metoda souběžné separace aniontu a kationtu pomocí komplexace s EDTA

Princip:

Aniony a kationty mohou být v tomto elektrolytu odděleny pouze v tom případě, jestliže mají střední migrační rychlost. Současného oddělení aniontu a kationtu lze dosáhnout za předpokladu, že migrační rychlost iontů v kapiláře nepřesahuje rychlost elektroforetického toku. Kationty a aniony migrují směrem ke středu kapiláry a jsou zjišťovány přibližně v polovině separační délky kapiláry. Využívá se přitom nepřímé detekce při vlnové délce 254 nm.

Kationty kovů ve vzorku jsou transformovány na jejich cheláty vytvořené s EDTA a od sebe jsou odděleny v negativním režimu [17].

Podmínky měření:

Analýza byla provedena na nepokryté křemenné kapiláře o rozměrech:

- celková délka 53,1 cm
- efektivní délka 44,8 cm
- průměr 75 μm

Pracovní podmínky kapilární elektroforézy Agilent CE byly nastaveny následovně:

- napětí 25 kV
- proud 50 μA
- teplota 25 $^{\circ}\text{C}$
- režim nepřímé detekce
- negativní separační mód (elektrony migrují od katody k anodě)
- vlnová délka na UV-VIS detektoru: 254 nm
- promývání elektrolytem 3 min
- doba nástřiku 5s, hydrodynamicky při zvýšeném tlaku

Měření mobilit proběhlo pro chloridové anionty a pro dusičnanové anionty. Celkový čas detekce byl 12 minut. Jako základní elektrolyt byla použita směs chelátu EDTA, která byla pomocí NaOH nastavena na pH 8,2.

3.6.2. Metoda separace iontů pomocí kyseliny pikrové

Princip:

Další metodou, která byla ověřována pro možnost separace aniontů, využívala kyselinu pikrovou jako základní elektrolyt. Tato kyselina je velmi často využívána pro různé separace iontů v kapilární elektroforéze, a to vzhledem k vyšší absorbuující vlnové délce. Má dostatečně velký molární absorpční koeficient, při vlnové délce absorpčního maxima (354 nm). Rovněž je vhodná pro použití při nepřímých detekcích, kdy zvolené ionty neabsorbují přímo při dané vlnové délce.

Pro účely analýzy byla kyselina pikrová nastavená na pH 7,2, jelikož v prostředí do pH 8 lze velmi dobře separovat anorganické ionty (prostředí pufru). Hodnota pH byla nastavena pomocí TRIS. Elektrolyt byl po navázce kyseliny pikrové doplněn MQ vodou v odměrné baňce. Výsledná koncentrace roztoku elektrolytu byla 11 mM.

Podmínky měření:

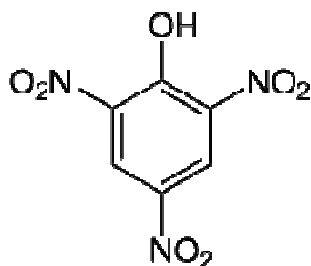
Analýza byla provedena na pokryté křemenné kapiláře o rozměrech:

- celková délka 56,5 cm
- efektivní délka 48,2 cm
- průměr 75 μm

Pracovní podmínky kapilární elektroforézy Agilent CE byly nastaveny následovně:

- napětí 20 kV
- proud 35 μA
- teplota 25 $^{\circ}\text{C}$
- režim nepřímé detekce
- negativní separační mód (elektrony migrují od anody ke katodě)
- vlnová délka na UV-VIS detektoru: 380 nm
- promývání základním elektrolytem 3 min
- doba nástřiku 5 s, hydrodynamicky při zvýšeném tlaku

Měření mobilit proběhlo pro chloridové, dusičnanové a síranové anionty. Celkový čas jedné analýzy byl 8 minut. Základní elektrolyt kyseliny pikrové byl přidán ke každému standardu a vzorku v poměru 1:1.



Obr.č.10: Struktura kyseliny pikrové

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1. Výsledky semikvantitativního stanovení dusičnanů a chloridů pomocí

testu Microquant^R

Jak již bylo řečeno v metodické části, po dopravení vody do laboratoře bylo provedeno semikvantitativní stanovení koncentrace chloridových a dusičnanových anionů pomocí výše specifikovaného testu. Výhodou této screeningové metody je to, že je možné ho použít také v terénu a celý validovaný pracovní postup je součástí návodů přiložených k tomuto testu.

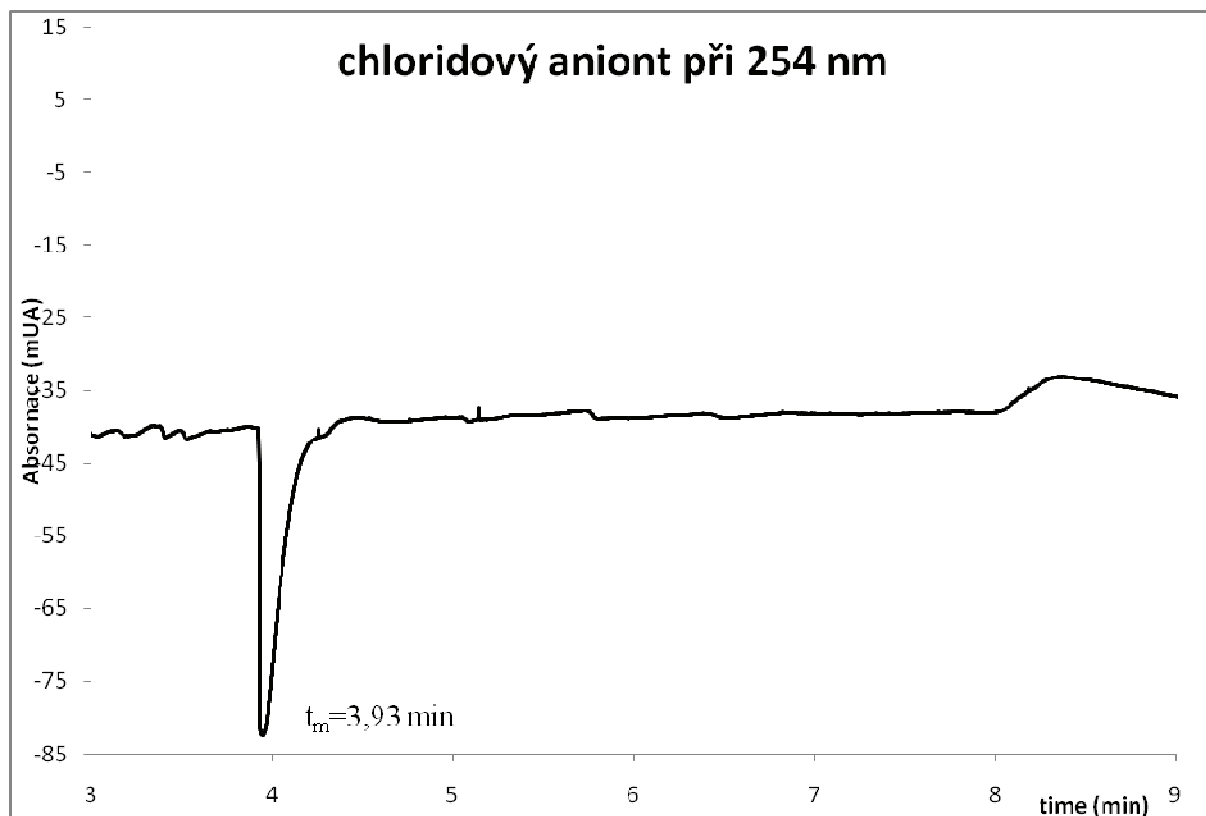
Získané výsledky jsou prezentovány v tabulce 1. Hodnoty koncentrace jsou zde uvedeny v (mg.l^{-1}), jako vzorky 1 – 4 jsou označeny č. odběry prováděné vždy po 15 minutách. Protože jsme neměli k dispozici test na stanovení koncentrace síranů, nebyla tato analýza jako screeningová prováděna.

