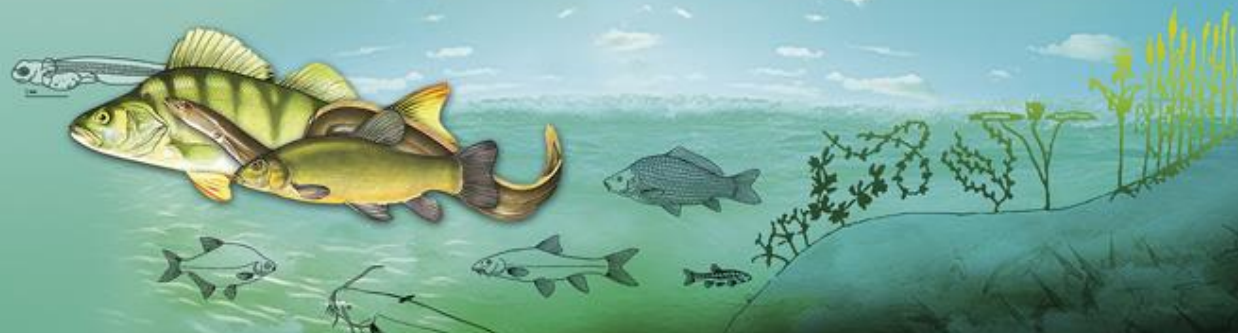




Fakulta rybnářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Sloučeniny dusíku



Sloučeniny dusíku

- **Dusík** spolu s **fosforem** patří mezi **makrobiogenní** prvky, tedy do skupiny **nutrientů**, které jsou nezbytné pro rozvoj všech živých organismů.
- Uplatňuje se při všech biologických procesech probíhajících v povrchových, podzemních i odpadních vodách i při biol. procesech čištění a úpravy vody.

Formy výskytu dusíku (výskyt v různých oxidačních stupních):

- NH_4^+ , NH_3 , OCN^- , CN^-
- elementární dusík (N_2)
- N_2O
- NO
- NO_2^-
- NO_3^-

Formy výskytu dusíku (výskyt v různých oxidačních stupních):

- **-III:** NH_4^+ , NH_3 , OCN^- , CN^-
- **0:** elementární dusík (N_2)
- **+I:** N_2O
- **+II:** NO
- **+III:** NO_2^-
- **+V:** NO_3^-

Anorganické sloučeniny dusíku

- NH_3 / NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-
- kyanidy, kyanokomplexy, amminkomplexy; např. $[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$, $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ - obsaženy v OV z galvanického pokovování

$$N_{\text{anorg}} = N_{\text{amon}} + N_{\text{NO}_2} + N_{\text{NO}_3}$$

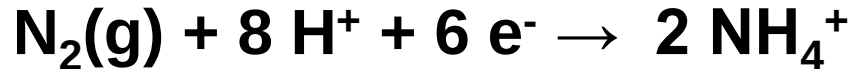
Organicky vázaný dusík

- ve formě bílkovin a jejich rozkladných produktů (peptidů a aminokyselin), močoviny, alifatických i aromatických aminů, aminosacharidů, heterocyklických dusíkatých sloučenin, vč. dusíkatých látek, které vznikají rozkladem biomasy mikroorganismů

$$N_{\text{celk}} = N_{\text{anorg}} + N_{\text{org}}$$

Fixace dusíku

- **volný dusík** může být redukován některými bakteriemi a sinicemi



- vzniklý amoniakální dusík → přeměňován na **organicky vázaný dusík**
- ve vodách v menší míře než v půdě

Asimilace dusíku

- využití různých forem dusíku pro tvorbu nové biomasy
- bakterie, řasy a sinice preferují asimilaci amoniakálního dusíku před dusičnany

Amonifikace, Deaminace

- mikrobiálním rozkladem organických dusíkatých látek (*deaminací*) se uvolňuje **amoniakální dusík**
- pro organismy zdrojem pro syntézu nové biomasy

Nitrifikace I

= **biochemická oxidace amoniakálního dusíku** na dusitany až dusičnany (ve vodách v oxických podmínkách probíhá velmi snadno)

