	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b>	Vydání	1
	10500.1 – Stanovení obsahu fluoridů	Revize	2

## STANOVENÍ OBSAHU FLUORIDŮ

### 1 Rozsah a účel

Tento postup specifikuje podmínky pro stanovení obsahu fluoridů v krmivech za použití iontové selektivní elektrody.

### 2 Princip

Fluoridy se ze vzorku extrahují kyselinou chlorovodíkovou. Koncentrace fluoridů v extraktu se stanoví iontově selektivní elektrodou.

### 3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda, (demineralizovaná, destilovaná nebo deionizovaná).
- 2 Základní standardní roztok fluoridů, NaF;  $c = 1000 \text{ mg/l}$ . Používá se komerčně dodávaný roztok od ověřeného dodavatele.
- 3 Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná.
- 4 Kyselina chloristá, HClO<sub>4</sub>, koncentrovaná.
- 5 Kyselina octová, CH<sub>3</sub>COOH, ledová, 99%.
- 6 Octan sodný trihydrát, CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O.
- 7 Citronan trisodný, dihydrát, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O.
- 8 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$ .


Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 500 ml vody (1) a přidá se 83,2 ml kyseliny chlorovodíkové (3). Po vytemperování na laboratorní teplotu se doplní vodou (1) po značku a promíchá.

- 9 Octan sodný, CH<sub>3</sub>COONa, roztok  $c(\text{CH}_3\text{COONa}) = 3 \text{ mol/l}$ .

Příprava: 408 g octanu sodného (6) se rozpustí v 750 ml vody (1). Roztok se vytemperuje na laboratorní teplotu a potom se pomocí kyseliny octové nastaví hodnota pH na 7. Převeďte se kvantitativně do 1000ml odměrné baňky, doplní vodou (1) po značku a promíchá.

- 10 Pufr.

Příprava: 222 g citronanu sodného (7) se rozpustí v 250 ml vody (1), přidá se 28 ml kyseliny chloristé (4), převede se kvantitativně do 1000ml odměrné baňky, doplní vodou (1) po značku a promíchá.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř <b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10500.1 – Stanovení obsahu fluoridů	Strana	2
		Vydání	1
		Revize	2

11 Kalibrační roztok fluoridů,  $c(\text{F}^-) = 100 \text{ mg/l}$ .

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku fluoridů (2), doplní vodou (1) po značku a promíchá.

12 Kalibrační roztok fluoridů,  $c(\text{F}^-) = 10 \text{ mg/l}$ .

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje se 10 ml kalibračního roztoku fluoridů (11), doplní vodou (1) po značku a promíchá.

13 Hydroxid sodný, NaOH.

14 Hydroxid sodný, NaOH, roztok  $c(\text{NaOH}) = 5 \text{ mol/l}$ .

Příprava: 200 g NaOH se převede do odměrné baňky o objemu 1 000 ml, rozpustí se v asi 600 ml vody (1). Po vytemperování se doplní vodou po značku a promíchá.

#### 4 Přístroje a pomůcky

1 Analytické váhy s přesností 0,1 mg.

2 Magnetická míchačka a magnetické míchadlo s teflonovým povrchem.

3 Odměrné baňky, kádinky, filtry.

4 Fluoridová selektivní elektroda, např. Orion Research Inc. Model 94-09BN nebo podobná.

5 pH elektroda.

6 Ion-pH-metr, přesnost měření  $\pm 0,1 \text{ mV}$ .

7 Laboratorní odstředivka, 2500 g.

#### Poznámky

1 *Upřednostňuje se použití plastového laboratorního nádobí místo skleněného, aby se předešlo nežádoucím reakcím fluoridů s křemíkem ze skla.*


#### 5 Postup

##### 5.1 Příprava vzorku

Vzorek krmiva se umele na laboratorním mlýnku na velikost částic 0,5 mm nebo menší. Krmné suroviny se melou na velikost částic 0,1 mm nebo menší.

##### 5.2 Mineralizace

Do 200ml kádinky se naváží 0,5 g vzorku s přesností 0,0001 g. Ke vzorku se přidá 20 ml roztoku HCl (8) a obsah kádinky se 20 min míchá magnetickým míchadlem. Do kádinky se přidá 50 ml roztoku octanu sodného (9) a 50 ml pufry (10). pH se upraví přesně na hodnotu  $(5,5 \pm 0,1)$  pomocí roztoku hydroxidu sodného (14) nebo roztoku kyseliny chlorovodíkové (8). Obsah kádinky se kvantitativně převede do 200ml odměrné baňky a doplní se vodou po značku. Poté se roztok filtruje přes filtr střední hustoty nebo se odstředí 10 min při 2500 g. Odstředují se takové vzorky, které se obtížně filtrují (např. bentonit). Roztok se do doby měření uchovává v uzavřené nádobě.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b>	Vydání	1
	10500.1 – Stanovení obsahu fluoridů	Revize	2