Tabulka č. 1: Semikvantitativní stanovení chloridů a dusičnanů

Parametr (mg.l^{-1})	1	2	3	4	Průměr
Chloridy	530	650	640	570	598
Dusičnany	3,00	3,00	3,00	4,00	3,25

4.2. Výsledky experimentu separace aniontů pomocí tvorby komplexu s EDTA

Tento experiment byl založen na základě informací z literatury; celý pracovní postup byl v tomto případě převzatý z příslušné publikace [17]. Základní elektrolyt i všechny ostatní chemikálie byly připraveny podle zde deklarovaného návodu. Směs EDTA s CTAB byla vybrána proto, že by měla umožňovat separaci iontů již při vlnové délce 254 nm. Pomocí této metody je možné separovat jak anionty, tak kationy, a to i dvojmocné. V rámci postupu dochází ke tvorbě komplexu s chelátem EDTA, přičemž vznikají cheláty jednotlivých kationtů ($[\text{Ca-EDTA}]^{2-}$, $[\text{Mn-EDTA}]^{2-}$, $[\text{Mg-EDTA}]^{2-}$). Metoda nepřímé detekce je využita především z toho důvodu, že anionty neabsorbují nad vlnovou délku 200 nm.



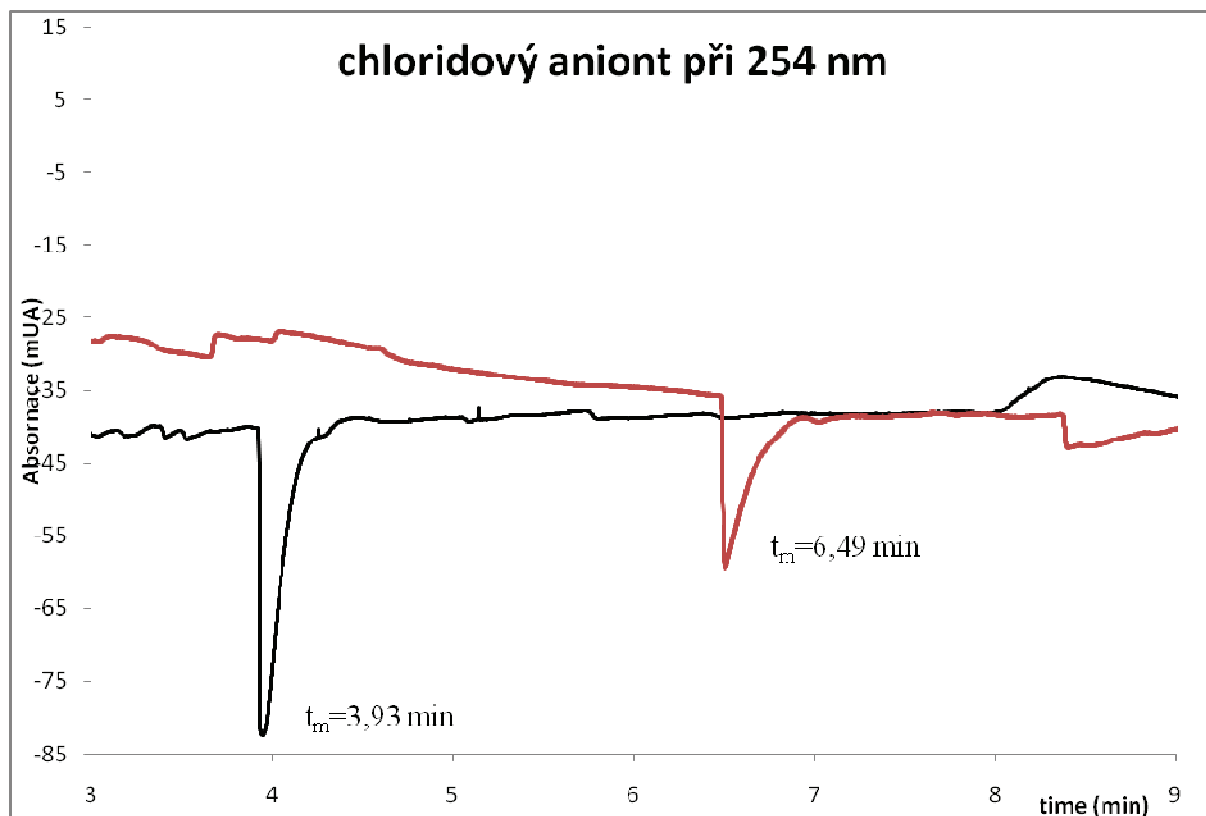
Obr.č.11: Separace chloridového aniontu. Elektrolyt: 5 mM K_2CrO_4 , 3 mM kyselina boritá, 35 μM (CTAB), 12 μM EDTA. Pomocí NaOH bylo nastaveno pH na 8,2. CE podmínky: napětí 25 kV, nástřik 5s, nepřímá detekce.

