

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO–TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Edita Ježilová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko - technologická

Dusičnany v balené vodě

Bakalářská práce

2020

Edita Ježilová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Edita Ježilová**
Osobní číslo: **C17349**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Dusičnany v balené vodě**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. S využitím dostupných databází knihovny UPa vyhledejte a zpracujte informace o důležitosti dusíku v potravním řetězci.
2. Zaměřte se na přítomnost dusičnanů ve vodách (legislativa, zdroje, účinky na zdraví) a jeho analytické stanovení různými metodami.
3. U vybraných vzorků balených vod proveďte měření obsahu dusičnanů spektrofotometrickou metodou. Výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30.6.2020

Edita Ježilová

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu doc. Ing. Liboru Červenkoví, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při zpracování této bakalářské práce. Stejně tak bych chtěla poděkovat laborantce Mgr. Světlaně Haladové za pomoc v průběhu experimentu. Poděkování patří také mé rodině a přátelům, kteří mě podporovali v průběhu celého studia.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je věnovaná dusičnanům v balené vodě. Teoretická část je zaměřena na koloběh dusíku v přírodě, zdroje dusičnanů, vliv dusičnanů na lidské zdraví a výskyt dusičnanů ve vodě a v potravinách. Dále jsou zde popsány stanovené požadavky pro pitnou a balenou vodu a přehled laboratorních metod, které slouží ke stanovení dusičnanů ve vodě. Experimentální část je zaměřena na stanovení dusičnanů ve vzorcích balené vody pomocí spektrofotometrické metody v UV oblasti spektra.

KLÍČOVÁ SLOVA

dusičnany, dusík, voda, balená voda, methemoglobinémie, spektrometrie

TITLE

Nitrates in bottled water

ANNOTATION

Bachelor thesis deals with nitrates in bottled water. The teoretical part describes nitrogen cycle in nature, nitrate sources, nitrate effects on human healthy and the presence of nitrates in water and food. There is also information about requirements for drinking and bottled water. An overview of the methods that are used for laboratory determination of nitrate was written. In the practical part, determination of nitrate in bottled water samples ultraviolet spectroscopy was performed.

KEYWORDS

nitrates, nitrogen, water, bottled water, methemoglobinemia, spectrometry

OBSAH

ÚVOD.....	10
1 TEORETICKÁ ČÁST	11
1.1 Dusík	11
1.2 Dusičnany ve vodě	13
1.3 Důvody odstraňování dusíku z odpadních vod	14
1.4 Zdroje dusičnanů	14
1.4.1 Eutrofizace	14
1.4.2 Nitrifikace, denitrifikace	14
1.4.3 Hnojiva.....	15
1.5 Dusičnany v potravinách.....	16
1.5.1 Dusičnany v masných, rybích a mléčných výrobcích.....	16
1.5.2 Dusičnany v zelenině a v ovoci	17
1.6 Negativní účinky dusičnanů na zdraví člověka.....	19
1.6.1 Methemoglobinémie	19
1.6.2 Nitrosaminy	22
1.7 Požadavky pro kvalitu pitné vody.....	22
1.7.1 Úprava pitné vody	23
1.8 Požadavky pro kvalitu balených vod	25
1.8.1 Úprava balené vody	27
1.9 Množství dusičnanů v pitné kohoutkové vodě v České republice	28
1.10 Možnosti domácího čištění vody	32
1.11 Metody stanovení dusičnanů ve vodě.....	32
1.11.1 Absorpční spektrofotometrické metody ve VIS oblasti spektra	33
1.11.2 Absorpční spektrofotometrické metody v UV oblasti spektra.....	35
1.11.3 Potenciometrická titrace s iontově selektivní elektrodou (ISE).....	35
1.11.4 Iontová chromatografie (IC)	35

1.11.5	Vysokoučinná kapalinová chromatografická hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem (UPLC–ESI/MS).....	36
1.11.6	Průtoková injekční analýza (FIA).....	37
1.11.7	Spektrofotometricky simultánní neutralizační mikrotitrace (SSSNM)	38
1.11.8	Přenosný fotometrický analyzátor PF–12.....	38
2	PRAKTICKÁ ČÁST	40
2.1	Podstata zkoušky	40
2.1.1	Pracovní rozsah, citlivost.....	40
2.1.2	Rušivé vlivy	40
2.2	Chemikálie	40
2.3	Přístroje a pomůcky.....	42
2.4	Postup zkoušky.....	42
2.5	Stanovení.....	43
2.6	Výsledky měření	43
	ZÁVĚR	46
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
	SEZNAM GRAFŮ	53
	SEZNAM TABULEK	54
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	55

ÚVOD

Dusičnany se ve vodě vyskytují zcela přirozeně, za poslední desetiletí se však jejich výskyt v přírodě díky přímým zásahům člověka zvýšil (zvýšené osídlení krajiny, chemizace zemědělství). Významným zdrojem dusičnanů může být pitná voda (zvláště soukromé nekontrolovatelné zdroje), zelenina, maso, ryby, uzeniny, sýry a konzervované potraviny [1]. Jedním ze základních ukazatelů jakosti balených vod jsou právě dusičnany, které se udávají v hmotnostních koncentracích NO_3^- , nebo $\text{N}-(\text{NO}_3^-)$ v mg/l.

Podle vyhlášky č. 252/2004 Sb., která stanovuje hygienické požadavky na pitnou vodu, se uvádí jako mezní koncentrace dusičnanů pro pitnou vodu 50 mg/l a pro kojeneckou 10 mg/l. Dusičnany jsou pro člověka málo škodlivé, protože jsou poměrně rychle z těla vylučovány. Závadnost spočívá v jejich možné redukci na dusitany. K redukci může docházet v zažívacím traktu, kdy vzniklé dusitany reagují s hemoglobinem na methemoglobin, který nemá schopnost přenášet kyslík. Nebezpečnost dusičnanů je také v tom, že po transformaci na dusitany mohou podporovat vznik nitrosaminů, které jsou karcinogenní a mohou způsobit vznik rakovinového bujení v žaludku, v játrech i v močovém měchýři [2].

Cílem této práce je spektrofotometricky proměřit obsah dusičnanů jak v klasické balené vodě, tak v kojenecké vodě. Výsledkem práce bude porovnání naměřených hodnot v mé praktické části s hodnotami udávající výrobcem.

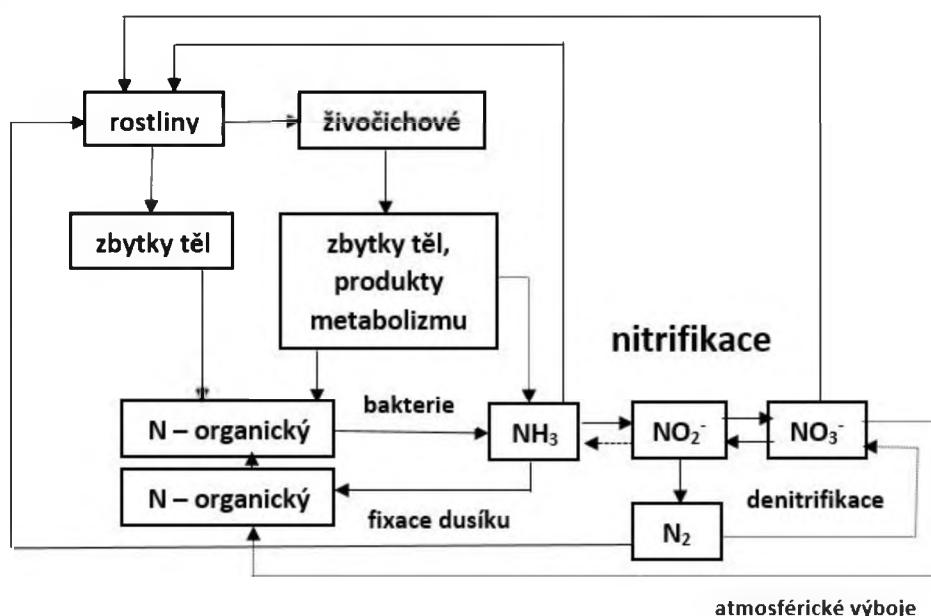
1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Dusík

Dusík patří mezi nejdůležitější prvky a řadí se do skupiny nutrientů, které jsou nezbytné pro rozvoj mikroorganismů. Sloučeniny dusíku mohou být jak anorganické, tak organické molekuly a jsou převážně biologického původu vznikající rozkladem živočichů a rostlin (Obrázek č. 1) [3, str. 280]. Ve vodách se dusík vyskytuje v různých oxidačních stupních, jak v iontové, tak neiontové formě (Tabulka č. 1).

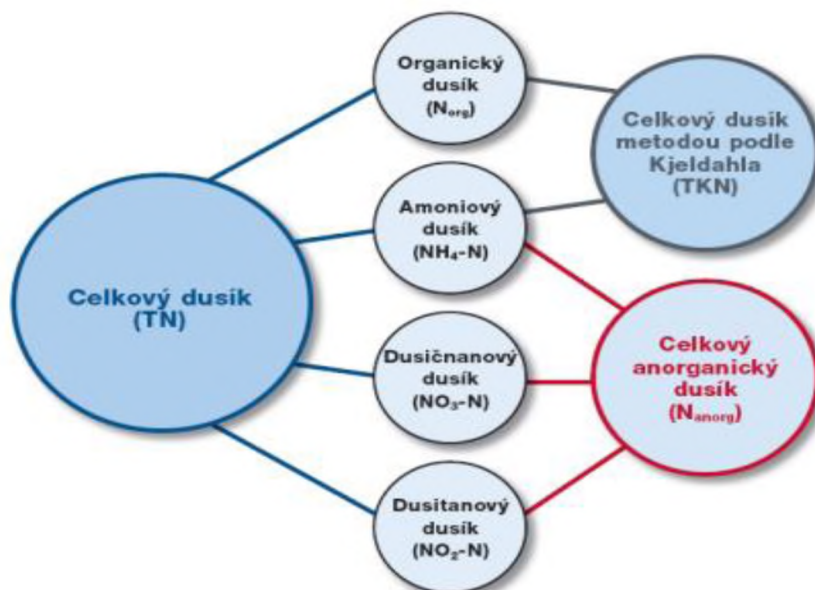
Tabulka č. 1 Oxidační stupně dusíku [3]

-III	amoniakální dusík (NH_4^+ , NH_3), kyanatany (OCN^-), kyanidy (CN^-)
-I	hydroxylamin (NH_2OH)
0	elementární dusík (N_2)
+I	azoxid (N_2O), nesprávně oxid dusný
+III	dusitanový dusík (N-NO_2^-)
+V	dusičnanový dusík (N-NO_3^-)



Obrázek č. 1 Koloběh dusíku [21]

Celkový dusík je součtem všech forem dusíku, jak organického dusíku, amoniakálního dusíku, dusičnanového dusíku, tak dusitanového dusíku (Obrázek č. 2). Mezi jednotlivými formami se vyskytuje rovnováha, ve které působí biologické procesy několika typů bakterií, příjem a uvolňování z organismů, výměna mezi sedimenty dna a vodním sloupcem. Dusík ve vodném prostředí nebývá limitujícím prvkem, jeho snížená koncentrace koresponduje s vysokým nárustem fytoplanktonu zejména ve vegetačním období [4]. Ve vodném prostředí se dusík vyskytuje především ve formě NH_4^+ , NO_2^+ a NO_3^- .



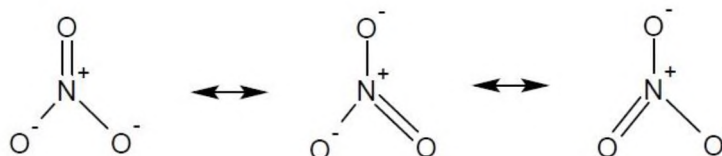
Obrázek č. 2 Schéma nejčastěji stanovovaných forem dusíku [4]

Stanovení celkového vázaného dusíku je založeno na vysokoteplotní katalytické oxidaci sloučenin dusíku na oxidy dusíku v analyzátoru vybaveném chemiluminiscenčním detektorem nebo přímým stanovením celkového dusíku po oxidaci peroxidisíranem všech forem dusíku na dusičnany [3, str. 281].

Dusík je obsažen v organické hmotě všech živých organismů. Organická hmota odumřelých jedinců, nebo produktů jejich zpracování i produktů metabolismu živočichů a člověka je rozkládána mikroorganismy. Při rozkládání dochází k uvolňování dusíku ve formě amoniaku. V aerobním prostředí je amoniak oxidován nitrifikačními bakteriemi na dusitany a dále na dusičnany. Procesy denitrifikační jsou v anaerobním prostředí redukovány na dusičnany a dusitany a ten dále na elementární dusík, oxid dusný a malá část na amoniak [5].

1.2 Dusičnany ve vodě

Dusičnany jsou soli kyseliny dusičné (HNO_3) obsahující iontovou skupinu NO_3^- . Skládají se ze tří atomů kyslíku, z jednoho atomu dusíku a z jedné dvojné vazby. Díky své struktuře jsou velmi stabilní (Obrázek č. 3).



Obrázek č. 3 *Rezonanční struktura NO_3^-*

Přirozený obsah dusičnanů ve vodě je dán koloběhem dusíku. Na počátku jsou atmosférické výboje v ovzduší, které vedou ke vzniku oxidů dusíku. Důležitou roli hrají také bakterie, které fungují tak, že buď umožňují biochemickou oxidaci sloučenin dusíku (nitrifikační bakterie) anebo způsobují naopak její redukci (denitrifikační bakterie). Rostliny samotné zabudovávají dusičnany do svých buněk jako organický dusík, čímž se koloběh uzavírá. Rozkladem rostlinných těl se organický dusík dostává zpět do vody [1].