## Poznámky

- 2 *Obecně platí, že by se měla volit taková navážka vzorku, aby bylo zajištěno, že se bude konečná koncentrace nacházet v rozmezí pracovního rozpětí daného kalibrací.*
- 3 *Pokud se zkušební podíl zcela nerozpustí, zkontroluje se pH roztoku, které musí být menší nebo rovno 4. Je-li pH vyšší než 4, je nutno extrakci opakovat s nižší navážkou vzorku.*

## 5.3 Kalibrace

Připraví se řada pracovních kalibračních roztoků. Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (1; 3; 10) ml kalibračního roztoku fluoridů (12) a do dalších dvou 100ml odměrných baněk se pipetuje (3; 10) ml kalibračního roztoku fluoridů (11). Do každé z baněk se přidá 10 ml HCl (8), 25 ml roztoku octanu sodného (9) a 25 ml pufru (10). Doplní se vodou (1) po značku a dobře se promíchá.

Před měřením se elektroda oživí podle pokynů výrobce. Měření se zahájí v roztoku o nejnižší koncentraci. Postupně se změří všechny pracovní kalibrační roztoky od nejnižší koncentrace k nejvyšší. Během měření se roztok promíchává magnetickým míchadlem. Hodnota na přístroji se odečte po ustálení signálu. Po vyjmutí elektrody z měřeného roztoku se elektroda opláchně vodou (1) a opatrně osuší. Také magnetické míchadlo se mezi jednotlivými měřeními opláchně a osuší.

Z naměřených hodnot se sestrojí kalibrační křivka, vynese se elektrodový potenciál v mV jako logaritmická funkce koncentrace roztoku fluoridů v mg/l. Stanoví se hodnota směrnice  $S$  v lineární oblasti kalibrační křivky pomocí vhodné lineární regrese metodou nejmenších čtverců ( $R^2$  je větší než 0,99).

## Poznámky


- 4 *Všechna ISE zařízení mají od výrobce stanovena vhodná kritéria pro posouzení stability signálu, za účelem zaznamenání příslušné hodnoty odečítání. Za dobré kritérium se považuje, když signál nekolísá více než o 0,1 mV po dobu 30 s.*

## 5.4 Měření

Vzorky se měří ihned po kalibraci přístroje. Do 100ml kádinky se nalije 50 ml vzorku a vloží se do ní elektroda. Zatímco se obsah promíchává magnetickým míchadlem konstantní rychlostí, po ustálení se odečte hodnota mV a zaznamená se (E1). Potom se přidá 5 ml pracovního kalibračního roztoku o vhodné koncentraci (viz. 5.3) tak, aby se zvýšil signál o (5 – 39) mV. Po ustálení se odečte hodnota a zaznamená se (E2). Elektroda a magnetické míchadlo se vyjmou z roztoku, opláchnou a opatrně osuší.

## Poznámky

- 5 *Pro použitou techniku standardního přidavku musí být odečítání elektrodového potenciálu roztoku vzorku v lineární oblasti kalibrační křivky. V opačném případě se doporučuje stanovení koncentrace fluoridů v roztoku vzorku pomocí interpolačních hodnot potenciálu v nelineární oblasti kalibrační křivky. V tomto případě by se mělo použít více bodů standardního roztoku pro přesnější vymezení této nelineární oblasti.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b>	Vydání	1
	10500.1 – Stanovení obsahu fluoridů	Revize	2

## 6 Výpočet a vyjadřování výsledků

Obsah fluoridů ve vzorku se vypočte pomocí následujících vztahů

### Koncentrace fluoridů v roztoku (mg/l)

$$X_s = X_A \times 0,1 / (1,1 \times 10^{E1-E2/S})$$

kde

$X_s$  je koncentrace fluoridů v roztoku v mg/l,

$X_A$  koncentrace fluoridů v přidávaném pracovním kalibračním roztoku v mg/l,

$E1-E2$  absolutní hodnota rozdílu potenciálů po přidání 5 ml pracovního kalibračního roztoku v mV,

$S$  směrnice kalibrační přímky.

### Obsah fluoridů ve vzorku (mg/kg)

$$X_F = X_s \times V_s / M$$

kde

$X_F$  je obsah fluoridů ve vzorku v mg/kg,

$X_s$  koncentrace fluoridů v roztoku v mg/l,

$V_s$  je celkový objem extraktu v l, (0,2 pro tento postup),

$M$  navážka vzorku v kg.

## 7 Literatura

- 1 ČSN EN 16279 Krmiva – Stanovení obsahu fluoridů po extrakci kyselinou chlorovodíkovou metodou iontově selektivní elektrody (ISE).