
P Ô V O D N É O Z N Á M E N I A

**STANOVENIE VÁPNIKA
VO VAJEČNEJ ŠKRUPINE PLAMEŇOVÝM FOTOMETROM*****KAMIL MARCINKA**

Laboratórium fyziológie hospodárskych zvierat Slovenskej akadémie vied
v Ivánke pri Dunaji

Úvod

Na stanovenie alkalických kovov a kovov alkalických zemín sa s výhodou používa plameňová fotometria, pretože tieto prvky sú v plameni ľahko buditelné a niektoré ich spektrálne čiary, resp. pásy sú veľmi výrazné, takže ich možno ľahko merať. Preto sme si zvolili túto metódu pri stanovení vápnika vo vaječnej škrupine v rámci štúdia metabolizmu vápnika u nosníc.

Získanie spoľahlivých výsledkov pri kvantitatívnej analýze na plameňovom fotometri je však spojené s dodržiavaním určitých podmienok. Platí to najmä pre vzorky, ktoré sú zmesou rozličných prvkov. Tieto sa môžu v plameni vzájomne ovplyvňovať. V biologickom materiáli k tomu pristupuje aj prítomnosť organických látok a s tým spojená zmena niektorých fyzikálnych vlastností skúmanej látky (napr. viskozita a pod.), čo môže zapríčiniť nespoľahlivé výsledky, zafažené chybou niekedy i viac než 100 %.

Pri stanovení vápnika v biologickom materiáli sa snaha po eliminovaní chýb uberať dvoma smermi:

a) vyzrážať vápnik z nevhodného prostredia a po znovurozpustení ho stanoviť [1, 2 a i.];

b) použiť niektorý z korekčných postupov, napr. metódu vnútorného štandardu [3 a i.], spôsob sytenia [4, 5 a i.], vymieňače iónov [3, 6 a i.], modelové roztoky [7] a pod., alebo ich kombináciu [3].

Experimentálna časť

Podľa [8] 98 % z minerálnych solí vaječnej škrupiny tvoria soli vápenaté, zvyšok (asi 1 %) soli horečnaté a ďalšie 1 % zlúčeniny fosforu. Železo a siera sú prítomné v stopách, dosahujúcich stotinu až tisícinu percenta. Zrážať vápnik z takéhoto pomerne rovnomerého prostredia zdalo sa nám nepotrebné, pretože popri časových stratách, spojených so zrážaním, treba prikročiť ku korekčnému postupu na eliminovanie vplyvu kyseliny šťavelovej, uvoľňujúcej sa pri rozpúšťaní šťavelanu vápenatého v kyseline

* Prednesené na celoštátnom sjazde Čs. spoločnosti chemickej pri ČSAV v Gottwaldove 12. júla 1958.

solnej, ktorá musí byť pri rozpúšťaní v nadbytku. Tieto dôvody nás viedli k použitiu korekčného postupu — spôsobu sýtenia, t. j. ku vzorke sme pridali rušiaci prvok (v našom prípade fosfor) v takom nadbytku, aby vykazoval štandardný vplyv.

Príprava vzorky

Po oddelení vaječného obsahu sme škrupinu zvonka i zvnútra opatrne vymyli, aby vnútorná blana ostala celá. Potom sme škrupinu dali do sušiarne na 4—6 hodín pri teplote 105 °C. Po vychladnutí sa vzorka dôkladne rozotrela v trecej miske, znovu sa dala sušiť na 1 ½ hodiny pri 105 °C a opäť sa rozotierala. Tento postup je potrebné dodržať preto, aby sa dosiahol úplne jemný prášok, pretože malé čiastočky nerozotretej škrupiny pri spaľovaní vyprskávajú a tak spôsobujú nekontrolovateľné chyby.

Približne 0,5 g jemne rozotretej vzorky sme spaľovali v muflovej peci pri 550 °C, kým popol nadobudol úplne bielu farbu. Spaľovanie trvalo 10—15 hodín. Po vychladnutí sme popol rozpustili v 4 ml kyseliny solnej zriedenej 1 : 1 a filtrovali do 100 ml odmernej banky, ktorú sme po dôkladnom vymytí náčinia prvými podielmi zriedovacej vody doplnili destilovanou vodou po značku a dôkladne premiešali. Pre stanovenie vápnika sa z tohto roztoku odobral 1 ml do 50 ml odmernej banky, pridal sa fosfor v takom množstve ako do kalibračných roztokov (60 mg P/100 ml) a obsah odmernej banky sa doplnil destilovanou vodou po značku. Tento roztok sa použil na stanovenie vápnika plameňovým fotometrom.

