

	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení hnojiv 20144.1 - Stanovení obsahu dusičnanového dusíku spektrofotometricky	Vydání Revize	1 0

STANOVENÍ OBSAHU DUSIČNANOVÉHO DUSÍKU SPEKTROFOTOMETRICKY

1 Účel a rozsah

Metoda je vhodná pro stanovení obsahu dusičnanového dusíku v hnojivech.

2 Princip

Dusík v dusičnanové formě obsažený ve výluhu vzorku adsorbuje světelné záření v UV oblasti spektra (210 nm). Dusičnany ve výluhu se redukuje na dusitany a absorbance se měří v UV oblasti. Z rozdílu naměřených hodnot absorbancí původních a redukovaných roztoků se vypočítá obsah dusičnanového dusíku ve vzorku.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Kyselina sírová, H_2SO_4 , koncentrovaná, 96%, $\rho = 1,84 \text{ g/l}$.
- 3 Kyselina sírová, H_2SO_4 , zředěná 1 + 9, (V + V).

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se asi k 700 ml vody (1) se opatrně přidává 100 ml koncentrované H_2SO_4 . Po ochlazení se doplní objem na vodu (1) po značku a promíchá.

- 4 Kyselina sírová, H_2SO_4 , zředěná 1 + 1, (V + V).

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se asi k 450 ml vody (1) opatrně přidává 500 ml koncentrované H_2SO_4 . Po ochlazení se doplní objem vodou (1) po značku a promíchá.

- 5 Síran měďnatý pentahydrát, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

- 6 Síran měďnatý, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, roztok $c(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 2,5 \text{ ‰}$.

Příprava: Ve 100ml odměrné baňce se v asi 50 ml vody (1) rozpustí 2,5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (5). Po vytemperování roztoku na laboratorní teplotu se obsah baňky doplní vodou (1) po značku a promíchá.

- 7 Dusičnan sodný, NaNO_3 .

- 8 Dusičnan sodný, NaNO_3 , zásobní standardní roztok, $c(\text{N-NO}_3^-) = 1000 \text{ mg/l}$.

Příprava: V 1000ml odměrné baňce s asi 500 ml vody (1) se rozpustí 6,068 g dusičnanu sodného (NaNO_3) (7). Poté se baňka doplní vodou (1) po značku a pečlivě promíchá. Při uchování ve skle, v chladu a temnu je roztok stálý 6 měsíců.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení hnojiv	Vydání	1
	20144.1 - Stanovení obsahu dusičnanového dusíku spektrofotometricky	Revize	0

- 9 Dusičnan sodný, NaNO_3 , pracovní standardní roztok, $c(\text{N-NO}_3^-) = 50 \text{ mg/l}$.
Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 5 ml zásobního standardního roztoku (8), doplní vodou (1) po značku a roztok se promíchá. Při uchování ve skle, v chladu a temnu je roztok stálý 3 týdny.
- 10 Granule zinku, Zn, reduktor.
Příprava: K 20 g granulí zinku o průměru asi 3 až 5 mm se přidá 150 ml vody (1) a 15 ml zředěné kyseliny sírové (4). Nechá se působit do očištění povrchu granulí. Potom se granule opláchnou vodou (1) a kapalina se odsaje na Büchnerově nálevce. K opláchnutým granulím se do kádinky přidá 150 ml vody (1) a po kapkách za stálého míchání se přidává 25 ml roztoku síranu měďnatého (6). Po zčernání granulí se roztok odsaje a granule se pečlivě opláchnou vodou (1). Po usušení se uchovají v uzavřené skleněné nádobě.
- 11 Roztok pro ředění koncentrovaných vzorků.
Příprava: Do 250ml odměrné baňky s asi 200 ml vody (1) se přidá 10 ml zředěné kyseliny sírové (3). Pak se baňka doplní vodou (1) po značku a pečlivě promíchá.

Poznámky

- 1 *Pro přípravu pracovních standardních roztoků je vhodné využít komerčně dodávaný základní standardní roztok od ověřeného výrobce.*

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Analytické váhy s přesností 0,001 g.
- 2 Třepačka rotační, (30 – 45) ot/min.
- 3 Filtrační papír střední nebo vysoké hustoty s vysokou rychlostí filtrace bez obsahu dusičnanů.
- 4 Odstředivka, 4000 ot/min.
- 5 Spektrofotometr s nastavitelnou vlnovou délkou 210 nm s křemennou kyvetou 10 mm.
- 6 Dilutor nebo vhodné dávkovače.

5 Pracovní postup

5.1 Kalibrace

Podle tabulky č. 1 se do 100ml odměrných baněk připraví kalibrační roztoky tak, že se ředí pracovní standardní roztok (9) a obsahy baněk se doplní vodou (1) po značku. Obsahy baněk se pečlivě promíchají. Kalibrační roztoky se připravují vždy čerstvé.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení hnojiv 20144.1 - Stanovení obsahu dusičnanového dusíku spektrofotometricky	Vydání Revize	1 0

Tabulka č. 1. Příprava kalibračních roztoků pro měření N-NO₃⁻ do 100ml odměrných baněk.

Pořadové číslo roztoku	Pipetovaný objem pracovního standardního roztoku (9) (ml)	Koncentrace kalibračního roztoku c(N-NO ₃ ⁻) (mg/l)
0	0	0
1	5	0,25
2	10	5
3	15	7,5
4	20	10

5.2 Příprava výluhu vzorku

Do 500ml Stohmanovy baňky se naváží ($2,5 \pm 0,001$) g vzorku. Ke vzorku v baňce se přidá přesný objem 250 ml vody (1). Baňka se uzavře zátkou a třepe se 60 min v rotační třepačce při (35 – 45) ot/min. Roztok se promíchá a zfiltruje přes suchý filtr střední hustoty do suché nádoby. Filtrát musí být čirý. Prvních 50 ml filtrátu se nepoužije. Slepý pokus se připraví pouze s použitím 250 ml vody (1).

