

Kovy ve sladu - I

663.4
663.43

Příprava vzorků

Ing. VLADIMÍR KELLNER, CSc., Ing. PAVEL ČEJKA, FRANTIŠEK FRANTÍK, prom. chemik, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 120 44 Praha

Klíčová slova: *slad, stanovení kovů, atomová absorpční spektrometrie, mineralizace*

1. ÚVOD

Cizorodé látky v potravinářských výrobcích mohou pocházet ze surovin (primární kontaminace) nebo se mohou do výrobku dostat v průběhu samotné výroby (sekundární kontaminace). V surovinách samotných se kovy vyskytují zčásti přirozeně, zčásti jako kontaminanty. Znalost jejich přirozeného výskytu a pohybu během výroby potravin je nezbytným předpokladem jejich maximální eliminace z těchto výrobků.

Hlavním donorem kovů v pivovarství je jedna ze základních surovin — slad. Cílem této práce bylo v podmínkách VÚPS najít optimální metodu přípravy pevného vzorku k měření metodou atomové absorpční spektrometrie, a to pokud možná univerzální, aby bylo v jednom vzorku možno stanovovat co největší počet prvků. Takto ověřená metoda byla v další fázi použita k proměření obsahu kovů v čs. sladech a ke zjištění bilance těchto kovů v průběhu výroby sladu. Tato první část je zaměřena na výběr vhodné metodiky přípravy vzorku.

2. ZÁKLADNÍ METODY MINERALIZACE BIOLOGICKÝCH VZORKŮ

Cílem mineralizace je převedení analytu z pevné fáze do homogenního roztoku tak, aby přechod byl kvantitativní, a aby docházelo k minimálním ztrátám vzorku v průběhu reakcí.

Z hlediska styku soustavy s okolím rozeznáváme mineralizace v uzavřeném a otevřeném systému. Rozklady v uzavřeném systému jsou výhodnější, protože zamezují úniku analytu vytěkáním a mimoto dovolují provádět destrukci matrice za nižších teplot (při zvýšeném tlaku). Jsou však náročné na přístrojové vybavení, a pro většinu pracovišť jen obtížně dostupné.

Z hlediska provedení rozeznáváme

— **rozklady na suché cestě** (obvykle v otevřeném systému), realizované zpravidla v porcelánových, platinových nebo skleněných kelímcích v muflových pecích. Obecně doporučované rozmezí teplot je 500–550 °C [1], čas bývá volen mezi 4–18 hodinami. K urychlení oxidace bývá často používáno různých činidel [Mg(NO₃)₂, CaCO₃, NaOH, H₂SO₄ apod.]. Rozklady na suché cestě nevyžadují soustavný dohled a nejsou náročné na velká kvanta čistých reagentů, avšak u mnoha prvků dochází ke ztrátám vytěkáním nebo reakcí s materiálem kelímku. Pro matrice obsahující chloridové anionty jsou na-prosto nevyhovující.

— **rozklady na mokré cestě** (varianta v uzavřeném systému za zvýšeného tlaku se nazývá tlaková digestce [2]). Existuje mnoho vyzkoušených mineralizačních směsí, z nichž nejčastěji se používají kombinace HNO₃, HClO₄ a H₂SO₄ v různých poměrech. Podrobné studium těchto soustav provedl Gorsuch [3]. Používají se rovněž směsi obsahující H₂O₂, HCl a různá jiná oxidační činidla. Hlavní nevýhodou těchto metod je velká spotřeba reagentů a v některých případech zvýšené riziko exploze (zvláště při práci s koncentrovanou kyselinou chloristou).

— **extrakční metody**, z nichž nejpožívanější je tzv. kyselá hydrolýza, prováděná nejčastěji HCl [4] nebo HNO₃. Tato metoda nedává záruky kvantitativního převodu stanovovaného prvku do roztoku, ztráty vytěkáním jsou však minimální.

Pro účely této práce byly vyzkoušeny mineralizace na suché a mokré cestě, proto bude hlavní pozornost v dalším textu zaměřena na ně.

2.1. Literární přehled o chování prvků při mineralizaci

V této kapitole je podán stručný přehled literárních údajů o chování prvků, které byly v publikované práci měřeny, spolu se srovnáním obou metod. Kde není uvedena citace, pocházejí údaje ze souborné práce [5].