Nitrifikace I probíhá ve dvou stupních:

1. stupeň nitrifikace - oxidace amoniaku na **dusitany**
- provádí hl. **Nitrosomonas** (má menší růstovou rychlost než *Nitrobacter*)



2. stupeň nitrifikace – oxidace dusitanů na **dusičnany**
- provádí hl. **Nitrobacter**



Faktory ovlivňující průběh nitrifikace I

- **Teplota**

při $t < 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ – rychlost velmi malá

při $t < 12\text{ }^{\circ}\text{C}$ – rychlost velmi inhibovaná

při $t = 20 - 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ – největší rychlost

- **pH**

V průběhu nitrifikace dochází ke snižování pH vody:



Optimální pH pro nitrifikaci: 7 – 8,5, při poklesu pH ($\text{pH} \leq 6 - 6,5$) dochází k inhibici nitrifikace

- **Přítomnost toxických kovů, antibiotik**

dochází k inhibici nitrifikace

Nitrifikace II

- v roce 2015 byla v časopise Nature (Daims et al., 2015) poprvé popsána jednostupňová nitrifikace – jednostupňová biochemická oxidace amoniakálního dusíku až na dusičnany prováděna bakteriemi rodu *Nitrospira* (*Candidatus Nitrospira inopinata*)
- proces označen jako **COMAMMOX**, bakterie provádějící tento proces jsou někdy označovány jako comammox Nitrospira
- pravděpodobně probíhá především v biofilmech

Denitrifikace

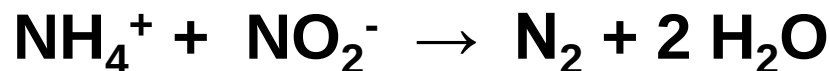
- biochemická redukce dusičnanů na elementární dusík nebo **oxidy dusíku** (*probíhá v anoxických podmínkách*)
- na denitrifikaci se podílejí **organotrofní** (striktně či fakultativně **anaerobní**) mikroorganismy (např. *Pseudomonas*, *Micrococcus*)
- V průběhu denitrifikace dochází k **alkalizaci prostředí**, tento proces je méně citlivý ke změnám pH a probíhá při **pH 6 – 9**.



- Tohoto procesu se spolu s nitrifikací využívá **v technologii vody k odstraňování dusíkatých sloučenin**