Během tohoto měření sice došlo k separaci chloridového iontu bez problému, avšak po výpočtu mobility bylo zjištěno, že tato hodnota nesouhlasí s tabelovanou hodnotou mobility pro chloridový iont, jak je prezentováno v tabulce č.2. Během měření byla rovněž prokázána značná nestabilita elektrického proudu i napětí; obě tyto hodnoty začaly klesat přibližně po druhé minutě analýzy. Jako standard byl při tomto měření použit 11 mM roztok NaCl; protože analýza probíhala při negativním módu, rušivý vliv kationtu nebylo možné vyloučit.

Tabulka č.2: Srovnání naměřených mobilit s tabelovanými hodnotami.

iont	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	tabelovaná mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)
chloridový	3,93	-43,2	-67

Následující den bylo provedeno měření za zcela shodných podmínek, avšak výsledný separovaný chloridový iont se výrazně posunul směrem doprava (jeho migrační čas se zpomalil). Pro srovnání byla zobrazena obě měření v jednom diagramu. Aniont se separoval o 2,56 min pomaleji, než den předtím. Elektrický proud i napětí opět klesalo přibližně po druhé minutě analýzy.



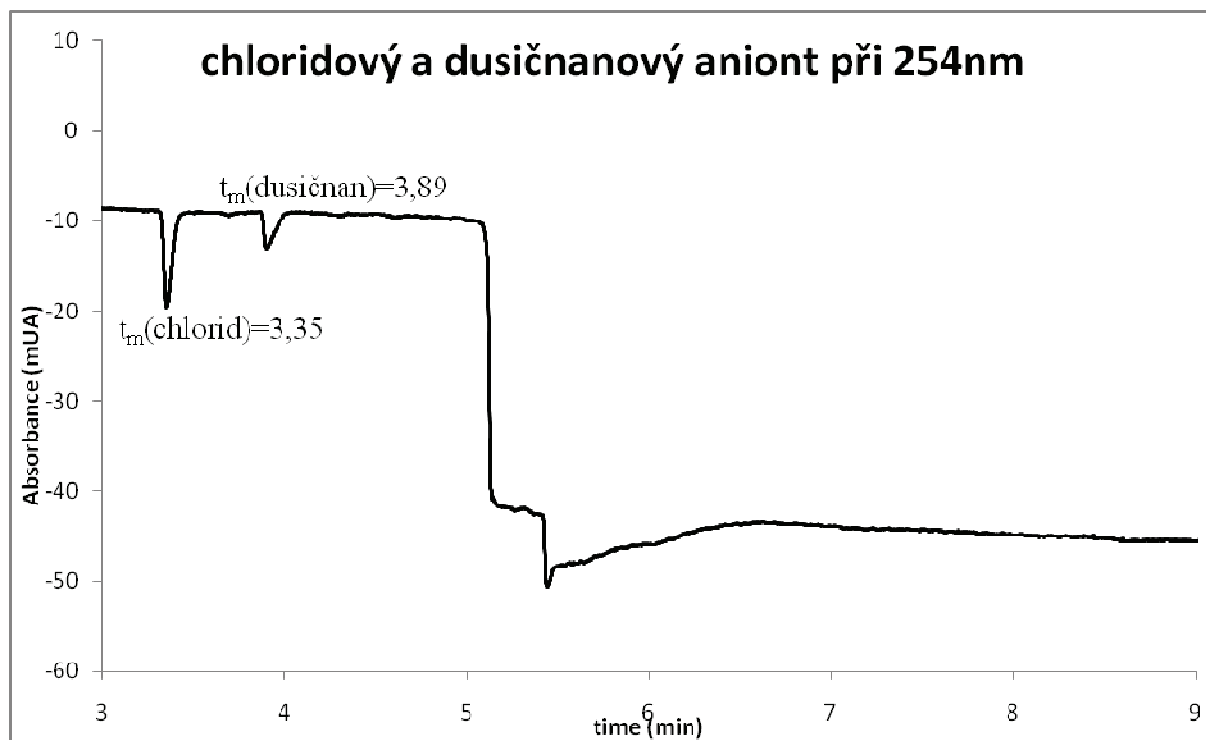
Obr.č.12: Separace chloridového aniontu. Elektrolyt: 5 mM K_2CrO_4 , 3 mM kyselina boritá, 35 μM (CTAB), 12 μM EDTA. Pomocí NaOH bylo nastaveno na pH na 8,2. CE podmínky: napětí 25 kV, nástřik 5s, nepřímá detekce.

Porovnání separace chloridového aniontu, při shodných podmínkách; o 24 hodin později.

Ani po zpomalení iontu se jeho mobilita nepřiblížila k tabelované hodnotě, naopak mobilita ještě více klesla. Zjištěné hodnoty jsou prezentovány v tabulce č.3, kde první hodnota chloridového iontu je z prvního dne měření a druhá z dalšího dne.

Tabulka č.3: Srovnání naměřených mobilit s tabelovanými hodnotami.

iont	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	tabelovaná mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)
chloridový1	3,93	-43,2	-67
chloridový2	6,49	-24,4	-67



Obr.č.13: Separace chloridového aniontu společně s dusičnanovým aniontem. Elektrolyt: 5 mM K_2CrO_4 , 3 mM kyselina boritá, 35 μM (CTAB), 12 μM EDTA. Pomocí NaOH bylo nastaveno pH na 8,2. CE podmínky: napětí 25 kV, nástřik 5s, nepřímá detekce.

Protože nám tato metoda umožňuje separovat několik aniontů vedle sebe, byl ke standardu chloridu přidán standard dusičnanového iontu (ze zásobního roztoku $NaNO_3$). Separace proběhla za předpokladu, že první se bude separovat chloridový aniont a následně aniont dusičnanový. Problém s elektrickým proudem a napětím byl stejný jako u měření prováděného předtím. Oba dva ukazatele se nepodařilo ustálit ani při opakovaných měřeních. Z diagramu č.13 je rovněž zřetelně vidět, že základní linie (baseline) elektroforézy se prudce vychýlila z ustálené hodnoty po páté minutě analýzy, pravděpodobně v důsledku interakcí obou iontů na BGE při kolísavém napětí.