Dusičnany se v menším množství (jednotky mg/l) vyskytují v čistých přírodních vodách, jako jsou podzemní a povrchové vody. Ve větším množství (desítky mg/l) se obvykle nacházejí ve vodách v zemědělských oblastech, v průmyslových vodách a ve vodách z biologické čistírny odpadních vod. Studie prokázaly, že je významný rozdíl mezi hladinami dusičnanů v podzemní vodě v zemědělské oblasti a v oblasti průmyslově nenarušené. V důsledku vzrůstajícího počtu obyvatel a následné zvýšené zemědělské činnosti koncentrace dusičnanů ve vodách rychle roste. Vysoké hladiny dusičnanů ve studniční vodě často vyplývají z nesprávné konstrukce studny, umístění studny, nebo z nesprávné likvidace odpadů. Studny jsou ke kontaminaci náchylnější zejména po záplavách. Ke kontaminaci dusičnany v podzemních vodách dochází, jestliže je v půdě více dusičnanů, než rostliny mohou využít [6].

1.3 Důvody odstraňování dusíku z odpadních vod

Dusíkaté sloučeniny jsou v přírodních vodách nežádoucí z několika důvodů [5]:

- umožňují růst zelených organismů, především řas
- oxidací amoniaku se spotřebuje velké množství kyslíku a amoniak působí toxicky na vodní organismy
- dusičnany jsou běžnými úpravárenskými procesy neodstranitelné a v pitné vodě jsou jejich zvýšené koncentrace zvláště pro kojence nepřipustné

1.4 Zdroje dusičnanů

Dusičnany se v přírodě vyskytují jak přirozeně (půdní mikroorganismy oxidující dusík, blesky během bouřek atd.), tak z antropogenních zdrojů, jako je vliv zemědělské činnosti (anorganická hnojiva na bázi dusičnanů draselného, nebo dusičnanů amonného), nebo jako součást výfukových zplodin z aut [7].

1.4.1 Eutrofizace

Eutrofizace je složitý proces obohacování stojatých a tekoucích povrchových vod živnými minerálními látkami, které vedou ke zvýšené biologické produkci a k nežádoucímu zarůstání vodního biotopu. Jedná se o nežádoucí dopad zvýšeného obsahu zejména dusičnanů a dalších biogenních prvků ve vodách [8, str. 70].

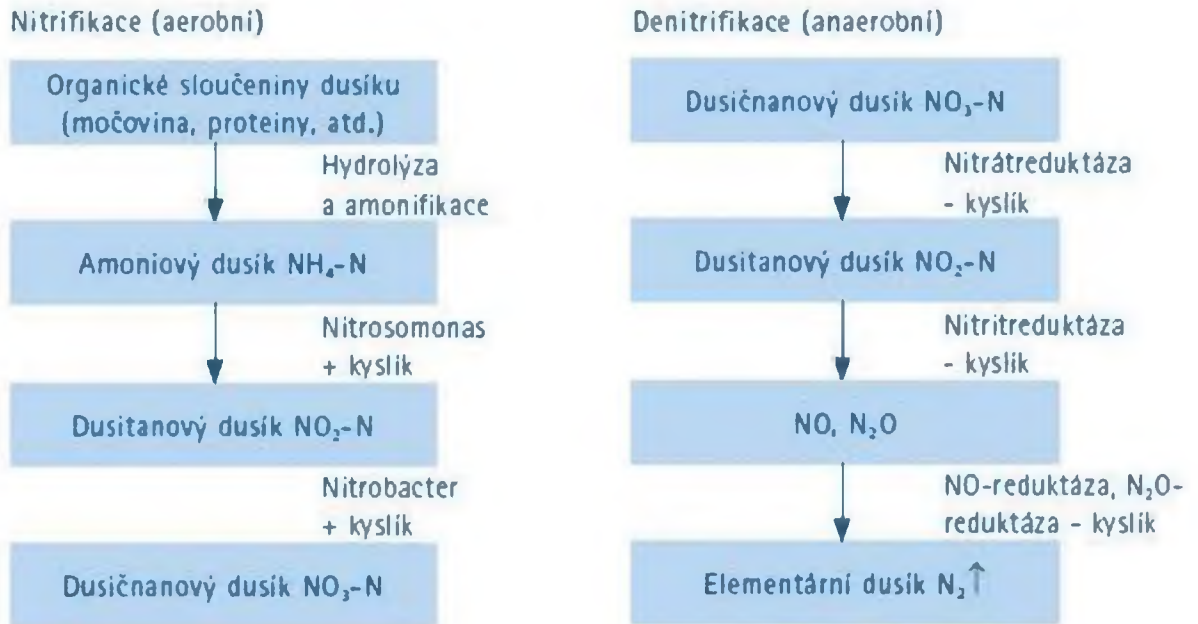
1.4.2 Nitrifikace, denitrifikace

Nitrifikace je způsobena především autotrofními organismy, které využívají CO_2 jako zdroj uhlíku pro tvorbu biomasy a jako zdroj energie oxidací amoniakálního dusíku. Akceptorem elektronů v oxidačním procesu nitrifikace je molekulární kyslík. Množství získané energie je však malé a pro nitrifikační bakterie je proto charakteristické malá specifická tvorba nové biomasy. Z 1 g dusíku se vytvoří asi jen cca 0,19 g biomasy. Prvním stupněm nitrifikace je oxidace amoniaku na dusitany aerobními bakteriemi, reakce se nazývá nitritace. Druhým stupněm je reakce zvaná nitratice, kde dochází k reakci dusitanů na dusičnany aerobními bakteriemi [3]. Průběh nitrifikace [1]:

organický dusík \leftrightarrow amonný iont $\text{NH}_4 \leftrightarrow$ dusitany $\text{NO}_2^- \leftrightarrow$ dusičnany NO_3^-

Při denitrifikaci dochází v anoxických podmínkách k redukci dusičnanů a dusitanů na molekulový dusík nebo oxidy dusíku. Akceptorem elektronu je dusík v oxidačním stupni III nebo V [3]. Nitrifikace i denitrifikace se používá v technologii vody k odstraňování sloučenin

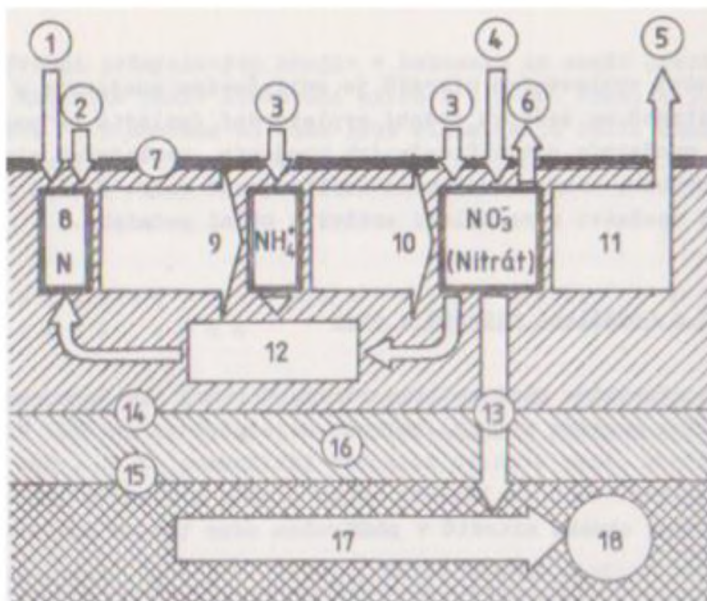
dusíku při biologickém čištění (Obrázek č. 5). Dusičnany, vzhledem k jejich vysoké rozpustnosti ve vodě, jsou možná nejrozšířenějším podzemním kontaminantem ve světě, způsobující vážnou hrozbu pro lidské zdraví a přispívající k eutrofizaci [9].



Obrázek č. 4 Rozkladné procesy v souvislosti s eliminací dusíku [4]

1.4.3 Hnojiva

Hnojiva se dělí na organická a minerální. Mezi minerální hnojiva řadíme dusíkatá hnojiva, která nejvíce zvyšují koncentraci dusičnanů ve vodě. Přírodní zdroje dusičnanů jsou však pro rozsáhlou zemědělskou výrobu nedostačující, proto jsou dusíkatá hnojiva v zemědělství nezbytným zdrojem živin. Nejčastější formy dusíku obsažené v dusíkatých hnojivech jsou ionty NO_3^- , NH_4^+ a močovina $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Organická hnojiva nepředstavují riziko z hlediska životního prostředí, pokud jsou správně skladovaná a především použita na půdě. Dusičnanový iont, který je obsažený v hnojivu, není vázán sorpčním komplexem v půdě, a proto může docházet k jeho vyplavování do vod [10]. Obsah nitrátů v půdě podléhá různým vlivům (Obrázek č. 5).



Obrázek č. 5 Přeměna dusíku v půdě [11]

Legenda k obrázku č.4 [11]

1 – organické hnojení, 2 – biologické vázání dusíku, 3 – minerální hnojení, 4 – vyplavování NO_3^- srážkami, 5 – plynné ztráty dusíku (N_2 , N_2O , NO), 6 – odběr rostlinami, 7 – půdní povrch, 8 – organicky vázaný dusík, 9 – mineralizace, 10 – nitrifikace, 11 – denitrifikace, 12 – imobilizace, 13 – vyplavování, 14 – spodní hranice prokořenění, 15 – hladina podzemní vody, 16 – pokles koncentrace nitrátů a zředění v podzemní vodě, 17 – horizontální transport vody, 18 – možné obohacování nitráty v oblasti pitné vody

1.5 Dusičnany v potravinách

Dusičnany se vyskytují jako přirozená složka potravin, jako je zelenina, ovoce, obiloviny, ryby, mléko a mléčné výrobky. Příjem dusičnanů se pohybuje mezi 53–300 mg/den a příjem dusitanů je mezi 0–20 mg/den

1.5.1 Dusičnany v masných, rybích a mléčných výrobcích

Při zpracování či výrobě masných, rybích a mléčných výrobků se dusičnany používají jako aditiva (dusičnan sodný, dusičnan draselný) například pro prodloužení trvanlivosti, ochrana před působením některých bakterií (prevence botulizmu), nebo pro udržení stálé barvy. Nejvyšší povolené množství těchto aditivních látek určuje vyhláška č.4/2008 Sb. [12, 13].

Soli dusičnanů a dusitanů jsou používány zejména proto, aby [14]:

- Zabránily růstu nežádoucích mikroorganismů u potravin podléhajících snadno mikrobiální zkáze (např. jako prevence proti bakterii *Clostridium botulinum*)
- zachovaly typickou červenou barvu masa
- zlepšily aroma těchto výrobků

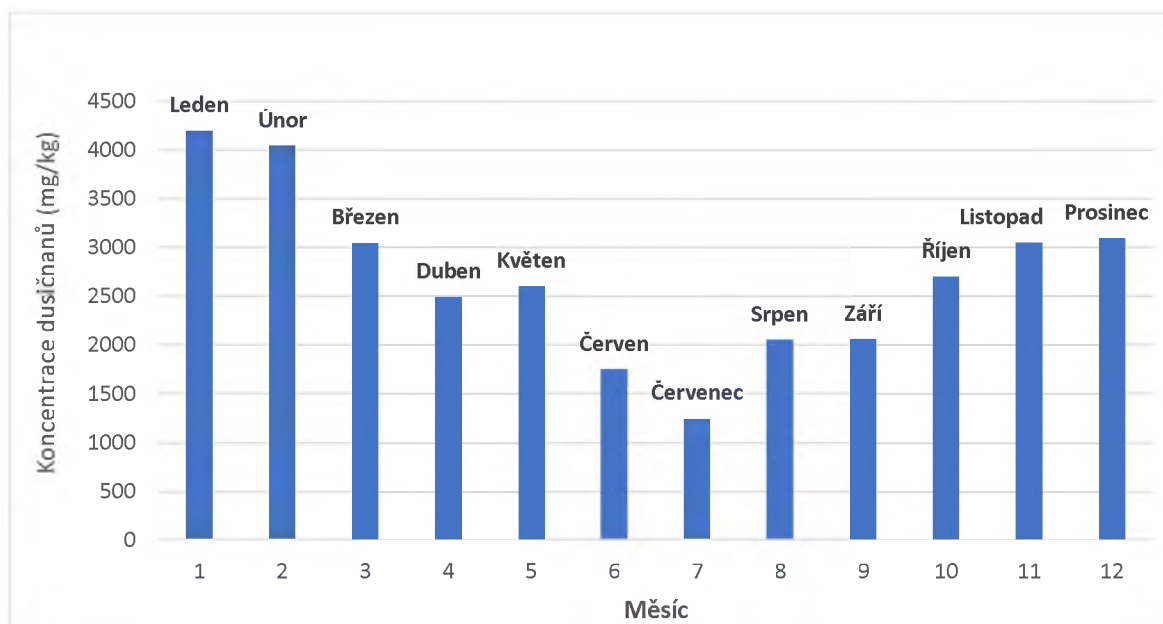
Revidovaný akceptovatelný denní příjem je pro:

dusičnany 3,7 mg/kg/den

dusitany 0,7 mg/kg/den

1.5.2 Dusičnany v zelenině a v ovoci

Dusičnany v půdě jsou rostlinami přijímány jako zdroje dusíku při tvorbě proteinů. K produkci bílkovin dochází při fotosyntéze, kdy při poklesu hladiny světla se rychlost fotosyntézy snižuje a dusičnany se hromadí v buněčných tekutinách rostlin. Hladiny dusičnanů v zelenině pěstovaných za nízkých světelných podmínek jsou tedy vyšší než hladiny dusičnanů v zelenině pěstované za jasného světla (Graf č. 1) [12].



