

❖ Genel Bilgiler

Önemli bir hayat unsuru olan Azot; pekçok kompleks kimyasal ve biyolojik değişikliklere maruz kalır. Canlı ve cansız materyalle birleşir ve azot çevrimi denilen bir devridaim prosesine sahiptir. Nitrat, Nitrit, Amonyak ve amonyum tuzları, albumin azotu ve organik protein molekülleri azotu formunda bulunabilmektedir. Toplam azot organik ve inorganik tüm azot formlarını ifade etmektedir. Azotun sulara bulunan en kararlı hali Nitrat (NO_3), en az kararlı hali ise amonyum (NH_3) dur. Nitrit (NO_2) daha az kararlıdır ve Nitrattan daha az miktarlarda bulunur. Azotun oksidasyonu azalan veya kararsızlık yönü olarak (Nitrat → Nitrit → Ammonyak → Organik Azot) Organik azot; canlı organizmaların yanürünü olarak meydana gelir. Organik azot terimi Proteinler, Peptitler, nükleik asitler, üre ve sentetik organik materyali içerir.

❖ Numunenin Alınması ve Hazırlanması

- Klorür seviyesinin 1000 mg/L den ve Kimyasal Oksijen İhtiyacı seviyesinin 700 mg/L den yüksek olduğu durumlarda destile su ile seyreltme yapılmalıdır.
- Numuneler cam veya plastik kaba alınabilir.
- Hemen analiz edilemediği takdirde buzdolabı şartlarında 48 saate kadar saklanabilir.
- Numuneler analize alınırken iyice karıştırılmalı gerekirse bir homojenizatör kullanılmalıdır.

❖ Prosedür

▪ Termoreaktörde Çözünürleştirme

10 ml Numuneyi çözünürleştirmenin yapılacağı iyi temizlenmiş **bir boş tüpe** alınır.

R-1 reaktif içeriğini ilave edip karıştırınız.

R-2 reaktifinden 6 damla ilave edip, tüpün kapağını kapattıktan sonra karıştırınız.

120 °C de 1 saat termoreaktörde tutulur.

Oda sıcaklığında 10 dk. beklemeden sonra tüpü karıştırınız.

▪ Numunenin okunması

5 ml R1 NO_3 reaktifini temiz bir test tüpüne alınır.

1 ml R2 NO_3 reaktifini tüpe aktarınız.

Termoreaktörde işlem görmüş, soğuk çözünürleştirme tüpünün üst berrak kısmından **0,7 mL hacmi** tüpe ilave ediniz.

Tüpün kapağını sıkıca kapatıp, içeriğinin iyice karıştırınız.

Reaksiyon süresi için 10 dakika bekleyiniz.

Uygulama seçeneklerinden birine göre **340 nm. dalga boyunda** okuma yapınız.

❖ Uygulamalar

- İçme ve yüzey suları,
- Yer altı suları,
- Atık sular,
- Uygun önışlemeden sonra toprak numuneleri
Bu test denizsuyu matriksinde uygulanmaz.

❖ Metot

Termoreaktör şartlarında yapılan alkali oksidasyon; organik ve inorganik kaynaklı oksitlenebilir azotu nitrata çevirir. Çözünürleştirme yöntemi EN ISO 11905-1. standart metoduna eşdeğerdir.

Toplam azot çözünürleştirme yapılan ortamda nitrat analizi yapılarak bulunur. Sülfirik ve fosforik asit varlığında, nitrat iyonları 2,6-dimetilfenol (DMF) ile fotometrik olarak ölçülen 4-nitro-2,6- dimetilfenol oluşturmak üzere reaksiyona girer. Nitrat tayini ISO 7890/1. Standart metoduna eşdeğerdir.

Metot suda; amonyak, nitrit, nitrat ve oksidasyon şartlarında nitrata dönüşebilen organik azot bileşiklerini ölçer.

Eğer Amonyak, Nitrat ve Nitrit ayrı ayrı tespit edilirse, organik azot Toplam Azottan bunların farkı olarak elde edilebilir.

❖ Analitik Kalite Güvencesi

Fotometrik ölçüm sistemini ve çalışma yöntemini kontrol etmek için (test reaktifleri, ölçüm cihazı, metodun uygulanması), Matriks QualityCheck (MQC®) standart çözeltisi (7 mg/L N) bu amaç için kullanılabilir.

❖ Notlar ve Uyarılar:

- Bütün azot bileşikleri kantitatif olarak nitrata oksitlenemezler. Çiftli ve üçlü bağa sahip azot bileşiklerinde ve aynı zamanda $\text{C}=\text{NH}$ bağlarına sahip moleküllerde de zayıf gerikazanımlar oluşur.
- Deri ve göz temaslarında veya dökülmelerde, anında bol su ile yıkayınız.
- Kullanımından sonra reaktif şişesini hemen kapatınız
- Tüpler fotometrede okuma öncesi temiz olmalıdır. Gerekirse temiz kuru bir bez ile siliniz.
- Bulanık numunelerde yapılan okumalar hatalı yüksek sonuçlar verir.
- 10 dk. Reaksiyon süresi akabinde okuma yapılmasına dikkat ediniz. Belirtilen süreden 15 dk. sonra okunan değer % 3–5 kadar artabilir.
- Tercihan tek kullanımlık pipet ucu kullanınız.