Mobilitní hodnoty se i v tomto případě značně odlišovaly od tabelovaných hodnot, jejich vypočtené hodnoty jsou prezentovány v tabulce č. 4.

Tabulka č.4: Srovnání naměřených mobilit s tabelovanými hodnotami.

iont	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	tabelovaná mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)
chloridový	3,35	-47,3	-67
dusičnanový	3,89	-40,8	-74

Zhodnocení metody

Metodu tvorby komplexu s EDTA nelze použít jako vhodnou pro analýzy námi sledovaných anionů. Zvláště nestandardní bylo neustálé kolísání napětí a zejména posuny migračních časů o řádově minuty, což je při separaci kapilární zónovou elektroforézou nepřipustné. Protože však bylo měření prováděno na nepokryté kapiláře, lze se domnívat, že

ionty se navazovaly na silanové skupiny křemenné kapiláry a takto brzdily vlastní separaci. Kromě toho je nutné upozornit také na to, že základní elektrolyt byl složen z více druhů látek, které mohou reagovat s roztoky standardů a vytvářet tak nežádoucí sloučeniny.

Nestabilita nulové linie je také důvodem, proč byla zvolena další metoda měření. Začátek nulové linie byl téměř po každé analýze na jiných počátečních hodnotách na stupnici s mAU, i když veškeré podmínky analýzy byly zachovány. Během několika měření docházelo i k „propadu“ základní linie o 60 i více jednotek mAU. Lze předpokládat, že hlavní příčinou mohou být interakce jednotlivých částí elektrolytu mezi sebou; na každém místě kapiláry nebyly stejné podmínky pro separaci.

Metoda byla zopakována přibližně po měsíci na odlišné nepokryté kapiláře o stejných parametrech, avšak bylo zjištěno, že již deklarované problémy přetrvávaly.

4.3. Výsledky experimentu s kyselinou pikrovou

V rámci tohoto experimentu byly posuzovány celkem tři pokryté kapiláry; bohužel se prokázalo, že první dvě kapiláry nebyly kvalitně pokryty polyakrylamidem. Po přidavku mezotyloxidu k roztoku základního elektrolytu se po několikahodinovém měření projevil elektroosmotický tok (EOF), který je u pokrytých kapilár nežádoucí, protože ovlivňuje migrační časy analytů. U třetí kapiláry, pomocí které byly změřeny standardy i vzorek analyzované vody se EOF neprojevil, v kapiláře byl nulový náboj, což znamená, že bylo dosaženo ideálních podmínek pro použití kyseliny pikrové jako BGE.

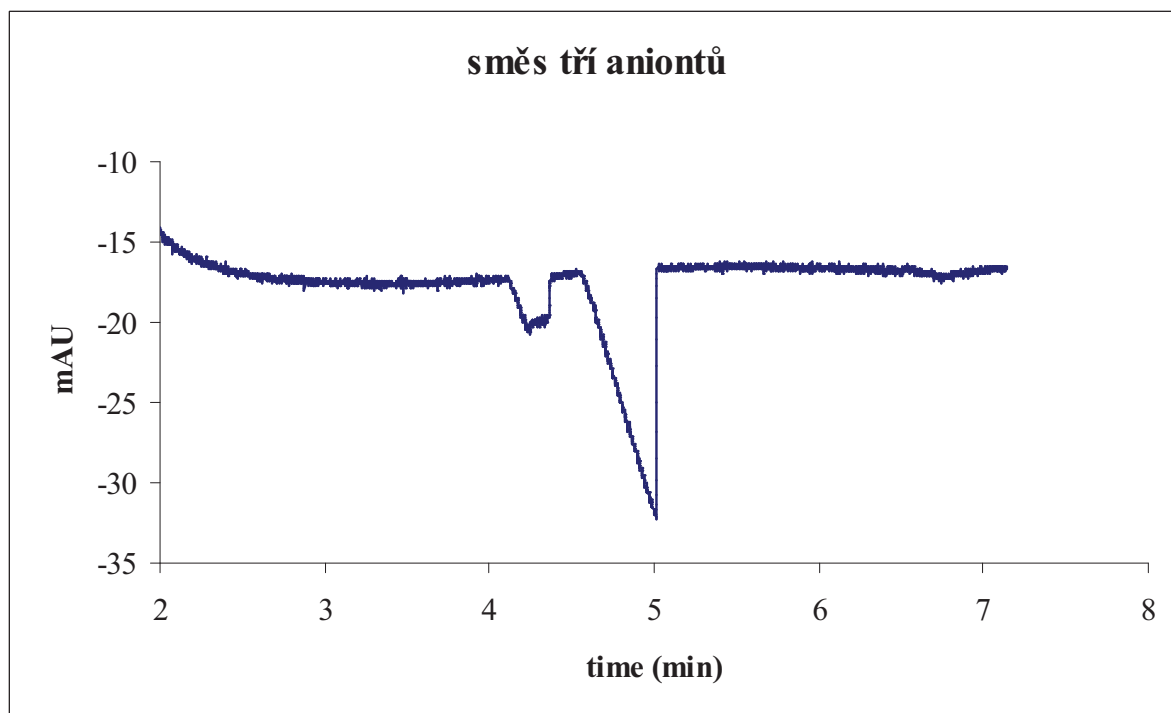
Pro jednotlivé migrační časy byly po integraci píku vypočteny mobility, které jsou prezentovány v tabulce 5.

Tabulka č.5: Migrační časy a mobility pro anionty separované v kys.pikrové.

iont	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	koncentrace (mol/l)
chloridový	4,698	48,3	0,00296
dusičnanový	5,339	42,5	0,00272
síranový	5,367	42,3	0,00243

Z mobilit iontů v tabulce uvedených jednoznačně vyplývá, že se vyskytují velmi blízko sebe. Na základě toho mají dusičnanové a síranové ionty skoro stejnou mobilitu, a proto je velmi složité oddělit je vedle sebe ve stejném vzorku.

Analýza směsného standardu těchto iontů potvrdila, že oddělit dusičnany a sírany pomocí této použité kapiláry je nemožné. Diagram tohoto měření je níže.