Graf č.1 Koncentrace dusičnanů v zelenině pěstované v jednotlivých měsících [12]

V podzemní vodě se dusík vyplavuje z půdy v podobě nitrátů, protože není na rozdíl od amonné složky, vázán na půdní částice, ale rozpouští se v půdní vodě. Množství vyplavených nitrátů je ovlivňováno množstvím a rozdělením nitrátů na začátku vyplavování (zvláště na podzim a v zimě) množstvím nitrátů dodaných hnojením, uvolněných mineralizací v průběhu zimy a množstvím infiltrované vody. K tomu ještě přistupuje množství a rozdělení srážek a půdní podmínky [11].

Koncentrace dusičnanů v zelenině se velmi liší, záleží na genotypu rostliny, podmínkách pěstování, úrovni světla, teplotě půdy a hnojení dusíkem [12]. Koncentrace se pohybuje v rozmezí od 1 do 10000 mg/kg čerstvé hmotnosti (Tabulka č. 2).

Tabulka č. 2 Rozsahy dusičnanů v čerstvé, konzervované nebo zmražené zelenině [15]

Zelenina	Obsah dusičnanů v mg NO₃/kg
Hrášek	20–100
Rajče	0–170
Chřest	3–700
Okurka	17–570
Brambor	57–1000
Brokolice	140–2300
Zelí	0–2700
Mrkev	0–2800
Petržel	0–4100
Květák	53–4500
Řepa	100–4500
Celer	50–5300
Kapusta	30–5500
Kapusta	30–5500
Ředkev	60–9000
Špenát	2–6700
Salát	90–13000

Dusičnany se nejvíce vyskytují v listové zelenině, jako je špenát, nebo salát. Přirozený výskyt dusičnanů v zelenině může velmi snadno vstoupit do potravinového řetězce jako kontaminant životního prostředí a ovlivnit kvalitu povrchové vody [14]. Snížené množství dusičnanů můžeme docílit povařením zeleniny 15–30 minut při 95–100°C (při vyluhování však dochází ke ztrátě některých vitamínů, nebo fermentaci) [1].

1.6 Negativní účinky dusičnanů na zdraví člověka

1.6.1 Methemoglobinémie

Hemoglobin je transportní metaloprotein červených krvinek. Hlavní funkce hemoglobinu je přenos kyslíku z plic do tkání a zpětný transport CO₂ z tkání do plic. Navázáním kyslíku na hemoglobin vzniká oxyhemoglobin, uvolněním kyslíku naopak deoxyhemoglobin. V obou těchto případech je železo dvojmocné a jako jediné schopné přenášet kyslík. Methemoglobin je hemoglobin obsahující trojmocnou formu železa, ten zamezuje okysličování krve a může způsobovat hypoxii a cyanózu. v těle je neustále vytvářen, ale i trvale redukován pomocí enzymů [7]. Za normálních okolností je téměř veškeré železo v hemoglobinu redukováno na dvojmocnou formu, pouze 1% železa hemoglobinu je v trojmocné formě a představuje oxidovanou formu hemoglobinu – methemoglobin, který není schopný vázat kyslík. Jeho hodnoty do 1 % jsou normální, problém vzniká, když hladina methemoglobinu narůstá. Udává se, že cyanóza vzniká již při hladinách methemoglobinu nad 10 %. Methemoglobinémie se projevuje čokoládově hnědou krví a cyanózou neboli modráním kůže [16]. Klinické symptomy jsou úměrné hladině methemoglobinu (Tabulka č. 3):

Tabulka č. 3 Příznaky methemoglobinémie [16]

<10 %	bez symptomů
10–20 %	změna barvy (cyanóza)
20–30 %	úzkost, bolesti hlavy, námahová dyspnoe
30–50 %	vyčerpání, zmatenost, závratě, tachypnoe
50–70 %	bezvědomí, křeče, arytmie, acidóza
> 70 %	smrt

Methemoglobinémií mohou být ohroženi lidé všech věkových kategorií, ale nejvíce bývají ohroženi kojenci do šestého měsíce, kteří postrádají klíčový enzym pro redukci methemoglobinu, proto se v některých případech nazývá onemocnění jako „blue baby syndrome“ [16]. U dospělých vznikají asi 3 % methemoglobinu za den, ale zpětná redukce je zajištěna enzymem NADH–dependentní (NADH = nikotinamidadeninindukleotid-hydríd) methemoglobin reduktázou a neenzymovými procesy, tedy působením glutathionu a kyseliny askorbové [17].

Kojenecká methemoglobinémie byla známá již v dávných letech. Skutečně rozšířenou nemocí se však stala až po druhé světové válce. V roce 1945 bylo celosvětově hlášeno přibližně 2000 případů s úmrtností asi 8 %. V tomto roce došlo ke zhoršení životního prostředí a kontaminaci podzemních vod dusičnanů. Osmdesát až devadesát procent všech hlášených případů bylo spojeno s koncentrací dusičnanů ve vodě vyšší než 100 mg/l [8]. Další hlavní příčinou tohoto epidemického výskytu bylo také omezování kojení a přechod na umělou kojeneckou výživu. První případ toho onemocnění se objevil v Americe, kde bylo vědecky dokázáno, že tuto nemoc způsobila pitná voda s vysokým obsahem dusičnanů. V Československé republice byl takový případ poprvé publikován až v roce 1949 a do roku 1960 bylo evidováno 319 případů onemocnění s přibližně osmiprocentní úmrtností. Skutečný počet onemocnění byl však mnohem vyšší, protože lehčí případy nebyly evidovány a některé případy byly i jinak diagnostikovány. V padesátých a šedesátých letech byly příčiny této nemoci v Československé republice podrobně zkoumány. Přestože již tehdy se dospělo k závěru, že vedle obsahu dusičnanů je rozhodujícím faktorem přítomnost vhodných druhů nitrát–redukujících bakterií, někdy okolo roku 1955 byl navrhnut limit dusičnanů pro kojeneckou vodu ve výši 15 mg/l [18]. Phillips uvádí studii Simona, Manzke, Kay a Mrowitze z roku 1964, kdy se v Německu objevilo 745 případů methemoglobinémie. Výsledky v tomto případě byly velmi jasné, nemoc z 97,3 % zapříčinily soukromé studny. 98 % kojenců bylo mladších 3 měsíců, u 53 % se projevoval pouze průjem, ale 8,6 % lidí nemoci podlehl. Podle studii je doporučováno vodu před podáním kojencům nejdříve otestovat [7]. Vzhledem k současným vědomostem nemá dusičnanový limit odůvodnění, protože doporučená limitní hodnota Světové zdravotnické organizace ve výši 50 mg/l, kterou přebírá jak Evropská unie, tak Česká republika, je stanovena s ohledem na riziko kojenecké methemoglobinémie. Obsah dusičnanů ve vodě uplatňuje spíše jako podpurný faktor. S ohledem na toto onemocnění se musí brát v potaz i bakteriální kontaminace vody. Díky zvýšenému množství mikroorganismů dochází k zánětům žaludeční a střevní sliznice a následnou zvýšenou endogenní tvorbou

dusitanů. Pokud je voda mikrobiálně nezávadná, je obsah dusičnanů do 50 mg/l z hlediska methemoglobinémie bezpečný i pro kojence. Toto stanovisko se opírá nejen o doporučení Světové zdravotnické organizace, ale i americké agentury pro životní prostředí, jejíž limit dusičnanů v pitné vodě je stanoven na 10 mg/l. Vedle obsahu dusičnanů je samozřejmě nutné brát v úvahu i souběžnou hodnotu dusitanů, protože obě dvě látky mají v konečné fázi obdobný účinek [18]. Podle součtového pravidla musí být dodržena podmínka, aby součet poměrů zjištěného obsahu dusičnanů v mg/l děleného 50 a zjištěného obsahu dusitanů v mg/l děleného třemi, byl menší nebo roven jedné ($K_{\text{dusičnany}}/50 + K_{\text{dusitany}}/3 \leq 1$) [18].

Existují dva typy methemoglobinémie – získaná a vrozená. Získaná methemoglobinémie je obecně akutní nemoc, kterou lze však bezpečně léčit methylenovou modří. U vrozené methemoglobinémie se můžou projevit tři typy a to typ I, typ II a takzvaná hemoglobinová nemoc M, která se značí HbM. Onemocnění typu I je charakterizováno nedostatkem enzymu NADH cytochrom b5 reduktázou (cyb5r) v červených krvinkách, kdy je methemoglobin zpět redukován na hemoglobin a může tak přenášet kyslík z plic do tkání. Onemocnění se projeví cyanózou a lze ji léčit pomocí methylenové modři, tato léčba je však dočasná, u postižené osoby se nakonec znovu objeví cyanóza a veškeré příznaky. Aktuální upřednostňovaná léčba je kombinace vitamínu C a riboflavinu. Tento typ onemocnění má většinou mírný průběh bez dalších následků na životě dítěte. Typ II je závažnější a je charakterizován nedostatkem vázaného enzymu NADH cytochrom b5 reduktázou 3 (cyb5r3) v membráně, což může narušit syntézu mastných kyselin. Příznaky zahrnují pokračující cyanózu, kognitivní poškození, mikrocefalií, dystonií a poruchou pohybu. Kojenci narození s onemocněním typu II mají obvykle zkrácenou délku života a nejvyšší úmrtnost je do 1 roku života. Hemoglobinová nemoc se od methemoglobinémie I a II liší tím, že nezahrnuje nedostatky v enzymech, ale je to výsledek mutace na globinovém řetězci v hemoglobinu, která vede ke stabilizaci Fe^{3+} . Mezi typické příznaky patří opakující se cyanóza, bolesti hlavy, únava a dušnost. Hemoglobinová nemoc je benigní nemoc podobná typu I. Methemoglobinémie typu I a II je autosomálně recesivní dědičnost (týká se genů umístěných na nepohlavních chromosomech – autozomech), zatímco hemoglobinová nemoc má dominantní dědičnost. Získaná methemoglobinémie, na rozdíl od vrozené, postrádá genetickou složku [7].

1.6.2 Nitrosaminy

Dusičnany jsou z velké části nereaktivní, ale mohou být redukovány na dusitany, které pak mohou reagovat se sekundárními aminy, které se do těla dostávají z potravin za vzniku nitrosaminů [12]. Nitrosaminy jsou nebezpečné látky, které mohou způsobit rakovinové bujení v žaludku, v tlustém střevě, v játrech a v močové měchýři. Tvorba nitrosaminů je ovlivněna množstvím dusitanů v těle, pH a koncentrací aminů. Poměr mezi dusitany a aminy by měl být 1:10. Nejvíce karcinogenním nitrosaminem je nitrosodimethylamin [19, str. 223].

1.7 Požadavky pro kvalitu pitné vody

Vyhláška č. 252/2004 Sb. je vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody [20]. Tato vyhláška zapracovává příslušné předpisy Evropské unie a upravuje

- hygienické limity mikrobiologických, biologických, fyzikálních, chemických a organoleptických ukazatelů jakosti pitné vody, včetně pitné vody balené a teplé vody dodávané potrubím užitkové vody, nebo vnitřním vodovodem, které jsou konstrukčně propojeny směšovací baterií s vodovodním potrubím pitné vody, jakož i vody teplé vyráběné z individuálního zdroje pro účely osobní hygieny zaměstnanců
- rozsah a četnost kontroly dodržení jakosti pitné vody
- požadavky na metody kontroly jakosti pitné vody.

V České republice je zásobováno přibližně 90 % obyvatelstva vodou z veřejných vodovodů. Zbýlých 10 % obyvatelstva se zásobuje vodou se studni, pokud však tato voda není využívána pro komerční účely, nevztahuje se pro ni vyhláška č. 252/2004 Sb. V tomto případě záleží pouze na majiteli studni, jestli vodu nechá testovat. Kompletní rozbor všech látek, které se udávají ve již zmíněné vyhlášce může stát až 20 tisíc korun, proto se často využívá takzvaný zkrácený rozbor, kdy se stanovuje 10–20 hlavních ukazatelů, včetně dusičnanů a dusitanů. Takovýto rozbor stojí přibližně 1000 korun [21].

Státní zdravotní ústav v Praze vytvořil v roce 2004 informační systém pro pitnou vodu (IS PIVO). Tento ústav vydal za rok 2018 zprávu o kvalitě pitné vody v celé České republice. Kvalitu vody v České republice jsou povinni ze zákona sledovat všichni provozovatelé veřejných vodovodů, veřejných studní, dále koupališť umělých i přírodních, bazénů, saun. Jejich povinností je zajistit pravidelné rozборы vzorků vody a laboratorní výsledky poskytovat příslušným krajským hygienickým stanicím [22].