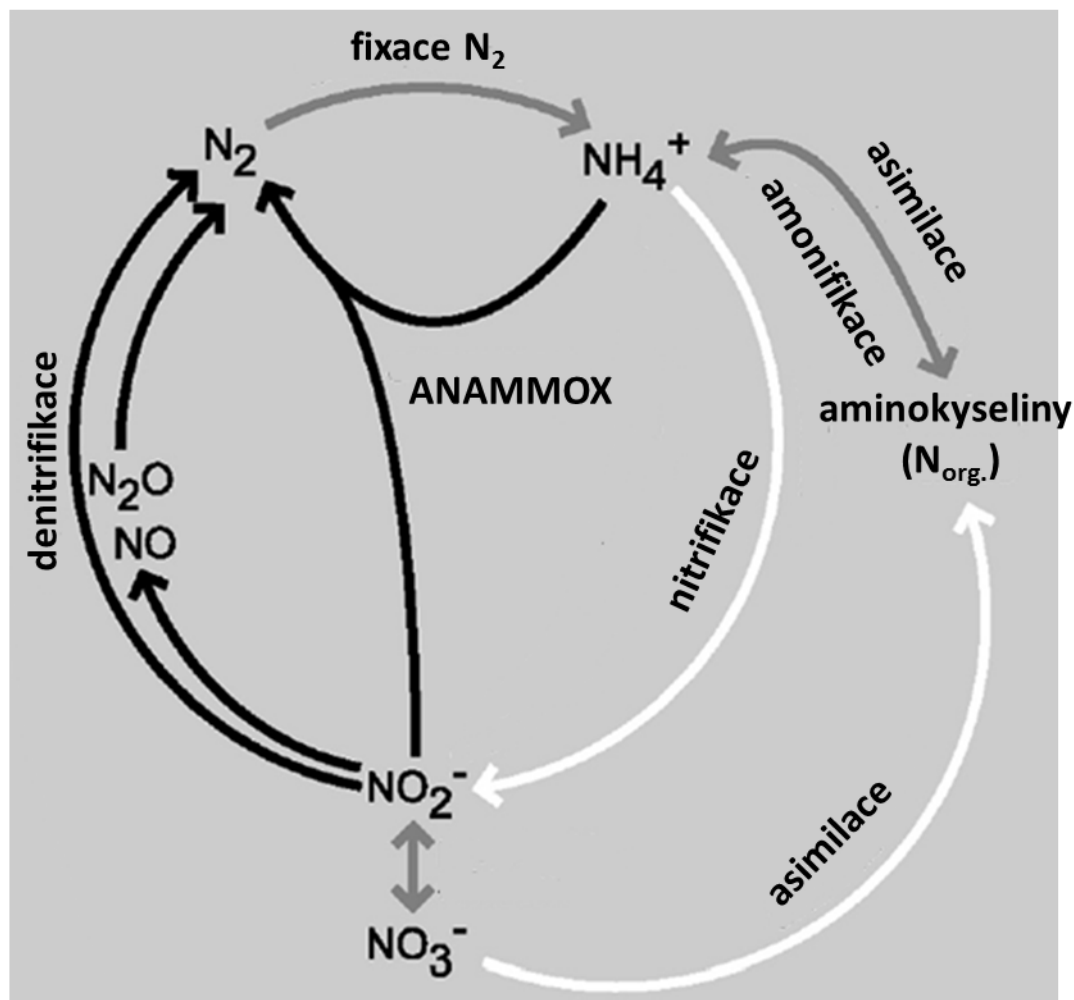
ANAMMOX

- **ANaerobic AMMonium OXidation** = **anaerobní oxidace amoniaku**



- biologický proces, který provádí několik kmenů bakterií
- takto je označován i technologický proces, kdy v jednom reaktoru probíhá biochemická oxidace amoniaku na dusitany a v druhém (anaerobním) reaktoru pak dochází ke vzniku molekulového dusíku – využíváno především pro čištění vod s vysokým obsahem amoniakálního dusíku

Cyklus dusíku



Vysvětlivky:

černá čára – anoxický/anaerobní děj, **bílá čára** – oxický/aerobní děj,

šedá čára – obojí (anoxický i oxický děj)

Biochemické přeměny dusíku

- **Amoniakální dusík** je v anaerobních podmínkách stálý, uvolňuje se mikrobiálním rozkladem organických dusíkatých látek (**deaminací**) a je pro organismy zdrojem pro syntézu nové biomasy (**asimilace**); v aerobních podmínkách podléhá **nitrifikaci** (za vzniku **dusičnanů**); v anaerobních podmínkách může podléhat anaerobní oxidaci (**ANAMMOX**)
- **Volný dusík** může být redukován některými bakteriemi a sinicemi (takto vzniklý amoniakální N je přeměňován na **organicky vázaný N**) - **fixace dusíku** (probíhá v půdě, ve vodách v menší míře); vzniká při procesu **denitrifikace** a anaerobní oxidací amoniakálního dusíku (**ANAMMOX**)
- **Oxidy dusíku (N_2O , NO)** mohou vznikat při procesu **denitrifikace**

Biochemické přeměny dusíku

- **Dusitany** jsou biochemicky **velmi labilní**, ve vodě obvykle nepřevažují (podléhají **nitrifikaci** a **denitrifikaci**, účastní se anaerobní oxidace amoniakálního dusíku – procesu **ANAMMOX**)
- **Dusičnany** – stabilní při aerobních podmínkách, v anoxických podmínkách mohou podlehnout **redukci na elementární dusík** (**denitrifikaci**); mohou být rovněž asimilovány rostlinami (**asimilace**)

