	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10510.1 – Stanovení obsahu dusitanů metodu IC	Vydání	1
		Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU DUSITANŮ METODOU IC

1 Rozsah a účel

Metoda specifikuje podmínky pro stanovení dusitanů v krmivech metodou iontové chromatografie.

2 Princip

Dusitany se ze vzorku extrahují teplou vodou. Vodný roztok se přečistí a obsah dusitanů se stanoví iontovou chromatografií s UV detekcí při vlnové délce 205 nm.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

1 Voda, (ultračistá).

2 Hydroxid sodný, NaOH, roztok 50% (w/w). Dodává se komerčně.

3 Hydroxid sodný, NaOH, roztok $c(\text{NaOH}) = 50 \text{ mmol/l}$.

Příprava: 4 g roztoku hydroxidu sodného (2) se naředí vodou (1) v 1000ml odměrné baňce. Voda musí být přefiltrovaná (0,2 μm) a odplyněná 5 až 10min.

4 Hydroxid sodný, NaOH, roztok $c(\text{NaOH}) = 100 \text{ mmol/l}$.

Příprava: 8 g roztoku hydroxidu sodného (2) se naředí vodou (1) v 1000ml odměrné baňce. Voda musí být přefiltrovaná (0,2 μm) a odplyněná 5 až 10min.

5 Acetonitril.

6 Základní standardní roztok dusitanu, $c = 1,000 \text{ g/l}$. Dodává se komerčně.

7 Kalibrační roztoky dusitanu.

Příprava: Do šesti 200ml odměrných baněk se pipetuje (0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0) ml standardního roztoku dusitanu (6), doplní se vodou (1) po značku a promíchá. Koncentrace těchto roztoků je (0; 0,5; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0) mg/l.


4 Přístroje a pomůcky

1 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.

2 Magnetická míchačka.

3 Laboratorní sklo.

4 Filtrační papír.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10510.1 – Stanovení obsahu dusitanů metodu IC	Vydání	1
		Revize	1

- 5 Membránové filtry, porozita 0,45 µm a 0,22 µm.
- 6 Iontový chromatograf s UV detektorem, např. ICS 3000 Dionex nebo podobný.
- 7 Aniontová analytická kolona, např. AS11-HC s předkolonou AG 11-HC (Dionex).

5 Postup

5.1 Extrakce a předčištění

Do 150ml konické baňky se přesně naváží asi 10 g vzorku, přidá se 50 ml vody (1) teplé (60 – 70) °C a míchá se na magnetické míchačce 15 min. Poté se k roztoku přidá 50 ml acetonitrilu (5) a promíchá se. Nechá se stát 10 min. Obsah baňky se kvantitativně převede do 200ml odměrné baňky a po vytemperování se doplní vodou (1) po značku a promíchá. Roztok se filtruje nejprve přes papírový filtr, potom přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45 µm. V případě, že filtrát není čirý, filtruje se ještě přes membránový filtr s porozitou 0,22 µm.

Pro slepé stanovení se místo navážky vzorku použije 10 ml vody (1).

Poznámky


- 1 *Celá analýza včetně měření na iontovém chromatografu musí být provedena během jednoho pracovního dne.*

5.2 Měření

Uvedené chromatografické podmínky slouží jako příklad. Mohou být použity i jiné podmínky za předpokladu, že bude dosaženo odpovídajících separačních parametrů.

Tabulka 1. Chromatografické podmínky.

Kolona	AS11-HC (2 × 250) mm
Předkolona	AG11-HC (2 × 50) mm
Teplota kolony	25 °C
Detekce	UV, 205 nm
Objem nástřiku	10 µl
Průtok	0,25 ml/min
Eluent	E1 – NaOH 50 mmol/l (3) E2 – H ₂ O (1) E3 – NaOH 100 mmol/l (4)

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10510.1 – Stanovení obsahu dusitanů metodu IC	Vydání	1
		Revize	1

Gradientová eluce probíhá podle programu, který uvádí tabulka 2.

Tabulka 2. Program gradientové eluce.

Čas min	E1 %	E2 %	E3 %
0	10	90	0
10,0	10	90	0
10,1	0	0	100
15,0	0	0	100
15,1	10	90	0
25	10	90	0

Pro stanovení obsahu dusitanů se používá externí kalibrace pomocí kalibračních roztoků (7), které se připraví vhodným ředěním základního standardního roztoku (6). Pokud je měření ovlivňováno neznámou maticí, je vhodné nahradit externí kalibraci metodou standardního přídatku.

Po ustálení systému se provede nejprve série nástriků kalibračních roztoků (7). Potom se za stejných podmínek analyzují extrakty vzorků.

6 Výpočet a vyjadřování výsledků

Obsah dusitanů ve vzorku X v mg/kg se vypočte podle vztahu

$$X = (V \times A / m) \times F$$

kde

X je koncentrace dusitanů ve vzorku v mg/kg,

V je celkový objem extraktu v ml,

A je koncentrace odečtená z kalibrační křivky v mg/l,

m je hmotnost zkušební vzorku v g,

F je ředící faktor.