Poznámky

- 2 Filtraci výluhů lze nahradit odstředěním po dobu 20 min při 4000 ot/min.
- 3 Místo Stohmanovy baňky se může použít 1000ml láhev z inertního PE-HD materiálu.

5.3 Příprava výluhů pro měření

Výluhy připravené podle bodu 5.2 se ředí vodou (1) podle tabulky č. 2.

Tabulka č. 2. Příprava ředění výluhů pro měření N-NO₃⁻.

Deklarovaný obsah N- NO ₃ ⁻ v hnojivu (%)	Objem baňky (ml)	Pipetovaný objem výluhu vzorku (ml)	Použitá ředění (×)
Do 0,5	100	10	10
0,5 – 1,0	100	5	20
1,0 – 2,5	100	2	50
2,5 – 5,0	100	1	100
2,5 – 10,0	200	1	200
Nad 10	500	1	500

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení hnojiv 20144.1 - Stanovení obsahu dusičnanového dusíku spektrofotometricky	Vydání Revize	1 0

Do dvou 20ml zkumavek se pipetuje 1,5 ml kalibračního standardního roztoku nebo ředěného výluhu vzorku nebo slepého pokusu připraveného podle bodu 5.2, přidá se 6,0 ml vody (1) a 0,3 ml zředěné kyseliny sírové (3). Objem zkumavek se promíchá a do jedné se přidají 2 až 3 granule reduktoru (10). Zkumavky bez granulí se uzavrou zátkou, s reduktorem se nechají bez zátky stát přes noc.

Poznámky

- 4 *Pokud je deklarovaný obsah dusičnanového dusíku v hnojivu pod 0,1 %, pro přípravu vzorku se k měření použije neředěný výluh.*
- 5 *Pro měření se mohou připravit i větší objemy vzorků při zachování poměru (vzorek : voda : zředěná H₂SO₄) (5 : 20 : 1).*

5.4 Měření

Nulová linie spektrofotometru se nastaví na vodu (1). Měří se absorbance roztoků kalibrační křivky, vzorků a slepého pokusu při vlnové délce procházejícího světla $\lambda = 210$ nm v kyvetě o optické délce 10 mm.

Z rozdílů absorbancí roztoků s reduktorem a bez reduktoru se pro kalibrační standardní roztoky sestrojí kalibrační křivka. Rozdíly absorbancí jednotlivých vzorků s reduktorem a bez reduktoru se vyhodnocují podle získané křivky.

Poznámky

- 6 *Kalibrační přímka prochází bodem 0.*
- 7 *Pokud naměřená absorbance vzorku překročí rozsah kalibrační křivky, je nutné měřený vzorek včetně redukovaného vhodně naředit zředěnou kyselinou sírovou (11) a zopakovat měření vzorku.*
- 8 *Při analýze je třeba používat čiré roztoky výluhů vzorků.*
- 9 *V průběhu měření musí být zachována konstantní teplota, protože hodnota absorbance dusičnanového iontu je teplotně závislá.*
- 10 *Při styku vzorků s plasty může dojít ke zvýšení hodnoty absorbance. Přidáním několika kapek vodíku peroxidu lze tento nárůst odstranit.*
- 11 *V průběhu práce je třeba dbát na čistotu použitého nádobí, pracovat se stejnou šarží vody (1) a v průběhu měření kontrolovat absenci vzduchových bublinek v kyvetě. Je vhodné používat průtokovou kyvetu.*
- 12 *Pokud koncentrace dusičnanového dusíku ve slepém pokusu nepřesáhne hodnotu meze stanovitelnosti, může se hodnota slepého pokusu zanedbat.*

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení hnojiv 20144.1 - Stanovení obsahu dusičnanového dusíku spektrofotometricky	Vydání Revize	1 0

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah dusičnanového dusíku vyjádřený hmotnostním zlomkem w v procentech se vypočte podle vztahu

$$w = \frac{((c_v - c_r) - (c_{sl} - c_{slr})) \times V \times V_1}{m \times a_1 \times 10000}$$

- V celkový objem zásobního roztoku vzorku v ml,
 V_1 celkový objem po naředění roztoku vzorku v ml,
 a_1 objem použitého alikvotního podílu z celkového objemu zásobního roztoku v ml,
 m hmotnost navážky vzorku v g,
 c_v množství N-NO_3^- ve vzorku, odečtené z kalibrační křivky v mg/l,
 c_r množství N-NO_3^- ve vzorku po redukci, odečtené z kalibrační křivky v mg/l,
 c_{sl} množství N-NO_3^- ve slepém pokusu, odečtené z kalibrační křivky v mg/l,
 c_{slr} množství N-NO_3^- ve slepém pokusu po redukci, odečtené z kalibrační křivky v mg/l.

7 Literatura

- 1 Zbíral, J.: Ověření citlivého stanovení dusičnanů v mokřém depozitu z monitorovacích bodů. Závěrečná zpráva vývojového úkolu 11/92. ÚKZÚZ Brno, 1992.
- 2 VDLUFA, Methodenbuch, Band 1, Die Untersuchung von Böden. VDLUFA Verlag, Darmstadt 1991.
- 3 Cawse, P. A. 1967. The determination of nitrate in soil solution by ultraviolet spectrophotometry. Analyst (London) 92:311-315.
- 4 Rypl, V., Tůmová, L., Hamplová, L.: Závěrečná zpráva vývojového úkolu č. 20.01/2018 Využití spektrofotometrických metod pro stanovení obsahu amonného a dusičnanového dusíku v hnojivech. ÚKZÚZ Brno, 2020.