Využití biochemických přeměn dusíku v technologii vody

- Čistírny odpadních vod (běžné komunální OV) – procesy *nitrifikace* a *denitrifikace*
- Čištění odpadních vod s vysokou koncentrací amoniaku – *Anammox*
- Intenzivní chovy ryb s recirkulací vody – *nitrifikace* (přeměna toxického amoniaku na méně toxické dusičnany), *denitrifikace* v počátcích, *asimilace*
- Akvaponie – *asimilace*



Zdroje dusíku ve vodách neovlivněných antropogenní činností

- převažují N-látky org. původu – rozkladem organických dusíkatých látek rostlinného i živočišného původu a metabolickou činností
- fixací elementárního dusíku z atmosféry některými druhy sinic

Zdroje dusíku ve vodách ovlivněných antropogenní činností

- **Odpadní vody komunální**

Specifická produkce dusíku na 1 obyvatele za den:

- celkový dusík: 11 – 23 g
- organický dusík: 3 – 16 g (bílkoviny a jejich rozkladné produkty, močovina, atd.)
- anorganický dusík: 8 – 10 g

(počítá se **specifickou produkcí 12 g N na 1 obyvatele a den**)

- **Odpady ze zemědělství** (živočišná výroba, splachy ze zemědělsky obdělávané půdy hnojené dusíkatými hnojivy)
- **Odpady z potravinářského průmyslu**
- **Průmyslové OV** (např. z tepelného zpracování uhlí)

Zdroje a formy výskytu dusíku v atmosférických vodách

- rozpouštěním dusíkatých látek přítomných v atmosféře, jedná se o dusík přírodního i antropogenního původu:
- **oxidy dusíku** N_2O , NO , NO_2 (souhrnně NO_x) – vznikají při spalování paliv, jejich oxidací vznikají dusitany i dusičnany
- **amoniak** (NH_3) – původu antropogenního i přírodního, dominantním zdrojem je biologická produkce, rozklad organické hmoty v půdě

Amoniakální dusík

- je produktem **minerálního rozkladu organických dusíkatých látek** živočišného a rostlinného původu
- **Antropogenní zdroje:**
 - splaškové OV, OV ze zemědělských výroby, emise amoniaku v okolí závodů živočišné výroby (**např. roční produkce amoniaku na jednu dojnici = 60 kg**)
 - dusíkatá hnojiva aplikovaná na pole
 - OV ze zpracování uhlí a galvanického pokovování
 - průmyslové exhalace (zdroj amoniaku v atmosférických vodách)
 - chloraminace vody – zabezpečování hygienické kvality

Formy výskytu amoniaku

- **Nedisociovaná** (volná) forma: NH_3
pro ryby toxická! – NPK pro lososovité – $0,01 \text{ mg.l}^{-1}$
– NPK pro kaprovité – $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$
- **Disociovaná** (vázaná) forma: NH_4^+
(pro ryby netoxická)

Forma výskytu amoniaku závisí na **pH** a **teplotě** vody:

Podíl volného amoniaku se zvyšuje se zvyšujícím se pH vody a zvyšující se teplotou.

Závislost koncentrace nedisociovaného amoniaku na teplotě a pH vody (v procentech celkového amoniaku)

pH / t	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C
7	0,12 %	0,175 %	0,26 %	0,37 %	0,55 %
8	1,19 %	1,73 %	2,51 %	3,62 %	5,21 %
9	10,73 %	14,95 %	20,45 %	27,32 %	35,46 %
10	54,59 %	63,74 %	71,99 %	78,98 %	84,60 %
11	92,32%	94,62 %	96,26 %	97,41 %	98,21%

Výskyt amoniaku ve vodách

- **Podzemní nekontaminované vody** – obvykle setiny mg.l^{-1}
- **Minerální vody** – i desetiny mg.l^{-1}
- **Podzemní vody ropného původu** – i 100 mg.l^{-1}
- **Povrchové vody** – do 1 mg.l^{-1}
- **Atmosférické vody** – jednotky mg.l^{-1} , v průmyslových oblastech i $> 10 \text{ mg.l}^{-1}$
- **OV splaškové** – desítky mg.l^{-1}
- **OV průmyslové** – (vody ze silážování – až 400 mg.l^{-1} , močůvka 7 000 mg.l^{-1} , nízkoteplotní karbonizace uhlí jednotky g.l^{-1})

