	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10140.1 – Stanovení obsahu hořčíku a vápníku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	2

STANOVENÍ OBSAHU HOŘČÍKU A VÁPŇÍKU METODOU FAAS

1 Účel a rozsah

Tato metoda umožňuje stanovit hořčík a vápník v krmivech a minerálních premixech. Stanovení je určeno pro mineralizáty připravené na suché cestě (zpopelnění vzorku a rozpuštění popele v kyselině chlorovodíkové) a pro mineralizáty připravené na mokré cestě (přímé rozpouštění vzorku v kyselině chlorovodíkové).


2 Princip

Koncentrace stanovovaných prvků ve vzorku se zjišťuje na základě charakteristické absorpce záření na rezonančních čarách těchto prvků v plameni acetylen – vzduch metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina chlorovodíková HCl, koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 2 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 3 Kyselina chlorovodíková, roztok $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 600 ml vody (2) v 1000ml odměrné baňce se přidá 265 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 4 Kyselina chlorovodíková, roztok $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 800 ml vody (2) v 1000ml odměrné baňce se přidá 88 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 5 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 400 ml vody (2) v 1000ml odměrné baňce se přidá 530 ml HCl (1) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 6 Základní certifikovaný standardní roztok hořčíku o koncentraci 1000 mg/l.
- 7 Základní certifikovaný standardní roztok vápníku o koncentraci 1000 mg/l.
- 8 Oxid lanthanitý, La_2O_3 .
- 9 Základní roztok lanthanu.
Příprava: 5,86 g oxidu lanthanitého se rozpustí v 50 ml kyseliny chlorovodíkové (5). Roztok se převede do 500ml odměrné baňky a po vytemperování se doplní po značku vodou (2). Roztok obsahuje 10 g lanthanu v 1000 ml a je stálý nejméně 3 měsíce.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10140.1 – Stanovení obsahu hořčíku a vápníku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	2

10 Pracovní roztok lanthanu.

Příprava: Do 500ml odměrné baňky se pipetuje 50 ml základního roztoku lanthanu (8) a baňka se doplní po značku vodou (2).

11 Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , roztok 200 g/l.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Atomový absorpční spektrofotometr s dutokatodovými výbojkami pro stanovované prvky.
- 2 Křemenný nebo porcelánový kelímek.
- 3 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 4 Elektrický vaříč, topná deska nebo plynový kahan
- 5 Filtrační papír střední hustoty.
- 6 Sušárna laboratorní elektrická, s možností odvětrávání, automatickou regulací teploty a teploměrem pro rozsah teplot nejméně do 120 °C.
- 7 Analytické váhy s přesností nejméně 0,001g.

Poznámky

- 1 *Lze použít i platinové kelímky. V takovém případě se musejí dodržovat pravidla pro práci s platinovým nádobím. Platinové kelímky nelze použít pro analýzu premixů a minerálních surovin.*


5 Postup mineralizace

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.1.

Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.2.

Poznámky

- 2 *Zjištění přítomnosti organické hmoty: lžička se vzorkem se vloží do plamene. Pokud dojde k tání, vzorek organickou hmotu neobsahuje. Pokud dojde ke změně barvy a tání se neobjeví, vzorek organickou hmotu obsahuje.*

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10140.1 – Stanovení obsahu hořčíku a vápníku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	2

5.1 Rozklad vzorků krmiv organického původu na suché cestě

Do spalovacího kelímku se podle předpokládaného obsahu prvků odváží asi 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g a obsah kelímku se pozvolna zpopelní na elektricky vyhřívané desce nebo na kahanu. Potom se kelímek se zuhelnatěným vzorkem vloží do muflové pece a spaluje se 3 h při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$. Po uplynutí této doby se kelímek vyjme, nechá se zchladit v exsíkátoru a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (11), kelímek se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 3).

Alternativním postupem je spalování navážky vzorku ve spalovacím kelímku v muflové peci. Kelímek se umístí do studené muflové pece, teplota se postupně zvyšuje a po dosažení teploty $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje 5 h. Poté se kelímek nechá vychladnout a zkontroluje se přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (11), kelímek se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 3).

Po ochlazení se popel mírně zvlhčí vodou (2) a pomocí kyseliny chlorovodíkové (3) se kvantitativně převede do 250ml kádinky. Celkové množství roztoku kyseliny chlorovodíkové nemá překročit 75 ml. Kádinka se přikryje krycím sklíčkem, obsah se uvede do varu a vaří se asi 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (2). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (2) po značku a promíchá (zásobní roztok).

Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.


Poznámky

3 *Dusičnan amonný se musí přidávat opatrně, aby se zamezilo dispergování popela.*

5.2 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Postupně se za občasných promíchání přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a přikryje se hodinovým sklíčkem. Po ukončení bouřlivé reakce se kádinka nechá přikrytá krycím sklíčkem, obsah se uvede do mírného varu a vaří se 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (2). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (2) po značku a promíchá (zásobní roztok). Podle očekávaného obsahu jednotlivých prvků se tento mineralizát měří buď přímo, nebo po potřebném naředění kyselinou chlorovodíkovou (4).

Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10140.1 – Stanovení obsahu hořčíku a vápníku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	2

Poznámky

4 *Sklo umyté v myčce se dále čistí následujícím způsobem: sklo se naplní 5% kyselinou dusičnou a nechá se máčet nejlépe přes noc. Poté se kyselina vylije, sklo se nechá okapat, vypláchne se 3 × vodou (2) a vysuší. Sklo se přechovává suché v uzavíratelných boxech.*

6 Měření, příprava kalibračních roztoků a křivek

6.1 Příprava kalibračních roztoků a kalibrační křivky pro hořčík

Pracovní standardní roztok hořčíku: Ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci hořčíku 1000 mg/l (6) se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (4) a promíchá se. Pracovní standardní roztok obsahuje hořčík o koncentraci 100 mg/l.

Kalibrační křivka: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6) ml pracovního standardního roztoku, do každé z baněk se přidá 20 ml roztoku oxidu lanthanitého (10) a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (4). Koncentrace hořčíku v roztocích pro sestavení kalibrační křivky je (0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6) mg/l.

6.2 Příprava kalibračních roztoků a kalibrační křivky pro vápník

Pracovní standardní roztok vápníku: Ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci vápníku 1000 mg/l (7) se do 250ml odměrné baňky pipetuje 10 ml, baňka se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (4) a promíchá se. Pracovní standardní roztok obsahuje vápník o koncentraci 40 mg/l.


Kalibrační křivka: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (0; 5; 10; 15; 20; 25) ml pracovního standardního roztoku, do každé z baněk se přidá 20 ml roztoku oxidu lanthanitého (10) a baňky se doplní po značku kyselinou chlorovodíkovou (4). Koncentrace vápníku v roztocích pro konstrukci kalibrační křivky je (0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0) mg/l.

Poznámky

5 *Koncentrace vybraných prvků musejí ležet v rozsahu citlivosti použitého atomového absorpčního spektrofotometru. V závislosti na typu a citlivosti použitého spektrofotometru se mohou vybrat další koncentrace.*

6.3 Měření

Měří se v plameni acetylen-vzduch se štěrbinovým hořákem o délce 10 cm umístěným v optické ose přístroje. Pro měření hořčíku se využívá oxidační plamen, pro měření vápníku se využívá redukční plamen s červenou zónou 1 cm až 2 cm. V tabulce 1 jsou uvedeny doporučené vlnové délky. Nastavení přístroje, zejména proud pro žhavení výbojek s dutou katodou, optická šířka štěrbin, průtoky plynů apod., se provádí podle doporučení výrobce nebo na základě vlastní optimalizace přístroje. Integrace signálu probíhá obvykle

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10140.1 – Stanovení obsahu hořčíku a vápníku metodou FAAS	Vydání	1
		Revize	2

3 s po prodlevě pro ustálení signálu. Měří se metodou kalibrační křivky po dosažení dostatečně stabilizovaných podmínek přístroje. Průběžně je vhodné kontrolovat stabilitu měření zařazováním kalibračních standardů, popřípadě provést recalibraci.

Tabulka 1. Doporučené vlnové délky pro měření.

Prvek	Mg	Ca
Vlnová délka (nm)	285,2; 202,6	422,7

Poznámky

- 6 *Použití plamene acetylen–vzduch pro stanovení hořčíku a vápníku je možné při odstranění rušení přidávkem lanthanu o koncentraci 1000 mg/l. Při stanovení vápníku se interference tímto postupem u některých vzorků pouze omezí, ale neodstraní. Teprve vyšší teplota plamene oxid dusný-acetylen zaručí odstranění chemických interferencí v plameni pro všechny vzorky a s využitím potlačení ionizace stanovovaných prvků dává pro vápník správné výsledky.*
- 7 *Přítomnost velkého množství fosfátů může ovlivňovat stanovení hořčíku a vápníku. Proto musí být přidáván roztok oxidu lanthanitého (10). Pokud je hmotnostní poměr (Ca + Mg): P ve vzorku > 2, nemusí se roztok oxidu lanthanitého přidávat.*
- 8 *Při vyšších obsazích stanovovaných prvků je třeba natočit hořák vzhledem k optické ose přístroje. Pokud je třeba, ředí se zkoušené roztoky kyselinou chlorovodíkovou (4), aby se získala absorbance ležící v lineární části kalibrační křivky.*

7 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentrace příslušného prvku v roztoku se odečte z kalibrační křivky.

Výsledná koncentrace prvku ve vzorku se vypočte po odečtení slepého pokusu podle vztahu

$$X_{elem} = \frac{(C_V - C_B) \times V \times F}{m} \times 1000$$

kde

X_{elem} je obsah prvku vyjádřený v %,

C_V je koncentrace příslušného prvku v extraktu vzorku v mg/l, odečtená z kalibračního grafu,

C_B je koncentrace příslušného prvku v mg/l v roztoku slepého pokusu,

m je hmotnost navážky vzorku v g,

F je faktor ředění,

V je celkový objem filtrátu nebo extraktu v litrech.