Obr.č.14: Separace chloridových, dusičnanových a síranových iontů. Elektrolyt: 11 mM kyselina pikrová jako absorbující aniont, nastavená na pH 7,2 pomocí TRIS ve vodě. Vlnová délka 380 nm.

Z diagramu prezentovaném na tomto obrázku je patrné splynutí síranových a dusičnanových iontů; při porovnání migračních časů lze konstatovat, že první pík odpovídá chloridovým iontům (migrační čas 4,45 min) a druhý má migrační čas 5,03 min. V průběhu analýzy došlo k mírnému zrychlení těchto dvou iontů. Dále lze říci, že díky sloučení v jeden pík je druhý pík přibližně dvakrát větší než pík chloridový. Tomu odpovídá cca součet koncentrací síranových a dusičnanových iontů.

Směs byla analyzována celkem třikrát a výstupem byl vždy shodný elektroforegram. Pro následující analýzu byl roztok více zředěn, a to za účelem lepší separace dvou totožných iontů. Výsledek však nebyl příznivý ani v tomto případě, protože opět nedošlo k rozdělení obou iontů.

Tabulka č.6: Migrační časy a mobility iontů ve směsi tří iontů.

iont	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	koncentrace (mol/l)
chloridový	4,45	50,99	0,00296
dusičnanový	5,03	45,12	0,00272
síranový			0,00243

Zhodnocení metody

Tato metoda byla vybrána jako nejvhodnější k analýze vzorků termální vody. Bylo zjištěno, že v tomto případě nedocházelo k výkyvům elektrického proudu ani napětí. Nulová linie byla rovná a nekolísala, jak tomu bylo u předešlé metody. Také bylo ověřováno několik způsobů rozdělení společného píku dusičnanů a síranu:

- úprava doby nástřiku - původní čas nástřiku byl upraven z 5 na 3 s, avšak s negativním výsledkem;
- úprava pH roztoků elektrolytu a standardu – protože pH do značné míry ovlivňuje separaci, první metoda byla prováděna v prostředí o pH 7,2. Úpravou pH na 8 (přídavkem NaOH) k BGE byl očekáván větší „rozestup“ iontů mezi sebou na nulové linii, avšak výsledek byl opačný a získaný elektroforegram zůstal nezměněn;
- zředění původních roztoků standardu – i když byly roztoky standardů aniontů zředěny až dvaceti násobně, nedošlo ani v tomto případě k oddělení iontů.

Na základě velmi podobné mobility dusičnanových a síranových iontů nebylo možné je oddělit jednotlivě. Použitá křemenná kapilára byla dost dlouhá, aby došlo k optimální separaci. Na základě poznatků získaných při studiu literatury a v rámci prováděných experimentů lze konstatovat, že delší kapiláry by se velmi obtížně instalovaly do kazety přístroje Agilent CE.

Během měření nedocházelo k tvorbě „nežádoucích“ píků vlivem reakce elektrolytu s prostředím standardu.

4.4. Analýza vzorku termální vody spektrofotometricky

Analyzovaná voda byla odebrána přímo z termálního vrtu, a v době provádění analýzy byla uchovávána v chladničce. Před vlastní analýzou byly posouzeny základní vlastnosti termální vody. Bylo konstatováno, že voda silně zapáchala po sirovodíku, protože analyzovaný termální pramen byl podzemní, zákal byl nulový.

Díky přítomnosti operátora majícího na starosti tento vrt při odběru vzorků, nelze předpokládat jakékoliv znečištění a znehodnocení analyzovaných vzorků.

Tabulka č.7: Základní vlastnosti analyzované vody.

teplota (při vzorkování)	43,6 °C
pH	8,3

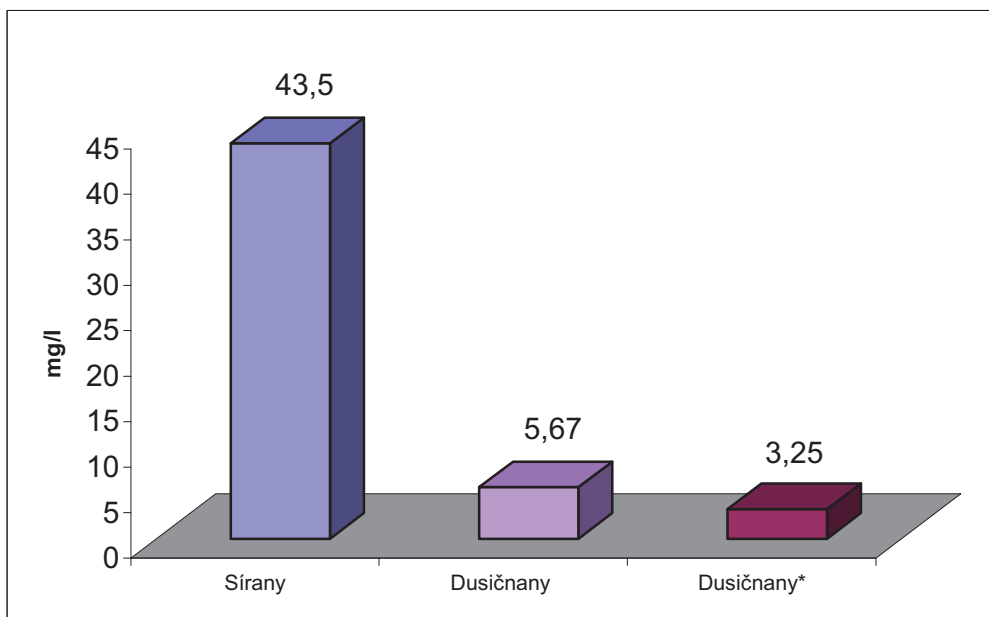
Při analýze reálného vzorku byl očekáván podobný průběh elektroforegramu, jako v případě směšného standardu. Předpokládalo se proto, že nedojde k úplné separaci dusičnanových a síranových iontů.

Na základě toho byla pro confirmaci použita další metoda, a to mobilní analytika se spektrofotometrickou koncovkou pomocí přístroje Spektroquant Nova 60. Získané výsledky jsou prezentovány v tabulce č. 8.