Ze sítí veřejných vodovodů 4 086 zásobovaných oblastí bylo v roce 2018 provedeno 33192 odběrů, jejich rozbořem bylo získáno a do databáze informačního systému pitné vody vloženo 1 062 395 hodnot jakosti pitné vody. Limity zdravotně významných ukazatelů limitovaných nejvyšší mezní hodnotou byly překročeny v 1 668 případech. Mezní hodnoty ukazatelů jakosti charakterizujících především organoleptické vlastnosti pitné vody a přírodní složení vody nebyly dodrženy ve 4 926 nálezech. Obsah dusičnanů v pitné vodě byl v roce 2018 stanoven ve 4 083 oblastech (99,93 % všech oblastí), získáno bylo 29 507 hodnot. Překročení nejvyšší mezní hodnoty (50 mg/l) bylo zjištěno ve 492 nálezech. V 80 oblastech (18 482 obyvatel) se nalezená střední hodnota koncentrace v rozmezí 50,05–93,5 mg/l, to znamená, že dosáhla či převýšila nejvyšší mezní hodnotu tohoto ukazatele. 17 z nich má platnou výjimku (mírnější hygienický limit 62–120 mg/l). Těchto 17 oblastí zásobuje celkem 3 029 obyvatel [22].

1.7.1 Úprava pitné vody

Řeky, potoky, jezera a podzemní vody jsou potencionálními zdroji pitné vody. V mnoha případech podzemní voda nepotřebuje ani žádnou úpravu, protože půda samotná působí jako filtr k odstranění patogenních mikroorganismů. Koagulace, flokulace, sedimentace a filtrace dohromady účinně odstraňují mnoho kontaminantů ve vodě, zlepšují sensorické vlastnosti, snižují zákal a tím umožňují i lepší desinfekci vody. Nejčastější metody úpravy pitné vody [23]:

- Koagulace – mění fyzikální a chemický stav rozpuštěných a suspendovaných pevných látek. Přidáním chemikálií se usnadňuje odstraňování těchto rozpuštěných a suspendovaných pevných látek před filtrací a sedimentací. Běžně používané koagulanty jsou hydrolyzující kovové soli, zejména kamenec, síran železitý a chlorid železitý. Tyto hydrolyzující kovové soli reagují s organickými a anorganickými látkami obsaženými ve vodě za vzniku sraženiny, nebo tvoří sloučeniny jako je hydroxid hlinitý, hydroxid železitý, na které nečistoty absorbují. Dalšími chemikáliemi, které mohou být přidávány ke zvýšení koagulace jsou nabitě organické molekuly nazývané polyelektrolyty, mezi ně patří polyakrylamid s vysokou molekulovou hmotností, dimethyldiallylamonium chlorid a polyaminy. Tyto chemikálie zajišťují lepší agregaci (shlukování) suspendovaných pevných látek během následujícího kroku zvaného flokulace.

- Flokulace (vločkování) – je fyzický proces, při kterém se upravená voda jemně promíchává. Díky promíchávání dochází ke zvýšení mezimolekulových srážek, čímž se podpoří tvorba velkých částic, které mohou snadněji sedimentovat.
- Sedimentace – další fyzický proces, který zahrnuje gravitační usazování suspendovaných částic, které mají větší hustotu než voda. Výsledný výtok je poté podroben rychlé filtraci. Někdy se po flokulaci a sedimentaci přidávají polyelektrolyty (obvykle polyakrylamid), které napomáhají rychlejší filtraci.
- Filtrace – odstraňuje částice z vody a snižuje zákal. Nejčastěji se provádí přes písek nebo přes uhlí. Filtrace je taky důležitá při odstraňování protozoálních parazitů *Giardia lamblia* (Lamblie střevní) a *Cryptosporidium*. Cysty a oocysty těchto organismů jsou velmi odolné vůči inaktivaci, takže samotnou desinfekcí se jich nelze zbavit. Některé bakterie však pro svoji menší velikost mohou projít filtračním filtrem (Tabulka č. 4). Odstranění virů filtrací a koagulací závisí na povrchovém náboji viru a adsorpci k jednotlivým částicím. Zda má vir dostatečný povrchový náboj závisí na kmeni a typu viru. Faktory, které ovlivňují odstranění patogenů z vody jsou teplota, velikost zrn písku, výška filtru, průtok a vrstva biofilmu.

Tabulka č. 4 Účinnost koagulace, sedimentace a filtrace na nežádoucí organismy [23]

Organismus	Koagulace a sedimentace (%)	Rychlá filtrace (%)	Pomalá filtrace (%)
Koliformní bakterie	74 – 97	50 – 98	>99,999
Střevní bakterie	88 – 95	10 – 99	>99,999
<i>Giardia lamblia</i>	58 – 99	97 – 99,9	>99
<i>Cryptosporidium</i>	90	99 – 99,9	99

Při úpravě pitné vody existuje rychlá filtrace, která se nejvíce využívá v Americe. Filtry na rychlou filtraci jsou obvykle z 50–75 cm písku, nebo antracitu o průměru 0,5 – 1 mm. Při pomalé filtraci se využívá hloubka 60 – 120 cm písku podložena 30 – 50 cm vrstvou šterku. Tato metoda se nejčastěji využívá ve Velké Británii a v Evropě.

- Desinfekce – konečná fáze pro většinu nežádoucích mikroorganismů. Jako nejpoužívanější desinfekční prostředky se používají chlor, oxid chloričitý, nebo ozon

(ozon je dražší, ale oproti chloru nezanechává specifickou chuť). Desinfekce se může provádět i ultrafialovým zářením, ale vždy k němu musí být použitý nějaký oxidant.

1.8 Požadavky pro kvalitu balených vod

Vyhláška č. 275/2004 Sb. je vyhláška o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy. Touto vyhláškou se v souladu s právem Evropských společenství stanoví mikrobiologické, chemické a fyzikální požadavky na balené přírodní minerální vody, balené pramenité vody, balené kojenecké vody a balené pitné vody a na způsob jejich úpravy, kontroly, hodnocení a označování [24]. Pro balenou vodu existuje Evropská federace výrobců (EFBM – European federation of bottled waters), která sleduje a kontroluje všechny výrobce balených vod v Evropské unii [25].

Rozlišují se tyto druhy balených vod:

a) balená přírodní minerální voda je výrobek z chráněného podzemního zdroje přírodní minerální vody schváleného ministerstvem zdravotnictví. Tuto vodu lze rovněž upravovat pouze fyzikálními způsoby a nelze do ní přidávat jiné látky než oxid uhličitý. Zatímco dříve mohl být u nás za zdroj přírodní minerální vody prohlášen jen takový zdroj, kde voda obsahovala nejméně 1000 mg minerálních (rozpuštěných) látek nebo 1000 mg CO₂ v 1 litru, dnes to v souladu s evropskými předpisy již neplatí a za přírodní minerální vodu může být prohlášena prakticky každá podzemní voda, která má správnou čistotu, je stabilní a její zdroj je dobře chráněn [26]. Seznam přírodních minerálních vod uznaných členskými státy je zveřejněný podle čl. 1 odst. 5 směrnice Rady 2009/54/ES v Úředním věstníku Evropské unie [27].

- velmi slabě mineralizovaná (s obsahem rozpuštěných látek do 50 mg/l)
- slabě mineralizovaná (obsah rozpuštěných látek 50 až 500 mg/l)
- středně mineralizovaná (obsah rozpuštěných látek 500 mg/l až 1500 mg/l)
- silně mineralizovaná (obsah rozpuštěných látek 1500 mg/l až 5000 mg/l)
- velmi silně mineralizovaná (obsah rozpuštěných látek vyšší než 5000 mg/l)

b) balená pramenitá voda je výrobek z kvalitní vody z chráněného podzemního zdroje, který je vhodný k trvalému přímému požívání dětmi i dospělými. Celkový obsah minerálních látek může být nejvýše 1000 mg/l (tedy stejně jako u pitné vody) a voda může být upravována jen fyzikálními způsoby. Termín pramenitá voda nahradil dřívější termín stolní voda. Do balené kojenecké ani pramenité vody nelze přidávat žádné látky s výjimkou oxidu uhličitého [26].

c) balená pitná voda je výrobek splňující požadavky na pitnou vodu. Tuto vodu lze získávat z jakéhokoli vodárenského zdroje, upravovat ji stejně jako vodovodní vodu a rovněž požadavky na jakost jsou shodné s požadavky na vodovodní vodu. Většina je jich ostatně z vodovodní vody vyráběna. Na rozdíl od výše jiných druhů balených vod lze balenou pitnou vodu uměle doplňovat minerálními látkami (vápník, hořčík, sodík a draslík – ve formách uvedených ve vyhlášce), ale pokud se tak stane, musí být na obale uveden výčet doplněných látek a jejich obsah ve vodě a slovní označení „uměle doplněno minerálními látkami – mineralizovaná pitná voda“. Balenou pitnou vodu lze samozřejmě také sytit oxidem uhličitým. Balené pitné vody jsou uváděny na trh pod různými názvy (vedle obchodních značek je to například perlivá voda nebo stolní voda), ale vždy musí být na etiketě uvedeno, že se jedná o pitnou vodu [26].

d) balená léčivá voda je voda z přírodních léčivých zdrojů na kterou se však nevztahuje vyhláška č. 275/2004 Sb. Balených léčivých vod je u nás na trhu přibližně 7 druhů a u některých z nich lidé většinou ani nerozlišují, jedná-li se o vodu léčivou nebo jen přírodní minerální, přestože to je z hlediska užití důležité. Požadavky na jakost balených léčivých vod nejsou nikde stanoveny (existují jen požadavky na mikrobiologickou jakost zdrojů těchto vod). Výrobce nemusí povinně na etiketě uvádět návod k použití (indikace, doporučené množství a doba konzumace). Pokud už výrobce na etiketě jakékoli informace o léčivých vlastnostech a užívání této vody uvede, obsah této informace závisí čistě na jeho libovůli, protože nepodléhá žádnému nezávislému posouzení a schválení [26].

e) balená kojenecká voda je výrobek z kvalitní vody z chráněného podzemního zdroje, který je vhodný pro přípravu kojenecké stravy a k trvalému přímému požívání všemi skupinami obyvatel. Protože u této vody je zakázána jakákoli úprava měnící její složení, je kojenecká voda jedinou balenou vodou, u které je zaručeno původní přírodní složení [26].

Projekt balené kojenecké vody vznikl v letech 1980–1990, v době kdy v řadě míst republiky nebyla voda pro kojence vhodná a bezpečná a jako alternativa byly dostupné pouze balené minerální vody, které však nevyhovovaly vysokým obsahem rozpuštěných látek. Voda ať už z domovní studny nebo z některých vodovodů s udělenou výjimkou není vhodná

pro kojence, existuje v některých místech dodnes a je proto důležité mít k dispozici náhradní řešení [28].

Kojenecká voda má limitní hodnoty pro většinu ukazatelů nastaveny přísněji než pitná voda. Celkový obsah minerálních látek může být nejvýše 500 mg/l. Zaručuje tedy vyšší standart, který nehraje roli při krátkodobém užití, ale v některých případech poskytuje spotřebiteli vyšší ochranu vůči riziku některých chronických onemocnění, které se mohou objevit po dlouhodobém užití (desítky let) méně kvalitní vody. Balenou kojeneckou vodu může za určitých podmínek označit a uvést do oběhu i výrobce balené přírodní minerální vody, či pramenité vody. Může to však udělat pouze tehdy, pokud bude voda po úpravě splňovat všechny jakostní ukazatele pro balenou kojeneckou vodu. Uvádíme-li tedy minerální nebo pramenitou vodu označenou jako „vhodnou pro přípravu kojenecké stravy“, měli bychom vědět, že kvalitou by měla být srovnatelná s kojeneckou vodou, ale na rozdíl od kojenecké vody prošla nějakou úpravou a poskytuje tedy nižší záruku stabilní jakosti [28].

1.8.1 Úprava balené vody

Balenou přírodní minerální vodu lze upravovat pouze [24]:

- odstraněním nestabilních látek, například sloučenin železa a sloučenin síry, filtrací nebo dekantací, s případným předchozím okysličením
- odstraněním sloučenin arzenu, manganu, železa, nebo síry pomocí vzduchu obohaceného ozonem, filtrací nebo dekantací
- odstraněním jiných nežádoucích složek, například sloučenin beryllia, niklu
- úplným nebo částečným odstraněním volného oxidu uhličitého výhradně fyzikálními metodami
- úpravu vzduchem obohaceným ozonem může výrobce balené přírodní minerální vody nebo balené pramenité vody dále použít jen při dodržení podmínek stanovených v této vyhlášce

Upravování vody nebo přidáním oxidu uhličitého se nesmí změnit skladba základních složek přírodní minerální vody získané ze zdroje přírodní minerální vody nebo z přírodního léčivého zdroje a nesmějí vznikat škodlivé látky. Vodu nelze upravovat přidáním bakteriostatických látek nebo ji upravovat jiným způsobem, který by změnil počet kolonií. Do vody dále nelze přidávat jiné látky s výjimkou oxidu uhličitého. K umělému doplnění balené pitné vody minerálními látkami lze použít vápník, hořčík, draslík a sodík [24].

1.9 Množství dusičnanů v pitné kohoutkové vodě v České republice

Kontrolu kvality pitných vod zajišťují vždy akreditované laboratoře pro danou oblast. Všechny tyto laboratoře musí minimálně každoročně přidávat aktuální kvalitu pitné vody z různých oblastí. Průměry hodnot dusičnanů byly mnou vypočteny na základě šesti měření jednotlivých laboratoří. Všechny mnou uvedené hodnoty testování byly prováděny za rok 2019 a 2020. Ceny jsou platné od 1.5.2020.