Vápník

Většina autorů doporučuje rozklad na suché cestě při 550 °C, uvádí se však, že k vytěkání nedochází ani při 700 °C. Chyby mohou vzniknout reakcí Ca s křemičitany, které nelze po mineralizaci rozpustit. Podle [4, 6] není mezi suchou a mokrou cestou žádného rozdílu.

Měď

Obecně je na suché cestě doporučována teplota 450 °C. Podle většiny autorů jsou obě metody rovnocenné.

Železo

Rozklad na suché cestě je obvykle prováděn při 450 až 550 °C. Při použití platinových kelímků je nebezpečí redukce na kovové Fe a tvorby slitiny s Pt. Často jsou doporučovány přídavky NaOH, H₂SO₄ nebo CaCO₃. Srovnatelnost obou metod je podle některých autorů dobrá, podle jiných špatná.

Draslík

Při teplotách 550–600 °C údajně nedochází ke ztrátám K. Vzorky připravené na mokré cestě poskytují podle některých autorů vyšší hodnoty koncentrace, nesmí se však použít směsí obsahujících HClO₄, kvůli tvorbě málo rozpustného chloristanu draselného.

Lithium

Při mineralizaci nad 550 °C dochází podle některých

údajů k těkání Li z reakční soustavy. Srovnání obou metod nebylo v literatuře nalezeno.

Hořčík

V Pt kelímcích je možno provádět spalování při teplotách až 650 °C, v porcelánových je nutno volit nižší teploty, aby se zamezilo interakci s materiálem kelímku. Pokud jde o srovnání obou metod, některé práce je pokládají za rovnocenné, podle jiných autorů je třeba preferovat mokrou cestu.

Mangan

Obvykle doporučované teploty rozkladu na suché cestě se pohybují mezi 500–550 °C, ojediněle se vyskytují údaje až 800 °C. K urychlení oxidace jsou doporučovány přídavky HNO₃ nebo Mg(NO₃)₂. Komparativní práce uvádějí dobrou shodu mezi oběma metodami.

Sodík

Nejvhodnějším materiálem kelímku pro rozklad na suché cestě je Pt. Při porovnání obou metod se často uvádí, že vyšší hodnoty poskytuje mineralizace na mokré cestě, někteří autoři tento jev připisují kontaminaci během reakce.

Stroncium

Pro rostlinné materiály je doporučována teplota 580 °C, ke ztrátám údajně nedochází ani při 700 °C. Srovnání obou metod nebylo v literatuře nalezeno.

Zinek

V literatuře jsou popisovány ztráty až 25 % při spalování za teplot 450–600 °C. Rozsah ztrát závisí na aniontu — nejvyšší jsou u chloridového, nejnižší u síranového. Ztrátám se předchází přídavky různých činidel (CaCO₃, H₂SO₄). Nejvhodnějším materiálem kelímku je Pt, porcelán a sklo mohou být zdrojem kontaminace. Srovnání obou metod je obvykle uváděno jako dobré, vážnější rozdíly byly shledány jen výjimečně.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Mineralizace na mokré cestě

V předložené práci byla použita nepatrně modifikovaná metoda popsána Helinem [7] pro rozklady vzorků ječmene a sladu:

K 5 g vzorku bylo přidáno asi 30 ml směsi HNO₃/HClO₄/H₂SO₄ v poměru 30:7:2 a vzorky byly ponechány přes noc v nádobce. Druhý den byly vloženy do topného hnízda Tecator a zahřívány na 350 °C po dobu 2 hodin. Roztok byl poté zfiltrován a doplněn na 50 ml.

Při spalování dochází prakticky k úplné destrukci matrice; zbývá pouze malý podíl nerozpustné sraženiny (patrně křemičitany a fosforečnany).

3.2 Mineralizace na suché cestě

5 g vzorku bylo vloženo do platinové misky a opatrně zuhelněno nad plamenem. Miska pak byla vložena do muflové pece a vzorek byl žhán na 550 °C po dobu 10 hodin. Po ochlazení byl popel ovlhčen vodou, přidáno 10 ml 20% HNO₃ a zahřát na vroucí vodní lázni. Výluh byl zfiltrován a doplněn na 50 ml.

Kyselině dusičné byla před obvykle používanou HCl dána přednost proto, že vzorky obsahující chloridové anionty jsou nevhodné k měření bezplamenovou technikou (při fázi zpopelnění dochází k částečné ztrátě vlivem vysoké těkavosti chloridů).