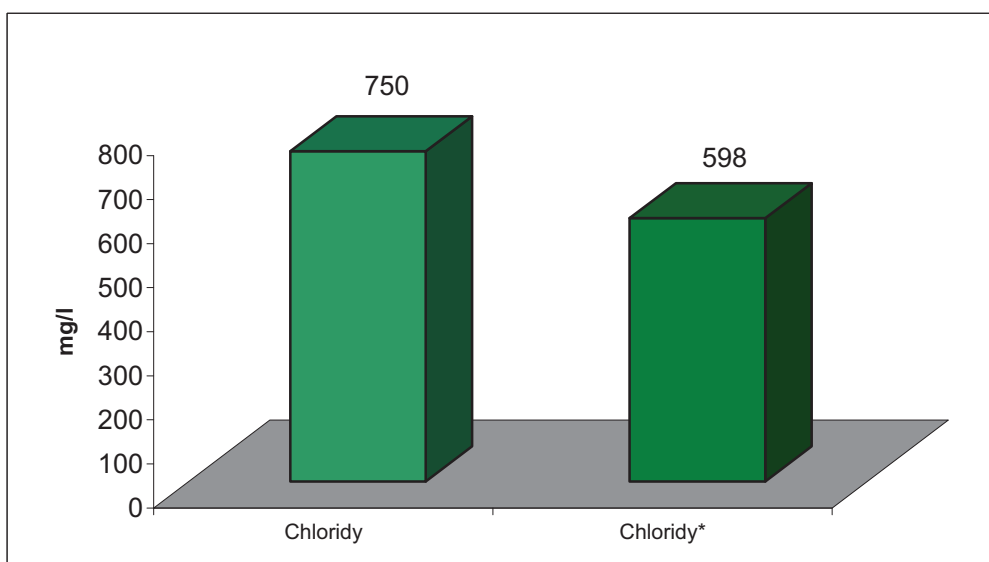
Tabulka č. 8 Stanovení vybraných aniontů spektrofotometricky

Parametr (mg.l ⁻¹)	1	2	3	4	Průměr
Sírany	34,0	39,0	63,0	38,0	43,5
Chloridy	750	750	750	750	750
Dusičnany	5,00	5,00	5,00	7,00	5,67

Také v této tabulce jsou uvedeny koncentrace síranů, chloridů a dusičnanů ze všech čtyř časově posunutých odběrů. Pro přehlednost byly výsledky prezentované v této tabulce zpracovány do dvou grafů (obrázek č.15 a obrázek č. 16). Z prvního obrázku je zřejmé, že koncentrace síranů je téměř desetkrát větší než koncentrace dusičnanů. To může být také příčinou, proč nelze tyto aniony odseparovat pomocí metody vypracované pro CZE. Třetí sloupec tohoto grafu představuje koncentraci dusičnanů zjištěnou pomocí semikvantitativního testu mobilní analytiky.



Obr.č.15: Průměrné koncentrace vybraných anionů termální vody zjištěné pomocí mobilní analytiky se spektrofotometrickou koncovkou.



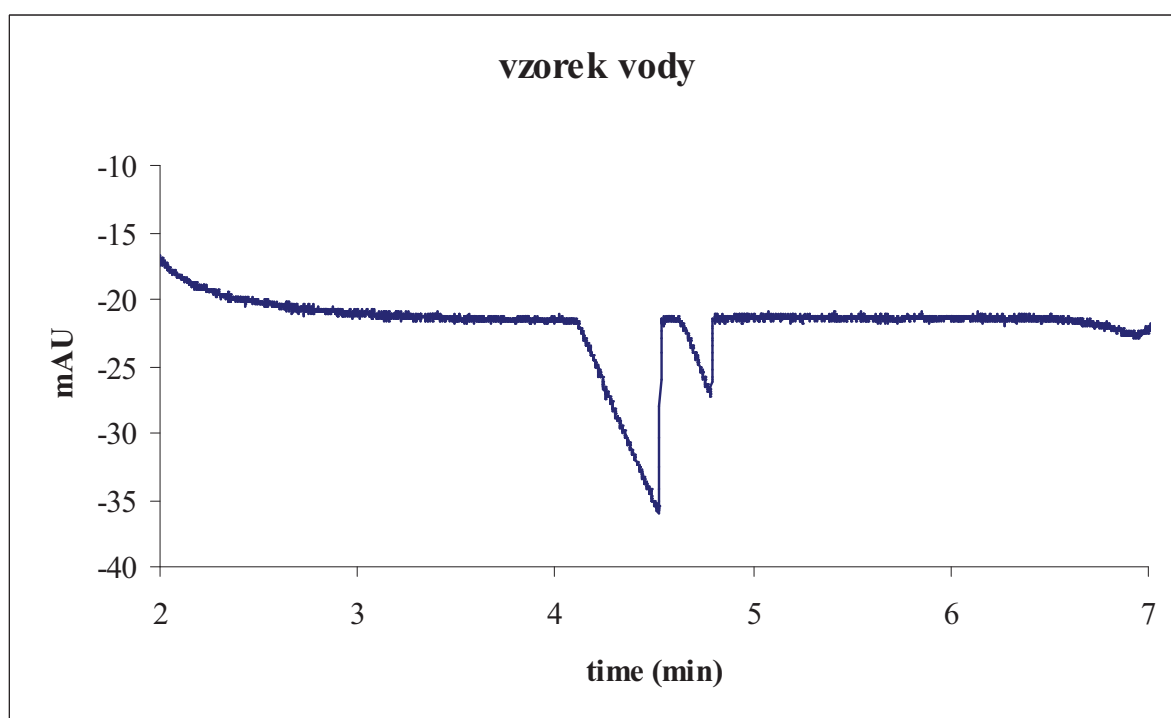
Obr.č.16: Průměrné koncentrace vybraných anionů termální vody zjištěné pomocí mobilní analytiky se spektrofotometrickou koncovkou.

Prostřednictvím druhého grafu byly porovnány koncentrace chloridů; první sloupec představuje koncentraci stanovenou spektrofotometricky, druhý hodnotu prokázanou pomocí semikvantitativního testu mobilní analytiky. Také v tomto případě lze konstatovat, že semikvantitativně určená koncentrace byla nižší, stejně jako koncentrace dusičnanů zobrazená na předchozím grafu.