Pro kraj Vysočina (Havlíčkův Brod, Jihlava, Třebíč, Pelhřimov, Žďár nad Sázavou) testují kvalitu vody laboratoře Vodovody a kanalizace Humpolec, s.r.o., Vodárenská akciová společnost, a.s., Vodovody a kanalizace Havlíčkův Brod, a.s. Průměr dusičnanů ve vodě změřený v kraji Vysočina vyšel 22,6 mg/l. Všechny města splňovala obsah dusičnanů do 50 mg/l (Tabulka č. 5).

Tabulka č.5 Dusičnany v pitné vodě – Vysočina

Vysočina								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Havlíčkův Brod	10,3	29,1	22,0	21,0	39,2	14,4	22,7	41,47,-
Jihlava	17,0	14,6	11,7	14,4	15,2	7,4	13,4	56,19,-
Třebíč	11,5	45,6	18,1	29,5	42,5	2,7	25,0	48,95,-
Humpolec	31,9	31,3	28,4	38,6	39,9	14,3	30,7	47,83,-
Žďár nad Sázavou	17,9	23,4	27,2	28,0	15,1	16,9	21,4	58,00,-
							22,6	50,49,-

Pro Středočeský kraj (Praha, Mělník, Kladno) testuje kvalitu vody laboratoř Pražské vodovody a kanalizace, a.s. a Středočeské vodárny, a.s. Průměr dusičnanů ve vodě změřený ve Středočeském kraji vyšel 16,4 mg/l. Všechny města splňovala obsah dusičnanů do 50 mg/l (Tabulka č. 6).

Tabulka č.6 Dusičnany v pitné vodě – Středočeský kraj

Středočeský kraj								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Praha	13,5	18,2	18,8	19,0	18,9	19,4	18,0	50,30,-
Mělník	11,2	13,5	11,2	10,7	18,1	14,2	13,2	60,34,-
Kladno	18,8	18,2	13,5	19,0	18,9	19,4	18,0	60,34,-
							16,4	56,99,-

Pro Východočeský kraj (Pardubice, Hradec Králové, Holice, Svitavy) testují kvalitu vody laboratoře Vodovody a kanalizace Pardubice, a.s., Královéhradecká provozní, a.s., Vodárenská Svitavy, a.s. Průměr dusičnanů ve vodě změřený ve Východočeském kraji vyšel 13,8 mg/l. Všechny města splňovala obsah dusičnanů do 50 mg/l (Tabulka č.7).

Tabulka č.7 Dusičnany v pitné vodě – Východočeský kraj

Východočeský kraj								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Pardubice	18,0	8,3	18,1	18,2	8,3	8,2	13,2	47,90,-
Hradec králové	16,5	13,5	9,8	16,4	12,8	9,9	13,2	42,85,-
Holice	19,3	23,0	27,0	6,7	8,3	27,0	18,6	47,90,-
Svitavy	15,9	2,2	3,0	14,3	14,2	12,0	10,3	37,16,-
							13,8	43,95,-

Pro Severočeský kraj (Jablonec nad Nisou, Louny, Chomutov, Teplice, Most, Ústí nad Labem, Děčín, Liberec, Česká lípa, Litoměřice) testuje kvalitu vody laboratoř Severočeské vodovody a kanalizace, a.s. Průměr dusičnanů ve vodě změřený v Severočeském kraji vyšel 5,2 mg/l. Všech deset měst splňuje obsah dusičnanů do 50 mg/l. Skoro všechny města výjimkou města Litoměřice dokonce splňují obsah dusičnanů pro kojenecké vody do 10 mg/l (Tabulka č. 8).

Tabulka č.8 Dusičnany v pitné vodě –Severočeský kraj

Severočeský kraj								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Jablonec n. Nisou	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	50,77,-
Louny	1,9	3,5	3,8	1,2	2,0	1,2	2,3	50,77,-
Chomutov	0,9	3,2	1	6,2	1,1	2,4	2,5	50,77,-
Teplice	1,7	1,4	2,8	4,4	2,0	2,5	2,5	50,77,-
Most	2,8	1,9	3,0	4,6	2,8	2,4	2,9	50,77,-
Ústí n. Labem	7,8	3,4	6,0	2	3,8	6,2	4,9	50,77,-
Děčín	2,9	3,3	8,2	10,5	3,0	11,4	6,6	50,77,-
Liberec	1,0	1,0	1,0	16,5	16,6	16,1	8,7	50,77,-
Česká Lípa	8,4	9,3	9,3	8,6	9,7	9,5	9,1	50,77,-
Litoměřice	12,7	10,8	10,6	12,6	8,4	13,0	11,4	50,77,-
							5,2	50,77,-

Pro Západočeský kraj (Cheb, Karlovy Vary, Klatovy, Plzeň, Český Krumlov) testují kvalitu vody laboratoře CHEVAK Cheb, a.s., Vodárny a kanalizace Karlovy Vary, a.s., Laboratoř Šumavské vodovody a kanalizace, a.s., Vodárna Plzeň, a.s. Pro Jihočeský kraj (České Budějovice, Tábor, Písek) laboratoř ČEVAK, a.s. Průměr dusičnanů ve Východočeském kraji vyšel 8,1 mg/l. Všechny města splňovala obsah dusičnanů do 50 mg/l. Všechna města s výjimkou města Klatovy a Písek dokonce splňují hodnoty pro kojenecké vody (Tabulka č. 9).

Tabulka č. 9 Dusičnany v pitné vodě – Západočeský kraj a Jihočeský kraj

Západočeský kraj a Jihočeský kraj								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Cheb	19,8	6,1	5,4	5,2	4,9	4,5	7,7	44,55,-
Karlovy Vary	5,0	5,8	4,1	8,5	10,4	6,1	6,7	40,08,-
Klatovy	3,7	12,5	7,5	20,7	18,5	24,3	14,5	36,51,-
Plzeň	11,4	11,4	3,5	2,7	11,4	3,5	7,3	57,39,-
České Budějovice	0,5	6,7	6,6	0,5	5,4	3,3	3,8	40,26,-
Český Krumlov	11	1,1	3,1	11	7,6	6,8	6,8	37,86,-
Tábor	6,5	6,8	6,5	9,0	1,8	9,0	6,6	47,32,-
Písek	6,6	36	6,7	6,4	5,4	6,8	11,3	46,13,-
							8,1	43,76,-

Pro Jihomoravský kraj (Brno, Znojmo, Břeclav) testují kvalitu vody laboratoře Brněnské vodárny a kanalizace, a.s., Vodárenská akciová společnost, a.s., Vodovody a kanalizace Břeclav, a.s. Pro Moravskoslezský kraj (Ostrava, Jičín) laboratoř Ostravské vodárny a kanalizace, a.s., Vodohospodářská obchodní společnost, a.s. Průměr dusičnanů ve vodě vyšel 15,5 mg/l. Všechny města splňují obsah dusičnanů do 50 mg/l. Města jako je Břeclav a Ostrava splňují hodnoty pro kojenecké vody (Tabulka č. 10).

Tabulka č. 10 Dusičnany v pitné vodě – Jihomoravský kraj a Moravskoslezský kraj

Jihomoravský kraj a Moravskoslezský kraj								
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Průměr	Cena
	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	(mg/l)	za m ³
Brno	33,1	29,1	23,0	33,1	33,1	33,2	30,8	41,58,-
Znojmo	15,8	19,5	28,3	32,1	28,0	16,2	23,3	54,09,-
Břeclav	3,0	2,7	2,7	0,5	2,8	3,1	2,5	41,58,-
Ostrava	5,5	4,7	5,5	5,6	5,1	12,9	6,6	41,08,-
Nový Jičín	19,0	10,0	16,9	18,0	10,0	11,0	14,2	41,08,-
							15,5	43,88,-

1.10 Možnosti domácího čištění vody

Po celé generace si lidé na celém světě dbající o své zdraví uvědomují, že základem pro zdravý život a zdravé tělo je čistá a čerstvá voda. Vodu z kohoutku, ač splňuje normy o pitné vodě, čistírna nikdy nedokáže vyčistit tak, aby neobsahovala chlór, olovo, patogenní bakterie a nežádoucí chemické látky, jako jsou antibiotika a zbytky léčiv. Příroda je stále více znečištěna, tím pádem se znečišťují i podzemní a povrchové vody a je čím dál těžší tyto kontaminanty odstranit. Dokonce i balená voda, která je nákladná a neekologická, může obsahovat tytéž kontaminující látky.

V dnešní době se čím dál více lidí snaží najít alternativní řešení pro zdravou a čistou vodu a do své domácnosti si pořizují filtry na vodu. Existují přenosné filtry, filtry na vodovodní kohoutek, nebo filtry přímo zavedené na baterii. Všechny tyto varianty filtrů většinou fungují na principu mikrofiltrace a reverzní osmózy.

1.11 Metody stanovení dusičnanů ve vodě

Pro stanovení dusičnanů ve vodách existují desítky metod, ale žádnou z dosud navrhovaných metod nelze označit za absolutně nejsprávnější a za univerzální. Při různých metodách se totiž rušivě (kvalitativně i kvantitativně) uplatňují různé složky vody. Jednotlivé metody stanovení mají i různou citlivost a různý rozsah stanovení [29, 30].

Absorpční spektroskopie v oblasti UV/VIS:

Metody absorpční spektroskopie v oblasti UV/VIS (ultrafialové/viditelné), jsou založeny na interpretaci změn, které nastávají v molekulách při absorpci záření v rozmezí vlnových délek 200–800 nm. Látky, které absorbují záření pouze v oblasti UV se jeví jako bezbarvé. Látky, které pohlcují z bílého slunečního světla záření s vlnovými délkami mezi 400–760 nm, vidí lidské oko jako barevné. Vlnová délka pohlceného záření však neodpovídá barvě látky, kterou vnímáme, ale barvě doplňkové. Například jeví-li se roztok na slunečním světle žlutý, absorboval záření v oblasti barvy modré (Tabulka č. 11). Maximum absorpce žluté látky leží tedy u vlnové délky asi 460 nm [31].

Tabulka č. 11 *Barvy viditelného záření a jejich doplňky [31]*

Vlnová délka (nm)	Barva	Doplňková barva
400–435	Fialová	Žlutozelená
435–480	Modrá	Žlutá
480–490	Zelenomodrá	Oranžová
490–500	Modrozelená	Červenooranžová
500–560	Zelená	Červenopurpurová
560–580	Zelenožlutá	Fialová
580–595	Žlutooranžová	Modrá
595–610	Oranžovočervená	Zelenomodrá
610–760	Červená	Modrozelená

Vztah mezi změřenou absorbcí a koncentrací látky udává Lambert-Beerův zákon:

$$A = c \cdot l \cdot \varepsilon$$

Kde A je absorbance, c je koncentrace látky v roztoku, l je délka absorbujícího prostředí a ε je molární absorpční koeficient.

1.11.1 Absorpční spektrofotometrické metody ve VIS oblasti spektra

Přímé

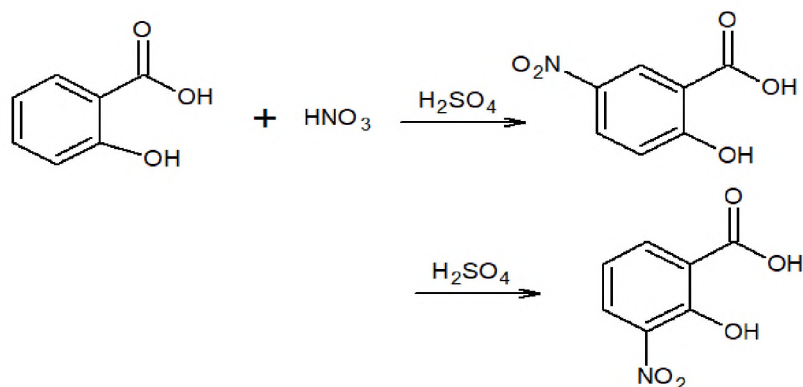
Přímé absorpční metody jsou založené na schopnosti kyseliny dusičné nitrovat některé aromatické látky za vzniku barevných nitroderivátů. Tyto nitrační reakce spočívají ve vnesení $-\text{NO}_2$ skupiny do aromatického jádra, které pak působí jako chromofor [29].

- **Metoda s kyselinou sulfosalicylovou**

Metoda se používá pro stanovení dusičnanů v surové vodě a pitné vodě. Vzhledem k rušivým vlivům v silně znečištěných odpadních a silně mineralizovaných vod je tato metoda omezena [29].

Princip: Kyselina dusičná uvolněná kyselinou sírovou z dusičnanů obsažených ve vzorku analyzované vody, nitruje kyselinu salicylovou. Při reakci vznikají bezbarvé nitroderiváty kyseliny salicylové (Obrázek č. 6). Následně se provede zalkalizování roztoku, tzn. ionizace karboxylové skupiny, kdy se tyto nitroderiváty zbarví žlutě. Intenzita zbarvení

je pak přímo úměrná množství dusičnanů ve vzorku vody, proto je možné použít absorpční spektroskopii [32].



Obrázek č. 6 Princip metody s kyselinou sulfosalicylovou [29]

- **Metoda s 2,6 – dimethylfenolem**

Metoda se používá pro stanovení dusičnanů v pitných i surových vodách. Není vhodná pro analýzu silně znečištěných vod nebo vod s vysokým obsahem soli [33].