Vlastnosti a význam amoniaku

- NH_3 – těkavý, z vody lze odstranit provzdušňováním (*jen v silně alkalickém prostředí!*)
- Za oxických podmínek je ve vodě **nestálý**, podléhá snadno **biochemické oxidaci (nitrifikaci)**, **ALE** chemická oxidace – **obtížná** (oxiduje se např. **chlorem** – vznik chloraminů, dále N_2 , N_2O a NO_3^-)
- V podzemních vodách významný indikátor fekálního znečištění!
- Amoniakální dusík významně zvyšuje korozi mědi a jejích slitin

Možnosti eliminace amoniaku z vody

- **Oxidací** – chemická oxidace – velmi obtížná (např. **ozonem** za přítomnosti katalyzátoru (MnO_2):



nebo **chlorem** (vznik **chloraminů**, N_2 , N_2O , NO_3^-)

- **Infiltrace půdou** – ionty NH_4^+ se dobře váží na negativně nabitě půdní částice a při infiltraci půdou jsou NH_4^+ v půdě zadržovány.
- **Nitrifikací** na dusičnany a následující **denitrifikací** až na N_2
- procesem ANAMMOX

Dusitany

Zdroje:

- minerály se nevyskytují
- vznikají denitrifikací dusičnanů
- nitrifikací amoniakálního dusíku
- některé OV (výroba barviv, strojírenský průmysl, dusitany se používají v chladicích kapalinách při obrábění kovů, jsou součástí některých inhibitorů koroze)

Formy výskytu dusitanů

- kyselina dusitá (HNO_2) je středně silná kyselina a disociuje podle rovnice:



při pH nad 5 zcela převažují ionty NO_2^-

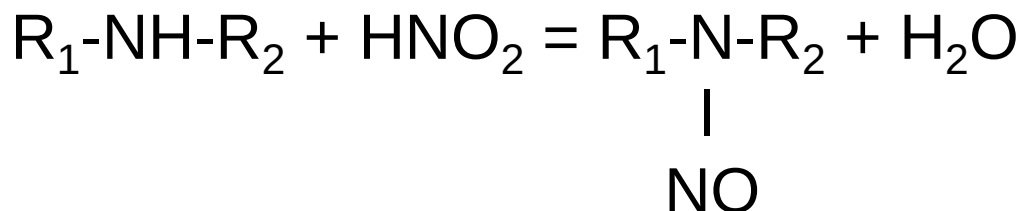
- většina dusitanů dobře rozpustná (výjimka AgNO_2)

Výskyt dusitanů v vodách

- V neznečištěných vodách obvykle ve stopových koncentracích – doprovázejí dusičnany a amoniakální dusík
- Povrchové vody – tisíce až setiny mg.l^{-1}
- Atmosférické vody (po bouřkové činnosti), vody z rašelinišť – až desetiny mg.l^{-1}
- OV splaškové – $i > 1 \text{ mg.l}^{-1}$
- OV průmyslové (povrchové úpravy kovů) – i stovky mg.l^{-1}
- V intenzivních chovech ryb s recirkulací vody – desetiny až jednotky mg.l^{-1}

Význam a vlastnosti dusitanů

- Náhlý vzrůst koncentrace dusitanů v podzemních vodách – možná indikace fekálního znečištění (nitrifikace amoniakálního dusíku)
- V silně kyselém prostředí – může HNO_2 reagovat **se sekundárními aminy** – vznik **N-nitrosoaminů** (některé z nich potenciální **karcinogeny**) – mohou vznikat v žaludku: kyselé prostředí v žaludku, přítomnost sekundárních aminů jako produktu rozkladu organických dusíkatých látek + příjem dusitanů):



- Nitrosace sekundárních aminů může probíhat i v neutrálním prostředí (ve spojení s bakteriální činností)