4.5. Analýza vzorku termální vody pomocí CZE

Při vlastní analýze se postupovalo tak, že 10 ml vzorkované vody bylo převedeno do odměrné baňky (100 ml); tato voda byla doplněna MQ vodou. Vzorek vody byl zředěn proto, aby se docílilo lepší reprodukovatelnosti píků ve výsledném elektroforegramu. Takto naředěný vzorek byl dále analyzován.

Analýzovaný vzorek byl opět připraven v poměru 1:1 (BGE:voda). Vzorek vody ve vialce musel být před analýzou řádně promíchán, řádově několik minut na mixéru. Důvodem bylo to, že obsahoval větší množství rozpuštěného oxidu uhličitého, který by mohl způsobit nepřesnost měření a také ucpání kapiláry.



Obr.č.17: Analýza vzorku vody (10x zředěný). Elektrolyt: 11 mM kyselina pikrová jako absorbující aniont, nastavená na pH 7,2 pomocí TRIS ve vodě. Vlnová délka 380 nm.

Na elektroforegramu jsou opět patrné pouze dva píky; dle očekávání se neseperoaly dusičnanové a síranové ionty zvlášť, a to ani po zředění vzorku. Průběh analýzy byl podobný jako u měření směšného standardu. I v tomto případě lze konstatovat, že proud i napětí si po dobu měření držely konstantní hodnoty.

Každý vzorek byl měřen celkem třikrát, jednotlivé hodnoty jsou zpracovány do příslušných tabulek č. 9 a č. 10, kde jsou uvedeny migrační časy a mobility vypočtené pro jednotlivé píky.

Tabulka č.9: Hodnoty migračních časů a mobilit prvního píku vzorku vody.

vzorek	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)
1	4,53	50,09
2	4,52	50,21
3	4,52	50,21

Tabulka č.10: Hodnoty migračních časů a mobilit druhého píku vzorku vody.

vzorek	migrační čas (min)	mobilita ($\mu \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)
1	4,81	47,18
2	4,79	47,38
3	4,82	47,08

Z tabulky zpracované pro první pík je zřejmé, že jako první aniont se separoval chloridový aniont. Mobilita chloridového iontu ve standardu byla $50,99 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$, mobilita ve vzorku $50,21 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$. Lze proto jednoznačně konstatovat, že se jednalo o tento anion.

Na základě hodnot uvedených v tabulce č. 10 pro druhý pík vyplývá, že v tomto případě nelze jednoznačně stanovit, o jaký iont se jedná. Zvolená metoda kapilární zónové elektroforézy nám neumožňuje příslušné ionty oddělit na použité kapiláře, a to ani na základě porovnání mobilit nebo pomocí šířky píku.

4.6. Výpočet koncentrací iontů ve vzorku

Jako způsob výpočtu koncentrace iontu ve vzorku se používá při aplikaci této metody integrace píku elektroforegramu. Plocha zjištěného píku se použije v rovnici lineární regrese kalibrační přímky iontu. Jednoduchým výpočtem se potom stanoví koncentrace iontu ve vzorku.

Při výpočtu bylo postupováno tak, že ze třech měření byl proveden aritmetický průměr ploch píku; tato hodnota byla dále používána pro výpočet koncentrace.

Přestože v případě druhého píku nedošlo k jednoznačnému rozdělení obou anionů, lze na podkladě posouzení jakosti vody i poměru koncentrací obou anionů pomocí mobilní analytiky konstatovat, že druhý pík s největší pravděpodobností odpovídá koncentraci síranových iontů. Pomocí mobilní analytiky se spektrofotometrickou koncovkou bylo zjištěno, že poměr koncentrací obou iontů je cca 8 : 1 ve prospěch síranového aniontu. Kromě toho je také znovu nutné uvést, že vzorkovaná termální voda má charakteristický zápach vod obsahujících síru. Na základě tohoto předpokladu byla vypočtena koncentrace síranových aniontů ve vzorku.

Tabulka č.11: Plochy píku pro první, chloridový aniont.

vzorek	plocha píku
1	188,3
2	187,1
3	185,9

průměr	187,1
--------	-------

Regresní rovnice chloridových iontů (z kalibrační křivky):

$$y = 78358x + 12,279$$

Tabulka č.12: Koncentrace chloridových iontů ve vzorku.

vzorek	molární koncentrace (mol/l)	hmotnostní koncentrace (mg/l)
1	0,022464	786,2
2	0,022311	780,9
3	0,022157	775,6
průměr	0,022311	781,0

Tabulka č.13: Plochy píku pro síranový aniont.

vzorek	plocha píku
1	41,5
2	40,8
3	41,7
průměr	41,3

Regresní rovnice síranových iontů (z kalibrační křivky):

$$y = 171593x + 29,622$$

Tabulka č.14: Koncentrace síranových iontů ve vzorku.

vzorek	molární koncentrace (mol/l)	hmotnostní koncentrace (g/l)
1	0,000692	55,38
2	0,000651	52,11
3	0,000704	56,31
průměr	0,000683	54,60

5. ZÁVĚR

V průběhu řešení diplomové práce byla zpracována literární rešerše, zaměřená na problematiku termálních pramenů a na jejich následné využití pro relaxačně terapeutické účely. Na základě platné legislativy lázeňského zákona (423/2001), byla vybrána hlavní kritéria pro posouzení vhodnosti přírodního pramene k léčebným účelům.

Z lokality Pasohlávek byly odebrány vzorky termální vody, a to v souladu s příslušnou metodikou podle ČSN ISO 5667-18 (Pokyny pro odběr vzorků podzemních vod na znečištěných místech).

Byla ověřována a následně vypracována vhodná metoda pro stanovení dominantních iontů posuzovaných v termálních vodách. Pro vlastní analýzu reálných vzorků termální vody byly použity semikvantitativní test na bázi mobilní analytiky Microquant^R, mobilní analytika se spektrofotometrickou koncovkou a kapilární zónová elektroforéza. Veškeré tyto postupy byly aplikovány při stanovení koncentrací chloridů, síranů a dusičnanů.

Při optimalizaci kapilární elektroforézy byly vyzkoušeny dvě odlišné metody separace iontů v elektrickém poli. Každá metoda měla jiný specifický základní elektrolyt.

- metoda separace iontů tvorbou komplexů s EDTA, elektrolyt: 5 mM K_2CrO_4 , 3 mM kyseliny borité, 35 μ M cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB), 12 μ M EDTA. Pomocí NaOH nastaven na pH 8,2;
- metoda separace iontů s kyselinou pikrovou, elektrolyt: 11 mM kyselina pikrová jako absorbující aniont, nastavená na pH 7,2 pomocí TRIS ve vodě.