3.3 Použité přístroje

Mineralizace na mokré cestě byla prováděna v topném hnízdě Tecator (Švédsko) s kapacitou 6 vzorků, mineralizace na suché cestě v muflové peci typ L 120.2 (NDR). Vzorky byly měřeny v atomovém absorpčním spektrometru Varian AA 475 ABD (Austrálie).

3.4 Výběr vzorků

Obě metody byly použity u 10 vzorků různých sladů, každá mineralizace byla prováděna paralelně dvakrát.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Způsob vyhodnocení

Správnost výsledků — ideálním způsobem ke zjištění správnosti výsledků získaných danou metodou je proměření standardních vzorků se stejným nebo podobným složením jako neznámý vzorek. Tyto standardní vzorky však nebyly k dispozici. Vycházeli jsme proto z předpokladu, že správnější jsou ty výsledky, které mají vyšší hodnoty, pokud je splněn požadavek jejich reprodukovatelnosti (kvůli vyloučení nahodilých sekundární kontaminace).

Porovnání obou metod — pro srovnání dvou metod stanovení daného prvku byl použit Studentův test [7], založený na srovnání průměru získaného oběma metodami a průměrné odchylky. Studentovo kritérium t se vypočte podle rovnice

$$t = \frac{\bar{x}_A - \bar{x}_B \sqrt{(n-1)}}{\sqrt{(s_A^2 + s_B^2)}}, \text{ kde}$$

\bar{x}_A, \bar{x}_B — průměrné hodnoty obsahu kovu na suché a mokré cestě z 10 použitých vzorků
 n — počet paralelních stanovení (= 2)
 s_A, s_B — směrodatná odchylka z průměrného rozpětí (pro počet měření $n = 2$, $s = R \cdot 0,08862$; R = průměrné rozpětí hodnot)

Na pravděpodobnostní hladině 95% je kritickou hodnotou pro 10 vzorků $t_\alpha = 2,447$. Pro hodnoty $t \geq t_\alpha$ je nutno pokládat difference průměrů obou metod za statisticky významné, při $t < t_\alpha$ je možno rozdíly vysvětlit náhodnými chybami. Statistické vyhodnocení výsledků je uvedeno v tab. 1.

Tab. 1. Statistické vyhodnocení naměřených výsledků

Kov	Průměrný obsah [mg/kg]		Průměrné rozpětí hodnot		Relativní chyba [%]		Studentův parametr t
	suchá cesta	mokrá cesta	suchá cesta	mokrá cesta	suchá cesta	mokrá cesta	
Ca	533,1	524,7	45,1	43,4	8,4	8,3	0,134
Cu	4,41	4,27	0,34	0,12	7,7	2,8	0,389
Fe	31,42	36,70	1,65	1,52	4,6	3,7	2,69
K	3100	2592	170,3	419,9	5,5	16,4	1,12
Li	0,087	0,033	0,022	0,005	25,5	16,0	2,708
Mg	1013	1191	27,9	66,2	2,7	5,6	2,47
Mn	12,05	11,93	0,53	0,46	4,2	3,8	0,176
Na	32,9	39,0	1,74	2,07	5,3	5,3	2,259
Sr	2,76	2,71	0,20	0,13	7,2	4,8	0,152
Zn	25,37	24,98	1,08	1,10	4,2	4,4	0,253

4.2 Vápník

Parametr t vypočtený ze Studentova testu se rovnal 0,134, průměrné hodnoty získané oběma metodami se prakticky neliší, reprodukovatelnost výsledků je sice v obou případech poměrně nízká, je však v mezích tolerance pro stopovou analýzu; určitou rozkolísanost hodnot lze vysvětlit charakterem absorpční čáry 422 nm, která jeví poměrně značný šum. Obě metody lze pokládat za rovnocenné a vyhovující, což je ve shodě s názory většiny autorů citovaných v [5].

4.3 Měď

Studentův parametr $t = 0,389$ vykazuje velmi dobrou shodu průměrů získaných oběma metodami. Reprodukovatelnost výsledků vzorků získaných na mokré cestě je výrazně lepší, nicméně odchylka 7,7 % rel. u vzorků získaných na suché cestě je uspokojivá. Obě cesty jsou tedy přibližně rovnocenné, což je ve shodě se závěry většiny publikovaných prací.

