



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



Standardní operační postup - SOP 09

Stanovení celkového fosforu ve vodách (MERCK)

Předmět SOP

Tento SOP určuje postup metody pro stanovení celkového fosforu v povrchových a odpadních vodách pomocí reagenčního testu spektrofotometricky.

Princip metody

Roztok okyselený kyselinou sírovou → ionty orthofosforečnanu + ionty molybdenanu → kyselina
kyselina askorbová
fosfomolybdenová → fosfomolybdenová modř → stanovení fotometricky (spektrofotometr Spectroquant NOVA 60).

Rozsah měření 0,01 – 5 mg/l PO₄-P

Bezpečnostní opatření

Při hodnocení vzorků je nutno dodržovat bezpečnostní opatření. Vzhledem k manipulaci s chemikáliemi je nezbytné použití ochranných pomůcek a rukavic.

Příprava vzorků

- analyzovat co nejdříve po provedení odběru vzorků
- hodnota pH vzorku musí být v rozsahu 0 - 10 (v případě potřeby upravit pH roztokem hydroxidu sodného nebo kyselinou sírovou)
- zakalené vzorky přefiltrovat

Postup metody

- k pipetování používáme nastavitelné automatické pipety s jednorázovými špičkami o objemu 5000 µl (5 ml)
- vzorky s přidanými reagenčními energicky promícháváme pomocí el. míchadla vortex
- jako blank použijeme destilovanou, příp. deionizovanou vodu

Pro stanovení celkového fosforu musí být vzorek nejprve rozložen pomocí mikrovlnného záření a speciálního rozkladného činidla, za použití vysokotlakých teflonových nádobek.

Rozklad vzorku pomocí mikrovlnného záření

	Měřený vzorek	Blank	
Upravený vzorek (10 – 35 °C)	10 ml	-	Pipetujte do prázdné teflonové nádoby.
Destilovaná voda (10 – 35 °C)	-	10 ml	Pipetujte do prázdné teflonové nádoby.
Činidlo Oxisolv	2 zarovnané modré mikrolžičky*	2 zarovnané modré mikrolžičky*	Přidejte, zavřete nádobku a důkladně promíchejte.
Provedeme rozklad pomocí mikrovlnného záření (MW 520) po dobu 100 sekund . Poté necháme samovolně zchladnout na pokojovou teplotu.			

*součástí víčka lahvičky činidla

Příprava rozloženého vzorku k měření

	Měřený vzorek	Blank	
Vzorek po rozkladu (10 – 35 °C)	5 ml	-	Pipetujte do prázdné testovací zkumavky se šroubovacím uzávěrem.
Destilovaná voda	-	5 ml	Pipetujte do prázdné testovací zkumavky se šroubovacím uzávěrem.
Činidlo P-1A	5 kapek*	5 kapek*	Přidejte a promíchejte.
Činidlo P-2A	1 zarovnaná modrá mikrolžička**	1 zarovnaná modrá mikrolžička**	Přidejte a promíchejte, dokud se činidlo zcela nerozpustí.
Nechte stát po dobu 5 minut .			

*lahvička s kapátkem musí být držena ve svislé poloze

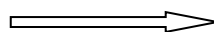
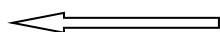
**součástí víčka lahvičky činidla

Měření

- hodnota pH měřeného roztoku musí být mezi 0,80 - 0,95 (zkontrolujte pH papírkem)
- do spektrofotometru Spectroquant NOVA 60 vložíme AutoSelector (nachází se na něm čárový kód dané metody → metoda se automaticky načte, nemusí se nic ručně zadávat)
- přelijte vzorek i blank do 10 mm hranaté kyvety (každý vzorek se měří vždy 2x)
- kyveta musí být vždy čistá a suchá → oříť povrch hadříkem/buničinou
- jakékoliv zakalení roztoku → falešně vysoké hodnoty
- blank je slabě nažloutlý
- barva měřeného roztoku zůstává stabilní minimálně 60 minut po ukončení reagenční doby
- kyvetu se vzorkem vložíme do spektrofotometru tak, aby paprsek procházel její průhlednou částí
- spektrofotometr vyhodnotí koncentraci měřené látky v jednotkách mg/l



AUTOSELECTOR



HRANATÁ KYVETA

