 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	<b>Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv</b>  20150.1 – Stanovení obsahu amidického dusíku spektrofotometricky	Vydání	2
		Revize	1

## STANOVENÍ OBSAHU AMIDICKÉHO DUSÍKU SPEKTROFOTOMETRICKY

### 1 Rozsah a účel

Metoda je určena pro stanovení obsahu amidického (močovinnového) dusíku ve vyluzích vzorků jednosložkových i vícetrožkových hnojiv.

### 2 Princip

Močovina reaguje v kyselém prostředí s 4-dimethylaminobenzaldehydem za vzniku žlutě zbarveného kondenzačního produktu, jehož absorpance se měří při vlnové délce 420 nm.

### Poznámky

1 *Tento postup nelze použít pro hnojiva obsahující nebo uvolňující látky, které rovněž tvoří barevné sloučeniny s 4-dimethylaminobenzaldehydem, jako jsou např. kyanamid, thiomčovina, primární a sekundární aromatické aminy, hydrazin a deriváty s jednou volnou aminoskupinou, semikarbazidy.*

### 3 Chemikálie


Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- 2 Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná,  $\rho = 1,19 \text{ g/cm}^3$ .
- 3 4-dimethylaminobenzaldehyd, roztok.

Příprava:  $(4 \pm 0,001)$  g 4-dimethylaminobenzaldehydu se v 1000ml odměrné baňce rozpustí v 500 ml vody (1) přidá se 40 ml kyseliny chlorovodíkové (2). Baňka se doplní vodou (1) po značku a důkladně se promíchá. Roztok se ponechá stát 3 dny v klidu při laboratorní teplotě a ve tmě. Poté se filtruje přes filtr střední hustoty. Roztok se uchovává v tmavé láhvi v chladu a je stálý jeden měsíc.

- 4 Carrezův roztok I.

Příprava: Do 400ml kádinky se naváží 119 g octanu zinečnatého  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , přidá se 15 ml kyseliny octové  $\text{CH}_3\text{COOH}$  a asi 100 ml vody (1). Po rozpuštění se kvantitativně se převede do 500ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku. Roztok je stálý.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	<b>Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv</b> 20150.1 – Stanovení obsahu amidického dusíku spektrofotometricky	Vydání	2
		Revize	1

## 5 Carrezův roztok II.

Příprava: Do 250ml kádinky se naváží 53 g hexakynoželednatanu draselného  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  a přidá se asi 100 ml vody (1). Po rozpuštění se kvantitativně převede do 500ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku. Roztok je stálý.

## 6 Základní standardní roztok, močoviny $c(CO(NH_2)_2) = 40$ g/l.

Příprava:  $(10 \pm 0,0002)$  g močoviny vysušené 2 h při  $(65 - 70)$  °C se rozpustí ve 100 ml vody (1), kvantitativně se převede do 250ml odměrné baňky. Po rozpuštění se baňka doplní vodou (1) po značku a promíchá. Roztok se uchovává ve skleněné láhvi a je stálý dva měsíce.

## 7 Aktivní uhlí.

## 4 Přístroje a pomůcky

- 1 Analytické váhy s přesností 0,001 g.
- 2 Rotační třepačka.
- 3 Spektrofotometr s příslušenstvím.


## 5 Postup

### Kalibrační křivka

Kalibrační roztoky se připraví podle tabulky č.1.

**Tabulka č. 1. Příprava kalibračních roztoků.**

Kalibrační bod	Objem základního standardního roztoku (6) (ml)	Objem odměrné baňky (ml)	$c(CO(NH_2)_2)$ (mg/l)
0	0	100	0
1	1	100	400
2	2	100	800
3	4	100	1600
4	5	100	2000
5	6	100	2400
6	7	100	2800
7	8	100	3200

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	<b>Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv</b> 20150.1 – Stanovení obsahu amidického dusíku spektrofotometricky	Vydání	2
		Revize	1

Do odměrných baněk se dále přidá 10 ml roztoku 4-dimethylaminobenzaldehydu (3), doplní se vodou (1) po značku a promíchá. Takto připravený roztok se ponechá stát 15 min.