Význam a vlastnosti dusitanů

- Pro ryby i teplokrevné organismy silně jedovaté. Váží se na krevní barvivo **hemoglobin** za vzniku **methemoglobinu** – důsledkem je snížení transportní kapacity krve pro kyslík
- Pro ryby – silně jedovaté, jejich toxicita se výrazně snižuje se zvyšující se koncentrací chloridů ve vodě.
- Imisní limit pro povrchové vody: $0,16 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_2^-$
- Nejvyšší mezní hodnota dusitanů v pitné vodě: $0,5 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_2^-$
- NMH pro kojenecké vody: $0,02 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_2^-$

Otrava dusitany se u ryb projevuje hnědou barvou krve a žaber v důsledku přítomnosti methemoglobinu

Normální barva žaber



Hnědé zabarvení žaber



Dusičnany

- V minerálech obsaženy jen zřídka (výjimka dusičnan sodný = chilský ledek).
- Vznikají sekundárně při nitrifikaci (konečný produkt rozkladu organických látek v oxickém prostředí)
- Splachy ze zemědělsky obdělávané půdy
- Anorganického původu – v atmosférických vodách (NO_2 vzniká jednak oxidací NO a jednak je součástí emisí ze spalování paliv)

Výskyt dusičnanů ve vodách

- kyselina dusičná (HNO_3) je silná kyselina a disociuje podle rovnice:



- při hodnotách pH přírodních, užitkových a odpadních vod je rovnováha zcela posunuta doprava → vyskytují se jako jednoduché anionty NO_3^-
- patří mezi 4 hlavní anionty, které se ve vodě vyskytují

Výskyt dusičnanů ve vodách

- **Koncentrace v podzemních vodách** – rozdílná (jednotky až desítky mg.l^{-1})
 - oblasti s mimořádně vysokými koncentracemi dusičnanů v podzemních vodách, např. **Znojensko** (i přes $100 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$)
 - **vysoké koncentrace** v oblastech s **borovými lesy** s písčitou provzdušněnou půdou (přítomnost bakterií schopných **fixace volného N** a **nitrifikačních bakterií**)
 - *koncentrace se mění s vegetačním obdobím největší koncentrace v zimním období (vyluhují se z půdy), v letním období jsou odčerpávány vegetací*
- **Koncentrace v povrchových vodách** – jednotky až desítky $\text{mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$

Vlastnosti a význam dusičnanů

- Za **oxických** podmínkách jsou ve vodě **stabilní**, za **anoxických** podléhají **denitrifikaci** (možná i chemická redukce – za přítomnosti Fe^{2+})
- V gastrointestinálním traktu se mohou redukovat bakteriální činností na dusitany – váží se na hemoglobin za vzniku methemoglobinu (pokud se tak nestane, vyloučí se močí) → vznik **methemoglobinemie**
- **Prekurzory dusitanů** – proto je jejich obsah v pitné vodě limitován
- **Limit pro pitnou vodu** – $50 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$ ($11 \text{ mg.l}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$)

Vlastnosti a význam dusičnanů

- Pro ryby – slabě jedovaté
- Imisní limit pro povrchové vody: $7 \text{ mg.l}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$
($31 \text{ mg.l}^{-1} \text{ NO}_3^-$)

Kyanidy

- **Geneze** – pokud se vyskytují ve vodách, jsou antropogenního původu (OV vody z povrchové a tepelné úpravy kovů, tepelného zpracování uhlí, výroby karbidu vápenatého)

Formy výskytu kyanidů

- Jednoduché a komplexní kyanidy (suma = veškeré kyanidy)
- **HCN** = $\text{H}^+ + \text{CN}^-$ slabá kyselina, v neutrálním a kyselém prostředí dominuje nedisociovaná molekula HCN, anion CN^- převažuje při $\text{pH} > 9,2$
- **CN^-** vytváří komplexní kyanidy:
 - nejstabilnější – hexakynoželeznatany a hexakynoželezitany
 - málo stabilní – $[\text{Zn}(\text{CN})_4]^{2-}$ $[\text{Cd}(\text{CN})_4]^{2-}$
- **Rozdílná stabilita komplexů** – problémy s analytickým stanovením – analyticky se odlišují ***snadno uvolnitelné kyanidy*** (*jedná se o jednoduché kyanidy a málo stabilní kyanokomplexy*)

