



VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO
FAKULTA VETERINÁRNÍ HYGIENY A EKOLOGIE
ÚSTAV EKOLOGIE A CHOROB ZVĚŘE, RYB A VČEL



Standardní operační postup - SOP 16

Stanovení celkového dusíku ve vodách (MERCK)



Předmět SOP

Tento SOP určuje postup metody pro stanovení celkového dusíku především v povrchových, případně i v odpadních vodách, pomocí kyvetového testu spektrofotometricky.

Princip metody

Organické a anorganické sloučeniny dusíku + oxidační činidlo → termoreaktor → dusičnany.
Roztok okyselený kyselinou sírovou a fosforečnou → dusičnany + 2,6-dimethylfenol (DMP) → oranžově zbarvený 4-nitro-2,6-dimethylfenol → stanovení fotometricky (spektrofotometr Spectroquant NOVA 60).

Rozsah měření 0,5 – 15 mg/l N

Bezpečnostní opatření

Při hodnocení vzorků je nutno dodržovat bezpečnostní opatření. Vzhledem k manipulaci s chemikáliemi je nezbytné použítí ochranných pomůcek a rukavic. Pracujte opatrně – obsahuje kyselinu sírovou a fosforečnou!

Příprava vzorků

- analyzovat co nejdříve po provedení odběru vzorků

Postup metody

- k pipetování používáme nastavitelné automatické pipety s jednorázovými špičkami o objemu 5000 µl (5 ml) a 1000 µl (1 ml)
- vzorky s přidanými reagenciemi energicky promícháváme na el. míchadle vortex
- vzorek je nejprve třeba rozložit (přeměna sloučenin dusíku na dusičnany) v termoreaktoru

Rozklad v termoreaktoru

	Měřený vzorek	
Upravený vzorek	10 ml	Pipetujte do prázdné kruhové kyvety.
Činidlo N-1K	1 plná modrá mikrolžička*	Přidejte a promíchejte.
Činidlo N-2K	6 kapek**	Přidejte, dobře uzavřete víčko a obsah promíchejte.
Kyvetu zahřívejte v předehřátém termoreaktoru po dobu 1 hodiny při teplotě 120 °C . Uzavřenou kyvetu nechejte při pokojové teplotě ve stojánku vychladnout. Nikdy neochlazujte kyvetu studenou vodou!		
Po 10 minutách krátce protřejte. (Ve vzorku po rozkladu se často objeví zákal nebo sraženina).		

*součástí víčka lahvičky činidla

**při přidávání činidla držte lahvičku ve svislé poloze

Příprava vzorku k měření

Rozložený, ochlazený vzorek (při vzniku sraženiny nebo zakalení použijte čirý supernatant nebo filtrát)	1 ml	Pipetujte do připravené reakční kruhové kyvety. Obsah nemíchejte!
Činidlo N-3K	1 ml	Přidejte pomocí pipety, dobře kyvetu uzavřete, promíchejte. (Chraňte si oči! Kyveta se může zahřát!) Při manipulaci držte kyvetu pouze za šroubovací uzávěr!
Nechejte horkou kyvetu stát cca 10 minut . Neochlazujte studenou vodou!		

Poznámky k měření

- je nezbytné, aby kyveta byla vždy zcela čistá → otřít hadříkem/buničinou
- jakékoli zakalení roztoku způsobuje vykázání falešně vysokých hodnot
- reakční kruhovou kyvetu vložíme do spektrofotometru Spectroquant NOVA 60, metoda se automaticky načte, díky čárovému kódu nacházejícímu se na kyvete, a proběhne měření
- barva měřeného roztoku zůstává stabilní po dobu nejméně 30 minut po ukončení reakční doby
- spektrofotometr vyhodnotí koncentraci měřené látky v jednotkách mg/l