Princip: Dusičnany, které jsou přítomné ve vzorku reagují s 2,6-dimethylfenolem v prostředí směsi koncentrované kyseliny sírové a koncentrované kyseliny fosforečné za vzniku cihlově červeného 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Intenzita zbarvení je pak přímo úměrná množství dusičnanů ve vzorku vody, proto je možné použít spektrofotometrické vyhodnocení při vlnové délce 324 nm. Bez ředění vzorků lze stanovit koncentrace až 50 mg/l. Na stanovení mají rušivý vliv dusitany a chloridy [33].

- **Metoda se 4-flourfenolem**

Tato metoda je vhodná pro všechny druhy vod (znečištěné i mineralizované), ale na rozdíl od ostatních metod je velmi pracná, časově náročná a pracuje se při ní s látkami, které jsou hořlavé a velice zdravotně závadné [29].

Nepřímé

Dusičnany se nejdříve redukují, a to buď na dusitany, nebo až na amoniakální dusík. Redukce na dusitany se provádí nejčastěji buď kadmiovou amalgamou, nebo hydrazinsulfátem. K redukci na amoniakální dusík se nejčastěji používá Devardova slitina. Dusičnany jsou poté stanoveny spektrofotometricky [29].

1.11.2 Absorpční spektrofotometrické metody v UV oblasti spektra

Přímé měření absorbance ultrafialového (UV) záření dusičnanovým iontem je považováno za rychlou, snadnou a přesnou metodu stanovení dusičnanů ve vodě. UV spektrofotometrické metody využívají absorpční spektrum a to mezi 200–220 nm. Ultrafialové spektrum v tomto rozmezí je však absorbováno také rozpuštěnými organickými látkami, proto je metoda vhodná pouze pro stanovení pitných vod, nebo málo znečištěných povrchových vod. Při vlnové délce 205 nm je možno stanovit dusičnany do koncentrace 4 mg/l NO_3^- , při vlnové délce 220 nm je možno stanovit dusičnany od 4 mg/l NO_3^- do 20 mg/l NO_3^- [34].

1.11.3 Potenciometrická titrace s iontově selektivní elektrodou (ISE)

Jedná se o přímé měření dusičnanů ve vodách. Využívá se selektivní elektroda, s polopropustnou membránou propouštěcí pouze určité ionty. Koncentrace dusičnanů ve vodě je přímo úměrná k změřenému potenciálu ISE. Metoda je vhodná pouze pro stanovení pitné vody a to s obsahem dusičnanů od 1 mg/l NO_3^- do 25 mg/l NO_3^- . ISE se liší konstrukcí a typem a v praxi se touto metodou mohou stanovit také fluoridy, chloridy a amonné ionty [35].

1.11.4 Iontová chromatografie (IC)

Chromatografie je separační metoda založena na rozdělování směsí chemických látek na jednotlivé složky, které se následně detekují. Rozdělování jednotlivých složek dochází na základě rozdílné afinity ke dvou fázím – mobilní a stacionární. Mobilní fáze (plyn, kapalina) je pohyblivá fáze, která unáší stanovovanou látku přes stacionární fázi. Stacionární fáze je pevná fáze, nejčastěji porézní materiál, nejčastěji silikagel, oxid hlinitý, nebo celulóza.

Iontovou chromatografii lze rozdělit do dvou základních skupin podle náboje analytu na aniontovou a kationtovou. Princip spočívá v iontových interakcích molekul analytu iontové povahy s povrchem stacionární fáze, která obsahuje iontové funkční skupiny, nesoucí oproti analytu opačný náboj. Hlavní složkou mobilní fáze bývá voda, do které se přidávají různé anorganické i organické kyseliny i zásady. Důležitou součástí pro aniontovou metodu v iontové chromatografii je supresor, který snižuje vodivost pozadí a tím zvyšuje citlivost stanovení. Pro kationtovou analýzu se používají mobilní fáze na bázi vody a silné minerální kyseliny (kyselina chlorovodíková, nebo dusičná spolu s organickými kyselinami). U této metody je možné použít široké spektrum stacionárních fází, které na svém povrchu nesou funkční skupiny na bázi iontové výměny. Nejvhodnější fáze jsou na bázi modifikovaných organických polymerů a silikagelů [36, 37].

Analýza iontových látek obsažených ve vzorcích vody zahrnuje čtyři analytické metody: přímé měření, iontovou chromatografií, titrací a voltametrií. V roce 1998 představila společnost Metrohm systém TitrIC, který vznikl spojením prvních třech zmíněných metod do jednoho přístroje. V roce 2011 byla představena nejnovější verze tohoto systému. Systém TitrIC zaručuje rychlé analýzy, spolehlivé a reprodukovatelné výsledky a nízké provozní náklady. Pomocí této metody se stanovují pitné vodě zejména anorganické ionty (dusičnany, dusitany, chloridy, fluoridy, bromidy, sírany a fosfáty), velká výhodou této metody je, že se může stanovit i stopové množství těchto iontů. V Americe je to momentálně nejrozšířenější metoda k detekci pitné vody [36, 37].

1.11.5 Vysokoúčinná kapalinová chromatografická hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem (UPLC–ESI/MS)

UPLC – MS je chemická technika, která kombinuje fyzikální separační schopnosti kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Spojením hmotnostní spektrometrie se separačními metodami umožňuje v jedné analýze od sebe látky separovat a následně identifikovat, i když se jedná o složitou matici [38].

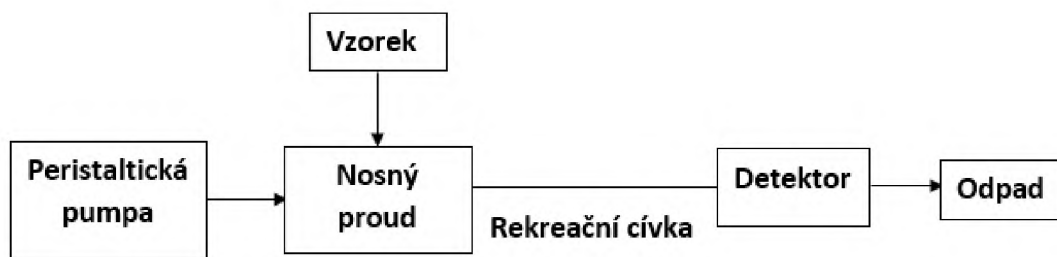
Kapalinová chromatografie je separační metoda založena na rozdílné afinitě látky k mobilní a stacionární fázi. Stacionární fáze je nejčastěji z porézních materiálů (silikagel, alumina), mobilní fáze je v tomto případě vždy kapalina. UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) je relativně novou separační technikou v oblasti vysokoúčinné kapalinové chromatografie. Krátké chromatografické kolony (100 mm) se zmenšeným vnitřním průměrem (2,1 mm) jsou plněny sorbenty o malém průměru (1,7 μm) připravenými patentovanou technologií „bridged hybrid particle“, které vynikají svojí mechanickou pevností a mimořádnou separační účinností, proto může separační proces probíhat za velmi vysokých tlaků (více než 1000 barů). UPLC přináší řadu předností oproti klasické kapalinové chromatografii: zvýšení separační účinnosti, snížení meze detekce, zvýšení citlivosti, zkrácení doby analýzy a celkové snížení nákladů vzhledem k menší spotřebě rozpouštědel [38, 39].

Při ionizaci elektrosprejem (ESI) prochází eluát po výstupu z chromatografické kolony kapilárou, na které je vloženo vysoké napětí (3–5 kV), takže malé kapičky vznikající na výstupu z kapiláry nesou vlivem vysokého gradientu elektrického pole kladný nebo záporný náboj podle polarity vloženého napětí na kapiláru. Dalším odpařováním rozpouštědla dochází ke zmenšení velikosti kapiček a tím i ke zvýšení hustoty povrchového náboje, až dojde k rozpadu na menší kapičky a nakonec se uvolní protonovaný molekulární iont nebo adukt molekuly se sodným

iontem při snímání kladných iontů, resp. deprotonovaný molekulární iont při snímání záporných iontů. Fragmentové ionty bývají většinou málo intenzivní nebo zcela chybí. Díky zvýšené citlivosti této metody, je možno stanovit dusičnany i dusitany v pitné vodě a to i ve velmi nízkých koncentracích, bez jakékoliv úpravy vzorku vody [40].

1.11.6 Průtoková injekční analýza (FIA)

Průtoková injekční analýza (FIA) (Obrázek č. 7) je analytická metoda s plynulým tokem všech roztoků, založená na vstřikování vzorku do proudu reagentů. Dusičnany přítomné ve vzorku jsou v kadmiovém reduktoru v prostředí imidazolového pufru o pH 7,5 redukovány na dusitany. Dále probíhá diazotace dusitanů se sulfanilamidem za vzniku diazoniové soli, která reaguje s N-(1-naftyl)-ethylendiaminem za vzniku azosloučeniny. Koncentrace azosloučeniny je přímo úměrná koncentraci dusitanů, resp. dusičnanů [41, 42].

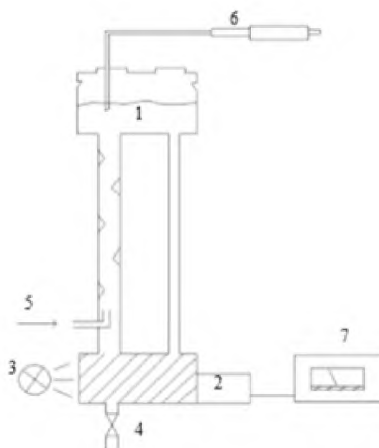


Obrázek č. 7 Schéma základního zapojení průtokové injekční analýzy

Průtoková injekční analýza kombinuje tři principy – vstřikování vzorků, kontrolovanou disperzi vstřikovaného vzorku v zóně a reprodukovatelné načasování jejího přesunu z bodu vstřiku k detektoru. Výhoda této metody je její jednoduchost, vysoká spolehlivost a rychlé stanovení nitrátů v různých druzích vzorků vody [42, 43].

1.11.7 Spektrofotometricky simultánní neutralizační mikrotitrace (SSSNM)

Spektrofotometrická neutralizační mikrotitrace (Obrázek č. 8) umožňuje postupné stanovení amoniakálního dusíku i dusičnanů ve vodě. Amonné ionty jsou vydestilovány z alkalického roztoku ve formě amoniaku, který je zachycen v roztoku chloridu amonného v absorpční koloně. Kyselost prostředí je upraveno na hodnotu pět. Absorpční náplň je pak alkalizována amoniakem. Barevná změna indikátoru methylčerveně se sleduje spektrofotometricky a je kompenzována přidavkem kyseliny chlorovodíkové. Dusičnany se před vlastním stanovením redukuje Dewardovou slitinou v alkalickém prostředí opět na amoniak. V jednom experimentu je možné stanovit nejdříve amonné ionty a poté dusičnany [44].



Obrázek č. 8 Schéma spektrofotometricky sledované simultánní neutralizační mikrotitrace [44]

Obrázek č. 8: 1 – absorpční kolona, 2 – fotoelektrický snímač, 3 – zdroj viditelného světla, 4 – výpustní otvor, 5 – přívod amoniaku, 6 – mikrobyreta, 7 – monitorování barevných změn

1.11.8 Přenosný fotometrický analyzátor PF-12

Fotometr PF-12 (Obrázek č. 9) je jednopaprskový filtrový fotometr umožňující měření absorbance při sedmi vlnových délkách. Dusičnany jsou redukovány na dusitany v kyselém prostředí za vzniku žlutooranžového azobarviva. Přenosný analyzátor umožňuje rychlé a jednoduché stanovení vybraných ukazatelů jakosti vod. Rozsah koncentrací pro dusičnany se pohybuje od 4 – 120 mg/ NO₃⁻. Výhodou těchto analyzátorů je jejich velikost, rychlost stanovení, jednoduchá obsluha, naprogramované metody, automatická volba vlnové délky, okamžitá informace o obsahu příslušné látky ve vodě [44, 45].

Ke stanovení lze přiřadit datum, čas, lokalitu odběru a zředění. Při analýze v terénu nemusí být vzorek zakonzervován a jsou omezená rizika spojená s transportem a uchováváním vzorku. Nevýhodou mohou být rušivé vlivy, jako jsou oxidační činidla v závislosti na koncentraci, což může mít za následek snížení zbarvení produktu, nebo úplné potlačení reakce, dále stanovení mohou rušit dusitany, barevné ionty těžkých kovů, nebo organické koloidy [44, 45].

V roce 2016 byl na Univerzitě Pardubice proveden test Fotometru PF-12, kdy byly testovány vzorky různých vod (jak přírodní vody, tak i nesyčené balené vody). Vzhledem k dosaženým výsledkům v porovnání s jinými metodami, jako je průtoková injekční analýza (1.11.6) a spektrofotometricky sledovaná simultánní neutralizační mikrotitrace (1.11.7), lze konstatovat, že přenosný analyzátor PF-12 je pro stanovení NO_3^- velmi dobře použitelný a poskytuje výsledky srovnatelné s ostatními testovanými instrumentálně náročnějšími metodami [44].



Obrázek č. 9 Přenosný fotometr PF-12 se sadou VISOCOLOR ECO pro stanovení NO_3^- [45]

2 PRAKTICKÁ ČÁST

Ke své experimentální části jsem použila metodu stanovení dusičnanů přímou spektrofotometrií. Při své experimentální části jsem postupovala podle dokumentace zkušebních postupů vydanou akreditovanou laboratoří Vodovody a kanalizace Havlíčkův Brod [46].