Vlastnosti a význam kyanidů

- **Jednoduché kyanidy** – nejsou příliš stabilní – v přírodních podmínkách podléhají chemické hydrolýze i biochemické degradaci
- **Komplexní kyanidy** podléhají fotochemickému rozkladu (zvyšuje se jejich toxicita)
- **Eliminace kyanidů z vody** – oxidací na kyanatany OCN^- (chlorem, peroxidem vodíku, ozonem), v technologii vody – nejdůležitější oxidace chlorem na kyanatany (kyanatany jsou cca 1000x méně toxické než kyanidy) nebo až na N_2
- **Jednoduché kyanidy** jsou **velmi toxické**, toxicita **komplexních kyanidů** závisí na jejich stabilitě.

Toxicita kyanidů

- Mechanismus účinku spočívá v blokaci cytochromoxidázy v mitochondriích (způsobena navázáním kyanidu na trojmocné železo) → přerušen celý dýchací řetězec a buňky nejsou schopny přijímat kyslík
- Toxické – jednoduché kyanidy; z komplexních kyanidů ty, které jsou méně stabilní (Cd, Zn, Cu),
- Středně toxické Ni, Cu
- Slabě toxické Fe, Co
- Se vzrůstající hodnotou pH – toxicita kyanidů klesá (snižuje se podíl HCN)

Otrava kyanidy se u ryb projevuje jasně červenou barvou krve a žaber

(krev je prokysličená, ale díky inhibici dýchacích enzymů není schopna kyslík předávat tkáním → „tkáňové dušení“)



Mezní hodnoty pro kyanidy

- Toxicita kyanidů pro ryby se projevuje v rozmezí 0,05 – 1 mg.l⁻¹
- Koncentrace snadno uvolnitelných kyanidů by neměla překračovat 0,005 mg.l⁻¹
- Pitná voda: 0,01 mg.l⁻¹ CN⁻
- Kojenecká voda: 0,005 mg.l⁻¹
- Vodárenské toky: 0,01 mg.l⁻¹ veškerých kyanidů
- Ostatní povrchové vody: 0,2 mg.l⁻¹ veškerých kyanidů

Otázky

1. Zdroje a formy výskytu dusíku ve vodách
2. Formy výskytu dusíku v atmosférických vodách
3. Vysvětlete pojem deaminace (jaká forma dusíku se při tomto procesu uvolňuje?)
4. Fixace dusíku – charakterizujte proces, jak se tento proces podílí na obsahu dusíku ve vodách?
5. Nitrifikace – jak probíhá, za jakých podmínek, které mikroorganismy na tomto procesu podílejí, které faktory tento proces ovlivňují, co je výsledkem tohoto procesu?
6. Denitrifikace – za jakých podmínek probíhá, kde se tohoto procesu využívá, co je výsledkem tohoto procesu?
7. Základní formy výskytu amoniaku ve vodě, jejich toxicita ve vodě, vliv kvality vody na výskyt jednotlivých forem amoniaku

Otázky - pokračování

8. Dusitany, toxicita pro ryby, mechanismus toxického účinku dusitanů, vliv kvality vody na citlivost ryb vůči dusitanům
9. Proč je limitována koncentrace dusitanů ve vodě, proč je přísnější limit pro kojeneckou vodu?
10. Čím je charakterizována otrava ryb dusitany, co je příčinou?
11. Dusičnany ve vodách – zdroje, význam, toxicita pro ryby, proč je limitována koncentrace dusičnanů v pitných vodách?
12. Zdroje kyanidů ve vodách a formy jejich výskytu a toxicita, který faktor kvality vody ovlivňuje toxicitu kyanidů?
13. Mechanismus účinku kyanidů na ryby, jak se projevuje otrava ryb kyanidy?
14. Jakým způsobem lze z vody odstranit kyanidy?
15. Co víte o komplexních kyanidech (toxicita, stabilita, příklady)