❖ Uygulama Seçenekleri:

Bu kit her marka fotometrede üç farklı şekilde kullanılabilir.

- 1) Doğrudan Abs. Okuyarak
- 2) Program uyumlu cihazlarla
- 3) Laboratuvar şartlarında Metot validasyonu ile

Seçeneklere ait açıklamalar:
1) Doğrudan Abs okuyarak

Numunenizin mg/L N değerini, cihazınızın 340 nm dalga boyunda Absorbans değerini okuyarak $C = k \times \text{Abs}$. Formülü ile bulabilirsiniz. Formül terimleri: **C**: mg/L N; **k**: Kalibrasyon faktörü; **Abs**: İlgili dalga boyunda şahite karşı sıfırlandığında cihazınızdan okunan Absorbans değeridir. Örneğin: 10 mm orijinal test kiti tüpü ile cihazınızın 340 nm. de şahide karşı absorbansı 0,53 olsun; kite ait varsayılan **k** değeri, 10 mm tüp test için 20,5 olduğundan, mg/L N değeriniz $C = 20,5 \times 0,53 = 10,9$ mg/L N olur. (En doğru değerler için, kutu etiketinde verilen CF faktörü ile tabloda belli bir küvet tipi için verilen **k** değerini ile çarparak lot spesifik **k** faktörünü bulabilirsiniz).

2) Program Uyumlu Cihazlarla

Aqualine serisi cihazlarda test kiti katalog nolu metodu seçilerek kullanıldığında, mg/L N değeri doğrudan cihazdan okunur.

Test kiti lotları ile program uyumu arasındaki fark \pm % 3 toleransa sahip olduğundan, en doğru değerler için, üreticilerin Lot sertifika değerlerini dikkate almanız ve cihazınızdan elde ettiğiniz sonuçları lot spesifik düzeltme faktörü ile çarpmanız önerilir. Örnek; Matriks Kit kutusu üzerinde verilen, Lot spesifik kalibrasyon faktörü CF:1.01; cihazdan elde edilen sonuç 1,00 mg/L N ise; gerçek sonucumuz 1,01 mg/L N olur.

3) Metot Validasyonu ile

Matriks kitlerini kendi laboratuvar şartlarınıza özel kalibrasyonu ve ISO 8466-1 e göre hesaplayacağınız metot performans verileriyle kullanabilirsiniz. Ayrıntılı bilgi için uygulama dokümanı talep edebilirsiniz.

❖ Küvet tiplerine göre kalibrasyon faktörleri

Küvet tipi	k faktörü
10 mm	20.5

❖ Bazı cihaz modelleri için ilave bilgiler:

- DR 2000 ve 2010 cihazlarında, maksimum ölçülebilen Absorbans değeri \pm 2 Abs olması sebebiyle, üst sınır % 20 daha düşük olarak uygulanır. Bu cihazlarda inch tipi küvet kullanımı tercih edildiğinde, 10 mL kare olanlarla kullanılması tavsiye edilir.

❖ Girişimler:

Aşağıdaki mg/L veya % seviyeleri alt girişim sınırlarıdır.

NaCl % 0,2	Al ⁺³ 1000	Sn ⁺² 100
KOİ 350 (700)*	Ca ⁺² 1000	Pb ⁺² 100
F ⁻ 1000	Cd ⁺² 1000	Hg ⁺² 100
Ni ⁺² 1000	Cl ⁻ 1000	Mg ⁺² 1000
Zn ⁺² 1000	Na-asetat 10 %	Mn ⁺² 1000
Cr ₂ O ₇ ⁻² 10	Fe ⁺³ 500	Cr ⁺³ 10
PO ₄ ⁻³ 1000	SiO ₃ ⁻² 100	Yüzey aktif
Cu ⁺² 1000	Na ₂ SO ₄ % 10	maddeler 1000

* R1 reaktifi iki katına çıkarıldığı zaman tolere edilebilir KOİ limiti 700 mg/L ye çıkar.

❖ Metodun Karakteristik Verileri

Bağımsız bir laboratuvarda yapılan performans çalışmasında 11 mg/L toplam azot standard değerine sahip ortamda yapılan 7 paralelli tekrarlanabilirlik çalışmasında, Relatif standard sapma % 2.83; ortalama sonuç ise 11.2 mg/L Azot olarak bulunmuştur.

(Ref: MAM Çevre ve Temiz Üretim Enstitüsü /Gebze – Kocaeli - Rapor No: 45924173-181.06.03-1757/7492 - Tarih: 08/2013)