2.1 Podstata zkoušky

Podstatou zkoušky je přímé spektrofotometrické měření absorbance vzorku vody v ultrafialové oblasti při vlnové délce 220 nm. Metoda je použitelná pro analýzu ne příliš znečištěné vody (pitná a podzemní voda). Metodou se stanoví obsah dusičnanů ve vodě [46].

2.1.1 Pracovní rozsah, citlivost

Pro analyzovaný objem vzorku cca 20 ml s optickou dráhou křemenné kyvety 10 mm a vlnovou délkou 220 nm lze stanovit obsah koncentrace dusičnanů v rozmezí 1–20 mg/l, v tomto rozsahu je graf kalibrační funkce lineární. Pro stanovení vyšší koncentrace je nutno vzorek ředit [46].

2.1.2 Rušivé vlivy

Při vlnové délce 220 nm vykazují absorbanci i rozpuštěné organické látky. Tyto látky vykazují pozitivní chybu při stanovení [46].

2.2 Chemikálie

Používané chemikálie jsou výhradně ve stupni čistoty p. a. (zkratka pro čisté chemikálie pro analýzu) a použité sklo je kalibrované [46].

Demineralizovaná voda

Kyselina chlorovodíková $c = 1,18 \text{ g/ml HCl}$

Roztok dusičnanu amonného 1000 mg/l NH_4NO_3

Tuhý dusičnan sodný NaNO_3

Roztok dusičnanu sodného 1000 mg/l NaNO_3

Veškeré tuhé standardy se před navážením vysoušejí 2 hodiny při teplotě 105°C .

Příprava kontrolního vzorku $c(\text{NO}_3^-) = 10 \text{ mg/l}$

Pipetou bylo odpipetováno 10 ml roztoku do odměrné baňky na 1000 ml a doplněno demineralizovanou vodou po rysku, tím byl získán roztok o koncentraci $c(\text{NO}_3^-) = 10 \text{ mg/l}$ [46].

Příprava kontrolního vzorku $c(\text{NO}_3^-) = 20 \text{ mg/l}$

Pipetou bylo odpipetováno 20 ml roztoku do odměrné baňky na 1000 ml a doplněno demineralizovanou vodou po rysku, tím byl získán roztok o koncentraci $c(\text{NO}_3^-) = 20 \text{ mg/l}$ [46].

Příprava pracovních roztoků

Pracovní roztok č. 1

Navážky: $0,0225 \pm 0,0002 \text{ g}$ dusitanu sodného, $0,0595 \pm 0,0002 \text{ g}$ chloridu amonného, $0,0716 \pm 0,0002 \text{ g}$ dihydrogenfosforečnanu draselného a $9,0 \pm 0,0002 \text{ g}$ síranu hořečnatého heptahydrátu. Složky byly rozpuštěny v demineralizované vodě a doplněny v odměrné baňce na 1000 ml. Roztok byl uchován v lednici s dobou použitelnosti jeden měsíc [46].

Pracovní roztok č. 2

Navážky: $0,206 \pm 0,0002 \text{ g}$ dusičnanu sodného, $0,72 \pm 0,0002 \text{ g}$ chloridu vápenatého a $0,296 \pm 0,0002 \text{ g}$ síranu sodného. Složky byly rozpuštěny v demineralizované vodě a doplněny v odměrné baňce na 1000 ml. Roztok byl uchován v lednici s dobou použitelnosti jeden měsíc [46].

Pracovní roztok

Z vytemperovaných roztoků číslo 1 a číslo 2 bylo napipetováno 10 ml a převedeno do odměrné baňky na 1000 ml. Objem byl doplněn po rysku demineralizovanou vodou. Pracovní roztok směsného laboratorního standardu byl uchován v lednici s dobou použitelnosti 1 týden. Před zařazením do práce musí být roztok vždy vytemperován na teplotu $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

2.3 Přístroje a pomůcky

Spektrofotometr UV-1201 (Shimadzu Handels GmbH, Německo)

Analytické váhy 100A-300M (Precisa Gravimetrics AG Švýcarsko)

Termostat (POL-EKO , Polsko)

Exsikátor

Horkovzdušná sušárna (Binder GmbH, Německo)

Chladnička pro skladování vzorků Labex (Unimed, Praha)

Chladnička pro uložení roztoků Labex (Unimed, Praha)

Optické křemenné kyvety s fotometrickou dráhou 10 mm

Kalibrovaný teploměr pro ověření teploty

Kádinky 150 ml

Vzorkovnice skleněná 250 ml nebo 1000 ml

Kalibrované pipety: nedělená na 1, 2, 5, 10, 20 ml, dělená na 10 ml

Odměrný kalibrovaný válec na 10 ml

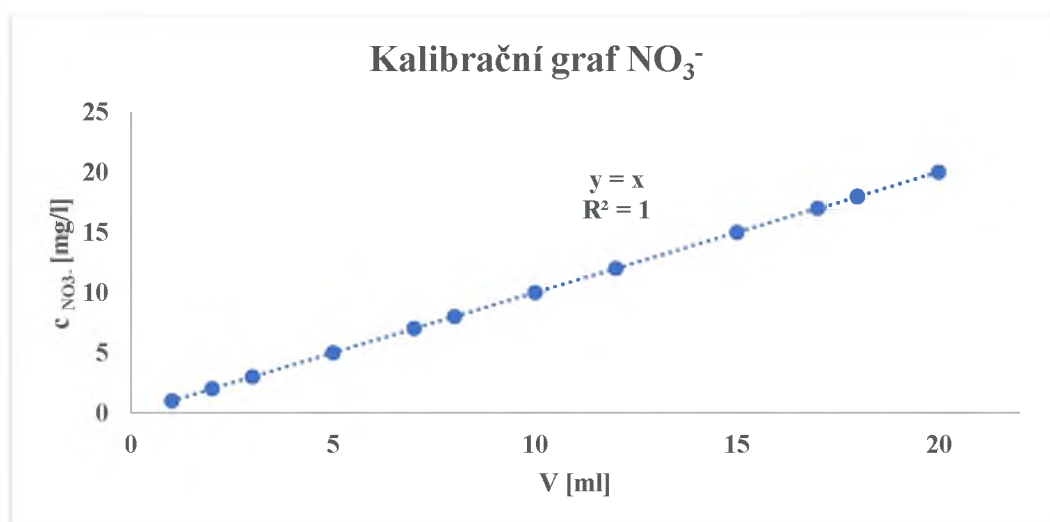
Kalibrovaná odměrná baňka 1000 ml

Odměrný kalibrovaný válec na 100 ml

2.4 Postup zkoušky

Kalibrace

Do odměrných baněk na 1000 ml byly odpipetovány objemy standardních roztoků a doplněny demineralizovanou vodou po rysku. Dále jsem postupovala jako při stanovení vzorku (2.5).



Graf č. 2 Kalibrační graf NO_3^-

Slepé stanovení

Do kádinky na 150 ml bylo odměřeno cca 20 ml demineralizované vody. Dále bylo postupováno jako při stanovení vzorku (2.5).

2.5 Stanovení

Do 150 ml kádinky bylo odměřeno cca 20 ml neředěného vzorku a změřeno na spektrofotometru při vlnové délce 220 nm (ultrafialová oblast) v kyvetě 10 mm proti demineralizované vodě. Pokud naměřené hodnoty byly mimo pracovní rozsah, musel být vzorek naředěn podle Tabulky č.12. Koncentrace dusičnanů v mg/l se vypočte z hodnoty kalibrační funkce (Graf č. 2) a získaná hodnota se vynásobí příslušným zřed'ovacím faktorem.

Tabulka č. 12 Tabulka ředění vzorků [46]

interval (mg/l)	poměr ředění	postup pro ředění	ředící faktor (faktorem se vynásobí hodnota získaná po ředění)
21–40	1:1	10 ml vzorku + 10 ml vody	2
41–60	1:2	10 ml vzorku + 20 ml vody	3
61–80	1:3	10 ml vzorku + 30 ml vody	4
81–100	1:4	10 ml vzorku + 40 ml vody	5
101–120	1:5	10 ml vzorku + 50 ml vody	6
121–140	1:6	10 ml vzorku + 60 ml vody	7

2.6 Výsledky měření

Všechny tyto balené vody byly vybrány mnou na základě oblíbenosti a dobré dostupnosti ve městě Havlíčkův Brod a to z velkoobchodů, jako je Albert (Albert Česká republika, s. r. o., ČR), Lidl (Lidl Stiftung & Co. KG, Německo), Billa (Billa, spol. s. r. o., ČR) a Kaufland (Kaufland Česká republika, v. o. s., ČR). Při stanovení dusičnanů ve vybraných balených vodách (Tabulka č. 13) došlo k překročení obsahu dusičnanů udávající výrobce (žluté zvýraznění) u dvou značek a to u balené vody Natura (vyšší o 1,06 mg/l NO₃⁻) a u balené vody SanBenedetto (vyšší o 0,3 mg/l NO₃⁻). Bohužel však u některých vod označený * výrobce na obalu neudává parametry obsahu složení vybraných látek, nemohla jsem je proto porovnat s mými výsledky stanovení.

Tabulka č. 13 Množství dusičnanů ve vzorcích balené vody

Dusičnany v balené vodě			
Název vody	Obsah NO ₃ ⁻ (mg/l) – stanovení	Obsah NO ₃ ⁻ (mg/l) – výrobce	Cena (1,5 litrů)
Dobrá voda	<0,1	<0,5	10,90,-
Mattoni	<0,1	<0,5	13,90,-
Magnesia	<0,1	<0,5	11,90,-
Pramenitá voda Albert	<0,1	*	6,90,-
Neperlivá voda Albert	<0,1	*	4,90,-
Vittel	<0,1	<0,5	36,90,-
Aqua Maria	<0,1	*	7,90,-
Nartes	1,4	1,72	23,90,-
Evian	3,9	*	41,90,-
Korunní	5,1	*	10,90,-
Rajec	5,3	5,4	11,90,-
Aquila	5,9	*	11,90,-
Natura	6,4	5,34	12,90,-
Tanja	7,3	11,3	11,90,-
Saguaro*	8,9	*	4,90,-
SanBenedetto	9,3	9,0	19,90,-
Clever (Billa) *	12	*	4,90,-

Hodnoty uvedené v tabulce č. 13 představují aritmetický průměr ze dvou měření

* balené vody, které na lahvi nemají zadané parametry o obsah dusičnanů

žluté zvýraznění – překročení obsahu dusičnanů

Při stanovení dusičnanů v mnou vybraných balených kojeneckých vodách (Tabulka č. 14) došlo k překročení obsahu dusičnanů udávající výrobce (žluté zvýraznění) u tří značek a to u balené kojenecké vody Kaufland (vyšší o 0,14 mg/l NO₃⁻) a u balené kojenecké vody Aquila (vyšší o 0,7 mg/l NO₃⁻) a u balené kojenecké vody AquaAnna (vyšší o 1,2 mg/l NO₃⁻).

Tabulka č. 14 Měření dusičnanů v balené kojenecké vodě

Dusičnany v balené vodě – kojenecká			
Název vody	Obsah NO ₃ ⁻ (mg/l) – stanovení	Obsah NO ₃ ⁻ (mg/l) – výrobce	Cena
Lupilu Lidl kojenecká	<1,0	<0,50	6,90,-
Nartes Billa kojenecká	1,5	1,72	16,90,-
Kaufland kojenecká	4,2	4,06	6,90,-
Rajec kojenecká	5,0	5,4	11,90,-
Aquila kojenecká	5,9	5,2	9,90,-
AquaAnna kojenecká	8,7	7,5	9,90,-

Hodnoty uvedené v tabulce č. 14 představují aritmetický průměr ze dvou měření

žluté zvýraznění – překročení obsahu dusičnanů

ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit dusičnany v různých balených vodách a balených kojeneckých vodách a výsledky vzájemně porovnat s parametry udávající výrobce na etiketě. Ke stanovení byla použita metoda absorpční spektrofotometrie v UV oblasti spektra.

Na základě získaných výsledků u klasických balených vod došlo k překročení parametru pouze u dvou vod a to u značky Natura (o 1,06 mg/l NO_3^-), SanBenedetto (o 0,3 mg/l NO_3^-). U balených kojeneckých vod došlo k překročení obsahu dusičnanů u značky Kaufland (o 0,14 mg/l NO_3^-), Aquila (o 0,7 mg/l NO_3^-) a AquaAnna (o 1,2 mg/l NO_3^-). Všechny balené vody splňují hodnoty dusičnanů do 50 mg/l a všechny balené kojenecké vody splňují hodnoty dusičnanů do 10 mg/l.

Závěrem této práce bych i ráda porovнала výsledky měření balených vod s monitorovanými výsledky v některých městech po celé České republice (Tabulka č. 5 – Tabulka č. 10). Balená voda je pro nás neekonomická a z důvodu použití PET obalů pro životní prostředí je také velmi neekologická. Za 1,5 litrů vody zaplatíme přibližně 4,90,- – 41,90,- (Tabulka č. 13 a tabulka č. 14). U pitné kohoutkové vody zaplatí přitom spotřebitel přibližně 43,76,- – 56,99,- za m^3 vody (1000 litrů vody). Cenový rozdíl je poměrně dost velký vzhledem k tomu, že hodnoty dusičnanů v některých městech v České republice jsou nižší, než u některých stanovených balených vod. V některých v městech (Severočeský kraj, Západočeský a Jihočeský kraj), vycházejí dokonce hodnoty dusičnanů splňující parametry pro kojenecké vody.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] FOREJT, Martin. DUSIČNANY V POTRAVINÁCH. *Medicina pro praxi*. 2008(5), 2. Dostupné také z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2008/09/13.pdf>.