První metoda, pomocí které byly analyzovány standardy jednotlivých iontů, se ukázala být jako nevhodná pro separaci iontů. Vlastní průběh měření byl nestálý, projevovala se velká nestabilita elektrického proudu a napětí a pravděpodobně díky vedlejším chemickým reakcím elektrolytu se standardy v kapiláře nebylo možné použít tuto metodu následně pro stanovení anionů v reálném vzorku vody. Měření prováděná touto metodou byla také velmi nestandardní, docházelo ke zpomalování jednotlivých iontů. Nulová linie nebyla při měření ustálená a po každém měření měla jiný tvar.

Metoda separace s kyselinou pikrovou jako BGE byla zvolena po odmítnutí první ověřované metody. Po několika analýzách bylo konstatováno, že tato metoda je vhodná pro separaci aniontů ve vodných roztocích. Migrační časy byly pro jednotlivé anionty stálé, bez větších rozdílů po několika, po sobě jdoucích analýzách.

Vzorek termální vody z Pasohlávek byl proto analyzován pomocí druhé metody vypracované pro CZE. Následně byly vyhodnoceny výchozí elektroforegramy, ze kterých byly stanoveny koncentrace chloridových a síranových iontů. Díky mobilní analytice, která byla použita jako konfirmační metoda, byly zjištěny velmi nízké koncentrace dusičnanů, a proto byl druhý pík na elektroforegramu dále hodnocen pouze jako aniont síranový.

Bylo prokázáno, že koncentrace chloridových anionů zjištěná v termální vodě se pohybovala v rozmezí 775,5 až 786,2 mg/l a koncentrace síranových anionů v rozmezí 52,11 až 56,31 mg/l. Pomocí spektrofotometrické metody byla koncentrace následující: chloridy 750 mg/l a sírany 43,5 mg/l.

Z hodnot stanovených v rámci této diplomové práce lze na základě kritérií platných od 1. 1. 2002 (viz příloha č. 1 Vyhlášky č. 423/2001 Ministerstva zdravotnictví ze dne 20. 11. 2001), zhodnotit vhodnost termální vody pro lázeňské účely.

Obsah rozpuštěných minerálních látek se pohybuje v rozmezí 500-1500 mg/l, tomu odpovídají středně mineralizované vody. Teplota termální vody na výstupu je 43,6 °C, voda je podle platné legislativy hodnocena jako termální, horká voda. Voda má pH 8,3 a řadí se proto mezi silně alkalické termální prameny.

Na základě těchto poznatků je možné daný pramen v lokalitě Pasohlávky považovat za termální pramen vhodný k relaxačním a terapeutickým účelům. Jedná se o minerální pramen s vysokým obsahem chloridových iontů a větší koncentrací síranových sloučenin.

Předložená diplomová práce představuje pouze pilotní studii, na základě které budou prováděny nové analýzy, a to s využitím dalších progresivních analytických postupů na bázi separačních, spektrálních a elektrochemických metod. Za tímto účelem budou pro následující rok vypsány další témata diplomových prací.

6. LITERATURA A INTERNETOVÉ ZDROJE

- [1] Minerální vody [online]. c.2010 Dostupný z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Miner%C3%A1ln%C3%AD_vody>.
- [2] Pramen [online]. c.2010. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Pramen>>.
- [3] BENDA, J., *Vliv Karlovarské minerální vody na tvoření a vylučování žluče*. 1. Praha : Ústřední správa lázní a zřidel, 1966. 213 s.
- [4] HORÁKOVÁ, M. *Analytika vody*. Praha : Vydavatelství VŠCHT, 2000. 282 s. ISBN 80-7080-391-6.
- [5] Pitter P., *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT, Praha 1999.
- [6] EPA: Pollutants and Toxics [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <<http://cfpub1.epa.gov/>>.
- [7] Environmental Agency [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <<http://www.environment-agency.gov.uk/>>.
- [8] Ekotoxikologická databáze [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <<http://www.piskac.cz/ETD/>>.
- [9] Nejdůležitější kationty ve vodách [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <web2.mendelu.cz/af_224_rybari/dok%20rybari/kationty.pdf>
- [10] Kationty [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <<http://www.ziskejzdravi.cz/minerality/>>.
- [11] JANDOVÁ, D. *Balneologie*. 1. Praha : Grada Publishing, 2009. 424 s. ISBN 978-80-247-2820-9.
- [12] Churáček, J. a kol.: *Analytická separace látek*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
- [13] Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [14] *Elektroanalytické metody: Sborník přednášek z kurzu*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2001. 316 s. ISBN 80-86380-07-6.
- [15] Kašička, V.: Teoretické základy a separační principy kapilárních elektromigračních metod. *Chem. Listy* [online]. 1997 [cit. 05. 04. 2010]. Dostupné z WWW: <<http://chemicke-listy.vscht.cz>>.
- [16] Vody a prameny [online]. c.2010, Dostupný z WWW: <www.zsstmesto.cz/new/var/uploads/vodyaprameny.ppt>.
- [17] KUBÁŇ, P; KUBÁŇ, P; KUBÁŇ, V. Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid. *Journal of Chromatography A* [online]. 1999, 836, [cit. 2010-05-09]. Dostupný z WWW: <<http://www.sciencedirect.com>>.
- [18] Vyhodnocení lokalit pro rozvoj lázeňství a dalších léčebných terapií v Jihomoravském kraji [online]. c.2002, Dostupný z WWW: <www.kr-jihomoravsky.cz>.
- [19] Mobilní analytika (přehled produktů). Merk, 2004, 27 s.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BGE – základní elektrolyt (z angl. background electrolyte)

CE – kapilární elektroforéza (z angl. capillary electrophoresis)

CTAB – cetyltrimethylammoniumbromid

CZE – kapilární zónová elektroforéza (z angl. capillary zone electrophoresis)

ČSN – označení českých technických norem

EOF – elektroosmotický tok (z angl. electroosmotic flow)

PET – polyethylentereftalát

PTFE – polytetrafluorethylen

TRIS – Tris[hydroxymethyl]aminomethan

TTAB – tetradecyltrimethylammoniumbromid