4.4 Železo

Hodnota Studentova parametru $t = 2,69$ ukazuje na statisticky významný rozdíl obou průměrů. Přestože reprodukovatelnost výsledků z obou způsobů přípravy je dobrá, průměrná hodnota vzorků připravených na mokré cestě je výrazně vyšší. Příčiny tohoto jevu mohou být

různé — vysrážení $\text{Fe}(\text{OH})_3$, resp. interakce s platinou kelímku. V daném experimentálním uspořádání je třeba dát přednost mineralizaci na mokré cestě.

4.5 Draslík

Přestože Studentův parametr $t = 1,12$ leží v mezích nahodilých odchylek, průměry u všech 10 vzorků získané na suché cestě byly vyšší, navíc reprodukovatelnost hodnot získaných na mokré cestě je zcela nevyhovující. Použití směsi s obsahem $\text{HCl} + \text{HClO}_4$ je pro tento kov nevyhovující, což experimenty plně potvrdily.

4.6 Lithium

Hodnota Studentova parametru $t = 2,7$ ukazuje na významnou rozdílnost obou průměrů, z hlediska přesnosti je třeba pokládat obě metody za zcela nepoužitelné. Zdá se, že použitá teplota je pro tento kov příliš vysoká, nejvhodnější by patrně byla kyselá hydrolýza [4].

4.7 Hořčík

Studentův parametr $t = 2,47$ je vyšší než kritická hodnota t_α , průměrné hodnoty vzorků připravených na mokré cestě jsou značně vyšší. Tento jev je v protikladu s názory většiny autorů, je však ve shodě s dvěma pracemi citovanými v [5].

4.8 Mangan

Hodnota parametru $t = 0,176$ ukazuje na velmi dobrou shodu obou metod, rovněž reprodukovatelnost je v obou případech velmi dobrá. Obě metody jsou použitelné rovnocenně a bez výhrad, což je ve shodě s dosažitelnými údaji.

4.9 Sodík

Studentův parametr $t = 2,26$, což není sice shoda vynikající, nicméně v mezích statistické únosnosti. Z hlediska výše naměřených hodnot se však zdá mokrá cesta poněkud výhodnější, což je ve shodě s publikovanými pracemi. Otázka kontaminace sodíkem během mineralizace se jeví být spornou, protože shoda mezi paralelními stanoveními byla v 9 případech z 10 velmi dobrá.

4.10 Stroncium

Z hlediska Studentova testu ($t = 0,152$) vykazují oba průměry velmi dobrou shodu. Výsledky získané na mokré cestě sice jeví lepší reprodukovatelnost, rozdíl však není signifikantní. Proto lze pokládat obě metody za rovnocenné a vyhovující.

4.11 Zinek

Studentův test ($t = 0,253$) prokázal dobrou shodu mezi oběma průměry, rovněž reprodukovatelnost obou způsobů přípravy je rovnocenná a dobrá. Obě metody lze proto pokládat za rovnocenné a vyhovující, což je ve shodě s názory většiny autorů.

4.12 Zhodnocení univerzálnosti metod

Experimenty prokázaly, že pro účely stanovení většiny množství kovů ve vzorcích pivovarských surovin lze použít metodiky popsané v 3.1 a 3.2 bez dalších úprav podmínek. U 9 z 10 zde diskutovaných prvků alespoň 1 z metodik byla vyhovující. Stanovení Li není možné s dostatečnou věrohodností získaných výsledků ani jednou z nich, pro Mn, Sr, Zn jsou obě metody naprosto rovnocenné, s menšími výhradami lze kteroukoli použít rovněž pro Ca a Cu. Mokrou cestu je třeba preferovat v případech Fe, Mg a Na, zatímco suchou v případě K.

Závěr z těchto poznatků: tam, kde není třeba provádět stanovení K, lze připravit vzorky pro analýzu jednotně mineralizací na mokré cestě, v ostatních případech je třeba provést rovněž spálení vzorků v muflové peci, není však nutné pro každý prvek zvlášť modifikovat podmínky. Tento poznatek je důležitý z hlediska úspory času a především čistých chemikálií.

Literatura

- [1] GORSUCH T. T.: Analyst **84**, 1979, s. 135.
- [2] HEYSE K. U., DONHAUSER S.: Proc. EBC, Copenhagen 1981, s. 249.