[2] POPL, Milan a Jan FÄHNRICH. *Analytická chemie životního prostředí*. Praha: VŠCHT, 1995. ISBN 80-7080-165-4.

[3] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. Praha: VŠCHT, 2015. ISBN 978-80-7080-928-0.

[4] *Hydrobiologie: Stanovení obsahu sloučenin dusíku* [online]. 2011, 9 [cit. 2020-04-29].

Dostupné z:

http://hydrobiologie.upol.cz/uploads/files/03_metody_stanoveni_obsahu_%20dusiku.pdf.

[5]] MALÝ, Josef, MALÁ, Jitka, ed. *Chemie a technologie vody*. Brno: NOEL 2000, 1996. ISBN 80-86020-13-4.

[6] WANG, Weiwei, Yunzhou FAN, Guanglian XIONG a Jing WU. Nitrate in drinking water and bladder cancer: A meta-analysis. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]* . 2012, 32(6), 912–918. . DOI: 10.1007/s11596-012-1057-8.

[7] FOSSEN JOHNSON, Sarah. Methemoglobinemia: Infants at risk. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. 2019, 49(3), 57–67.

DOI: 10.1016/j.cppeds.2019.03.002.

[8] AMBROŽOVÁ, Jana. *Aplikovaná a technická hydrobiologie* [online]. 2003 [cit. 2020-04-29]. ISBN ISBN 80-7080-521-8. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-521-8/pages-img/001.html.

[9] BHATNAGAR, Amit a Mika SILLANPÄÄ. A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water. *Chemical Engineering Journal*. 2011, 168(2), 493–504.

DOI: 10.1016/j.cej.2011.01.103.

- [10] KALINOVÁ, Jana. a Kolektiv, *Půdní úrodnost, výživa a hnojení rostlin v ekologickém zemědělství* [online]. , 41 [cit. 2020-04-29]. Dostupné z: <http://agroekologie.zf.jcu.cz/upload/PK%20dokumenty/PRSZ%20-%20distančni/Literatura/Pudni%20urodnost%20vyziva%20a%20hnojeni.pdf>.
- [11] ZIMOVÁ, Dana. *Hnojení s ohledem na problematiku dusíku v pásmech pitných vod*. Ústav vědeckých informací pro zemědělství Praha, 1992.
- [12] CABALLERO, Benjamin. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* [online]. 2003 [cit. 2020-04-26]. ISBN 978-0-12-227055-0. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780122270550/encyclopedia-of-food-sciences-and-nutrition#book-info>.
- [13] *Vyhláška č. 253/2018 Sb.: Vyhláška o požadavcích na extrakční rozpouštědla používaná při výrobě potravin*. Vyšla v: Sběrka zákonů České republiky Ministerstvo zemědělství, částka 128, 4593–4596, 2018.
- [14] *Nitrites and nitrates added to food* [online]. [cit. 2020-04-26]. ISBN 978-92-9499-007-5. Dostupné z: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/nitrates-nitrites-170614.pdf.
- [15] HILL, Michael J. *Nitrates and Nitrites in Food and Water: Nitrate and nitrite contents in meat* [online]. 1996. Woodhead Publishing [cit. 2020-03-22]. ISBN 978-1-85-573655-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt001AJ1Y3/nitrates-nitrites-in/nitrate-nitrite-contents-in>.
- [16] PIZINGEROVÁ, Kateřina a Kolektiv. Akutní methemoglobinemie – závažná alimentární intoxikace zeleninou koupenou na trhu. *Pediatric pro praxi*. 2011, 12(4), 267–269. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/ped/2011/04/11.pdf>.
- [17] *Ústav klinické biochemie a hematologie*. [online]. Fakultní nemocnice Plzeň, 2004 [cit. 2020-02-27]. Dostupné z:

[http://old.fnplzen.cz/pracoviste/ukbh/detail.asp?id=248&retezparametru=~bh=~mk=~kat=~m
erene=~vypocet=~pismenko=](http://old.fnplzen.cz/pracoviste/ukbh/detail.asp?id=248&retezparametru=~bh=~mk=~kat=~m
erene=~vypocet=~pismenko=)

[18] KOŽÍŠEK, František. Je vodovodní voda vhodná pro přípravu kojenecké stravy. *Praktický lékař* [online]. Státní zdravotní ústav Praha, 2007(4) [cit. 2020-05-05].

Dostupné z:

http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/Prakticky_lekar_4_2007.pdf.

[19] DIKEMAN, Michael a Carrick DEVINE. *Risk Mitigation, Risk Management, and Risk Communication*. Elsevier. Retrieved: *Encyclopedia of Meat Sciences* [online]. 2. 2014 [cit. 2020-03-09]. ISBN 978-1-68015-340-8. Dostupné z:

<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00U6GZW4/encyclopedia-meat-sciences/risk-mitigation-risk>.

[20] *Vyhláška č. 252/2004 Sb.: Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody*. Vyšla v: Sbíрка zákonů České republiky Ministerstvo zemědělství, částka 82, 5402–5425, 2004.

[21] KOŽÍŠEK, František. *Studna jako zdroj pitné vody* [online]. In: . Státní zdravotní ústav Praha, 2003 [cit. 2020-05-05]. Dostupné z:

<http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/voda/pdf/studna.pdf>.

[22] *Zpráva o kvalitě pitné vody v ČR za rok 2018: Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ČR ve vztahu k životnímu prostředí* [online]. Státní zdravotní ústav Praha, 2019 [cit. 2020-05-08]. Dostupné z:

http://www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/OZ_18/odborna_voda_2018.pdf.

[23] GERBA, Charles P. Drinking Water Treatment. *Environmental Microbiology* [online]. Elsevier, 2009, 531–538 [cit. 2020-05-08]. DOI: 10.1016/B978-0-12-370519-8.00025-0. ISBN 9780123705198. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123705198000250>.

[24] *Vyhláška č.275/2004 Sb.: Vyhláška o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy*. Vyšla v: Sběrka zákonů České republiky Ministerstvo zemědělství, částka 88, 5786–5808, 2004.

[25] *EFBW: European Federation of bottled water* [online]. Brusel [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: <https://www.efbw.org/index.php?id=2>.

[26] KOŽÍŠEK, František. *Rady spotřebitelům balených vod: Státní zdravotní ústav* [online]. 2005 [cit. 2020-05-06]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/rady-spotrebitelum-balenych-vod>.

[27] *SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY 2008/54/ES: o využívání a prodeji přírodních minerálních vod*. 164/45. 2009.

[28] AVERY, Alexandr Austin. *Infantile Methemoglobinemia: Reexamining the Role of Drinking Water Nitrates*. *Environmental Health Perspectives* [online]. Hudson Institute, Center for Global Food Issues, Churchville, Virginia, USA, 1999(7), 4 [cit. 2020-05-05]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1566680/pdf/envhper00512-0111.pdf>.

[29] HORÁKOVÁ, Marta a kolektiv. *Analytika vody*. VŠCHT Praha, 2000. ISBN 80-7080-391-6.

[30] KALAVSKÁ, Dagmar a Ivan HOLOUBEK. *Analýza vod*. Alfa, 1985. ISBN 80-05-00065-0.

[31] HOLZBECHER, Závěš a Jaroslav CHURÁČEK. *Analytická chemie*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987.

[32] *ČSN ISO 7890-3 (75 7453): Jakost vod - Stanovení dusičnanů. Část 3: Spektrometrická metoda s kyselinou sulfosalicylovou*. Praha: Český normalizační institut, 1995.

[33] ČSN 75 7455: *Jakost vod - Stanovení dusičnanů - Fotometrická metoda s 2,6-dimethylfenolem - Metoda ve zkumavkách*. Praha: Český normalizační institut, 2009.

[34] EDWARDS, Anthony C., Peter S. HOODA a Yvonne COOK. Determination of nitrate in water containing dissolved organic carbon by ultraviolet spectroscopy. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* [online]. 2001, 80(1), 49–59 [cit. 2020-05-15]. DOI: 10.1080/03067310108044385.

[35] SARIN, R. a S.P. PANDE. Potentiometric method for the determination of nitrate in ill-characterised water. *Journal of the Indian Institute of Science*. 1983, (63), 51–56.

[36] BALDRIANOVÁ, Lucie a Peter BARATH. Iontová Chromatografie na profesionální úrovni. *Chemagazín*. 2011, 21(6), 10–11. Dostupné z: http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHEMAGAZIN_XXI_6_cl3.pdf.

[37] DARAEI, H., A. MALEKI, A. H. MAHVI, L. ALAEI, R. REZAEI, E. GHAREMANI a N. MIRZAEI. Simultaneous determination of inorganic anions in bottled drinking water by the ion chromatography method. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 2015, 37(5), 253–257. DOI: 10.3103/S1063455X15050082.

[38] BENEŠOVÁ, Karolína a kolektiv. Využití moderní separační techniky UPLC ke stanovení vitamínu E v zrnku ječmene. *Chemické listy*. 2012, 106, 672–676. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_07_672-676.pdf

[39] ALSOHAIMI, Ibrahim Hotan, Mohammad RIZWAN KHAN, ZEID Abdulah Alothman, Saikh Mohammad WABAIDUR, Masoom RAZA SIDDIQUI, Nasser Fahad ALOTAIBI a Ayman Abdul GHFAR. Quantitative analysis of some inorganic anions (nitrate and nitrite) in metropolitan and bottled water samples using ultra-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Desalination and Water Treatment*. 2018, 103, 232–239. DOI: 10.5004/dwt.2018.21933.

[40] HOLČAPEK, Michal a Pavel JANDERA. Spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS). *Chemické listy*. 1998, 92, 278–286. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2709/2709>

[41] ISO 13395:1996: *Water quality — Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection*. 1. The International Organization for Standardization, 1996.

[42] MIKUŠKA, Pavel a Zbyněk VEČEŘA. Determination of nitrate in water by flow-injection analysis. *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*. 2001, 8(1), 115–120.

[43] KIKAS, Timo. *Introduction to Flow Injection Analysis (FIA)* [online]. [cit. 2020-05-03]. Dostupné z: <http://ww2.chemistry.gatech.edu/class/analyt/fia.pdf>.

[44] ŠELEŠOVSKÁ, Renata a kolektiv. Testování metody stanovení dusičnanů s využitím přenosného fotometrického analyzátoru. *Chemické listy*. 2016, 110, 447–451. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/194/194>.

[45] *Photometer PF-12 Plus: Handbuch manual* [online], [cit. 2020-05-03]. Dostupné z: http://ftp.mn-net.com/english/User%20manuals/Wateranalysis/PF12Plus_Manual_EN/PF-12Plus_Manual_EN.pdf.

[46] KOLMANOVÁ, Yveta, Světlana HALADOVÁ a Roman GREPL. *Stanovení dusičnanů přímou spektrofotometrií*. 7. VAK Havlíčkův Brod, 2016.

SEZNAM GRAFŮ

Graf č.1 Koncentrace dusičnanů v zelenině pěstované v jednotlivých měsících [12]	17
Graf č.2 Kalibrační graf NO_3^-	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka č.1 Oxidační stupně dusíku [3]	11
Tabulka č. 2 Rozsahy dusičnanů v čerstvé, konzervované nebo zmražené zelenině [15].....	18
Tabulka č. 3 Příznaky methemoglobinémie [16]	19
Tabulka č. 4 Účinnost koagulace, sedimentace a filtrace na nežádoucí organismy [23].....	24
Tabulka č.5 Dusičnany v pitné vodě – Vysočina.....	28
Tabulka č.6 Dusičnany v pitné vodě –Středočeský kraj	29
Tabulka č.7 Dusičnany v pitné vodě – Východočeský kraj	29
Tabulka č.8 Dusičnany v pitné vodě –Severočeský kraj	30
Tabulka č. 9 Dusičnany v pitné vodě – Západočeský kraj a Jihočeský kraj	31
Tabulka č. 10 Dusičnany v pitné vodě – Jihomoravský kraj a Moravskoslezský kraj	31
Tabulka č. 11 Barvy viditelného záření a jejich doplňky [31].....	33
Tabulka č. 12 Tabulka ředění vzorků [46].....	43
Tabulka č.13 Množství dusičnanů ve vzorcích balené vody	44
Tabulka č.14 Měření dusičnanů v balené kojenecké vodě	45

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1 Koloběh dusíku [21]	11
Obrázek č. 2 Schéma nejčastěji stanovovaných forem dusíku [4].....	12
Obrázek č. 3 Rezonanční struktura NO_3^-	13
Obrázek č. 4 Rozkladné procesy v souvislosti s eliminací dusíku [4].....	15
Obrázek č. 5 Přeměna dusíku v půdě [11]	16
Obrázek č. 6 Princip metody s kyselinou sulfosalicylovou [29]	34
Obrázek č. 7 Schéma základního zapojení průtokové injekční analýzy	37
Obrázek č. 8 Schéma spektrofotometricky sledované simultánní neutralizační mikrotitrace [44]	38
Obrázek č. 9 Přenosný fotometr PF-12 se sadou VISOCOLOR ECO pro stanovení NO_3^- [45]	39