### Poznámky

- 2 *Z připravených kalibračních roztoků se použije k vlastní kalibraci zpravidla nejvýše pět bodů podle očekávaného obsahu prvků.*

### Příprava výluhu vzorku

Do 250ml odměrné baňky se naváží ( $10 \pm 0,001$ ) g vzorku, přidá se (150 – 200) ml vody (1) a důkladně se protřepe. Potom se obsah baňky doplní vodou (1) po značku a důkladně homogenizuje. Roztok se filtruje přes filtr střední hustoty do suché nádoby. V případě zakaleného filtrátu se vzorek filtruje přes hustý filtr. První podíl asi 50 ml filtrátu se odstraní. Čirý a bezbarvý filtrát se použije k dalšímu stanovení.

Zároveň s extraktem vzorku se připraví slepý pokus stejným postupem, ale bez navážky vzorku.


### Poznámky

- 3 *Je-li roztok zbarvený, přidá se 1 g aktivního uhlí (7) a protřepe.*
- 4 *Za přítomnosti zákalu se přidá 5 ml Carrezova roztoku I (4) a 5 ml Carrezova roztoku II (5) a opět se protřepe.*
- 5 *V případě, že se vzorek špatně rozpouští nebo suspenduje a při použití aktivního uhlí nebo Carrezova roztoku, se baňka vždy se směsí třepe 30 min na rotační třepačce při 35 ot/min při laboratorní teplotě.*

### Měření obsahu amidického dusíku

Do 100ml odměrné baňky se pipetuje alikvotní část výluhu podle tabulky č. 2, přidá se 10 ml roztoku 4-dimethylaminobenzaldehydu (3), doplní se vodou (1) po značku a důkladně promíchá. Takto připravený roztok se ponechá stát 15 min. V každé sérii vzorků se provede i stanovení slepého pokusu a vhodného IRM.

Po ukončení vybarvovací reakce se provádí měření na spektrofotometru. Přístroj se nastaví podle doporučení výrobce. Absorbance kalibračních roztoků, slepých pokusů i vzorků se měří v kytetě o optické délce 10 mm, při vlnové délce procházejícího světla  $\lambda = 420$  nm.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	<b>Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv</b>  20150.1 – Stanovení obsahu amidického dusíku spektrofotometricky	Vydání	2
		Revize	1

**Tabulka č. 2. Pipetovaný objem vyluhu podle obsahu amidického dusíku (%).**

Deklarovaný obsah amidického dusíku (%)	< 2,5	2,5 – 5	> 5
Alikvotní podíl vyluhu vzorku (ml)	50	25	15

### Poznámky

6 Měřit se může manuálně nebo s použitím průtokové kyvety.

### 6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah amidického dusíku vyjádřený jako N hmotnostním zlomkem v procentech  $w_N$  se vypočte podle vztahu

$$w_N = \frac{(c_{vz} - c_s) \times V \times V_1 \times 0,4665}{m \times a \times 10000} \quad (\%)$$

V celkový objem zásobního roztoku vzorku v ml,

$V_1$  konečný objem vzorku k vlastnímu měření v ml,

a objem použitého alikvotního podílu z V v ml,

m hmotnost navážky vzorku v g,

$c_{vz}$  obsah močoviny ve vzorku v mg/l,

$c_s$  obsah močoviny ve slepém pokusu v mg/l,

0,4665 koeficient pro přepočet  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2/\text{N}$ .

### Poznámky

7 Pokud koncentrace amidického dusíku v roztoku slepého pokusu nepřesáhne mez stanovitelnosti, může se hodnota  $c_s$  ve výpočtu zanedbat.

### 7 Literatura

1 Příloha č. 2 vyhlášky 273/1998 Sb., ve znění pozdějších předpisů, postup 2.7.