- [3] GORSUCH T. T.: The Destruction of Organic Matter, Pergamon Press, 1970.
- [4] SIMPSON G. R., BLAY R. A.: Food Trade Rev. **36(8)**, 1986, s. 35.
- [5] BOCK R.: A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry. Int. Textbook Comp., Glasgow, 1979, kap. 5, s. 131 až 152.
- [6] SZARSKI P.: Food Tech. In Aust., May 1971, s. 216. Cit. podle ROWE C. J.: Food Analysis by AAS, Varian Techtron, Springvale, 1973.
- [7] HELIN T. R. M.: Metal Ions in Brewing, Thesis, Heriot-Watt University, Edinburgh, 1975.
- [8] ECKSCHAGER K., HORSÁK I., KODEJŠ Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod, SNTL, Praha 1980, s. 42.

Kellner V. - Čejka P. - Frantík F.: Kovy ve sladu — I: Příprava vzorků. Kvas. prům., **32**, 1986, č. 2, s. 26—29.

Cílem práce bylo najít jednoduchou a pokud možno univerzální metodu přípravy vzorků pro stanovení kovů atomovou absorpční spektrometrií. Byla použita mineralizace na suché cestě v muflové peci při 550 °C a mineralizace na mokré cestě směsí $\text{HNO}_3\text{—HClO}_4\text{—H}_2\text{SO}_4$ (30:7:2) při 350 °C pro stanovení Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Sr a Zn. Metody byly srovnány z hlediska hodnot výsledků a jejich reprodukovatelnosti... Bylo zjištěno, že pro Li není v daném uspořádání vhodná ani jedna z použitých metod, pro K je nutno použít suchou cestu, pro Na, Fe a Mg mokrou cestu, zatímco pro ostatní uvedené prvky jsou vhodné obě metody bez modifikace podmínek.

Келлер, В., Чейка, П., Франтик, Ф.: Металлы в солоде 1. Получение образцов. Квас. прум. **32**, 1986, № 2, стр. 26—29.

Целью работы было найти простой и по возможности универсальный метод получения образцов для определения металлов путем атомной абсорбционной спектроскопии. Была применена минерализация на сухом пути в мufельной печи при 550 °C и минерализация на мокром пути смеси $\text{HNO}_3\text{—HClO}_4\text{—H}_2\text{SO}_4$ (30 : 7 : 2) при 350 °C для определения кальция, меди, железа, калия, лития, магния, марганца, натрия, стронция и цинка. Методы сопоставлялись с точки зрения величин результатов и их воспроизводимости. Было найдено, что для лития в данном применении не подходит ни один из способов, для калия надо использовать метод на сухом пути, для

натрия, железа и марганца на мокром пути, затем что для остальных приведенных металлов подходят оба метода без видоизменения условий.

Kellner, V. - Čejka, P. - Frantík, F.: Metals in Malt. I. Sample Preparations. Kvas. prům. **32**, 1986, No. 2, pp. 26—29.

The aim of this study was to find a simple and as far as possible also an universal method for sample preparations in the metal determination by atomic absorption spectrometry. A dry mineralization in the muffle furnace at 550 °C and a mineralization in the $\text{HNO}_3\text{—HClO}_4\text{—H}_2\text{SO}_4$ (30:7:2) mixture at 350 °C for the determination of Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Sr and Zn were used. The methods were compared from the standpoint of the results and their reproducibility. The following results were obtained: None of the methods is suitable for the determination of Li. The dry mineralization has to be used for the determination of K. The wet mineralization is necessary for the determination of Na, Fe and Mg. The other elements can be determined with both the methods for the mineralization without any changes of the conditions.

Kellner, V. - Čejka, P. - Frantík, F.: Metalle im Malz I. Zubereitung der Proben. Kvas. prům. **32**, 1986, Nr. 2, S. 26—29.

Die Zielsetzung der Arbeit war auf eine einfache und womöglich universale Methode der Probenaufbereitung für die Bestimmung von Metallen mittels Atom-Absorptionsspektrometrie gerichtet. Es wurden die Mineralisation auf trockenem Weg im Muffelofen bei 550 °C und die Mineralisation auf nassem Weg des Gemisches $\text{HNO}_3\text{—HClO}_4\text{—H}_2\text{SO}_4$ (30:7:2) bei 350 °C für die Bestimmung von Ca, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Sr und Zn angewandt. Die Methoden wurden vom Standpunkt der Ergebnismwerte und ihrer Reproduzierbarkeit verglichen. Es wurde festgestellt, daß für Li in der gegebenen Anordnung keine von den geprüften Methoden geeignet ist; für K eignet sich nur der trockene Weg, für Na, Fe und Mg dagegen der nasse Weg; für die übrigen angeführten Metalle sind beide Methoden ohne Modifikation der Bedingungen geeignet.