Vápnik sme stanovili meraním jeho pásu pri 625 m μ . Pri rozboroch sme používali plameňový fotometer firmy VEB Carl Zeiss Jena a Schottov sklený interferenčný filter Ca 63 J. Použili sme acetylénový plameň v zmesi so stlačeným vzduchom.* Základnú hodnotu plameňa sme nastavili na destilovanú vodu.

Interferencia horčička

Pred začatím vlastnej práce na zostrojovaní kalibračných kriviek sme považovali za potrebné preskúmať, do akej miery sa prejavuje vplyv horčička, ak je prítomný v takom množstve, v akom sa vyskytuje vo vaječnej škrupine. Z toho dôvodu sme do kalibračných roztokov vápnika pridali horčičk, aby bol v koncentrácii 1 % vzhľadom na vápnik.

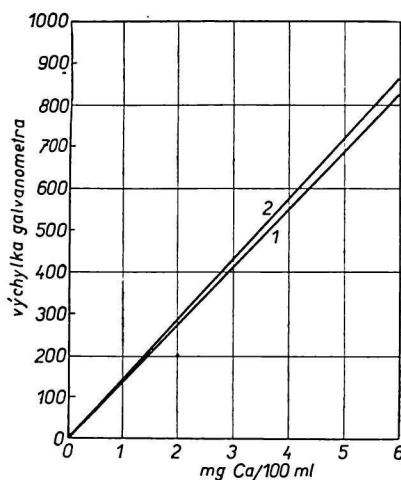
Z výsledkov znázornených na obr. 1 je zrejmé, že prítomnosť horčička zvyšuje hodnoty vápnika a tým skresľuje výsledky.

Sýtenie fosforom

Pri voľbe sýtiaceho prvku sme vychádzali zo skúseností M. L. Cooleya [5] i z vlastných skúseností, že v prípade prítomnosti väčšieho množstva fosforu vo vzorke biologického materiálu je výhodné použiť sýtenie fosforom, ktorý má schopnosť — ak je v nadbytku — nielen stabilizovať svoj rušivý vplyv, ale aj paralyzovať rušiace účinky iných prvkov. Podľa L. Erdeyho a G. Svehlu [9] rušivé účinky fosforu na emisiu vápnika pôsobia dovtedy, kým pomer Ca : PO₄ nedosiahne hodnotu 1,5.

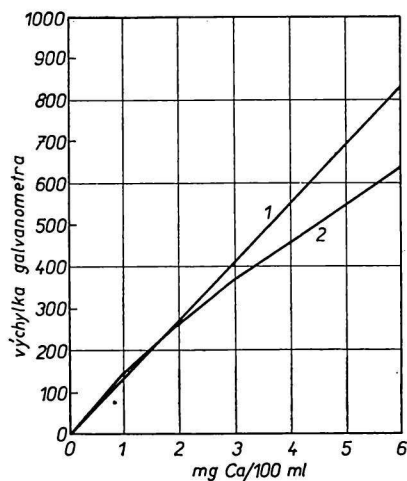
Kalibračnú krivku vápnika sme zhotovili takým spôsobom, aby množstvo sýtiaceho fosforu bolo stále rovnaké, t. j. dostali sme krivku so stúpajúcim pomerom P : Ca, a to v smere od najkoncentrovanejšieho roztoku k najzriedenejšiemu. Koncentráciu fosforu sme zvolili tak, aby v bode najmenšieho pomeru P : Ca (pri najkoncentrovanejšom roztoku Ca) dosahoval tento pomer hodnotu 10 : 1 v zhode s výsledkami M. L. Cooleya

* Tlak acetylénu bol 102 mm vodného stĺpca, tlak vzduchu 0,40 at.



Obr. 1. Vplyv horčíka na emisiu vápnika.
1. čistý Ca; 2. Ca + 1 % Mg.

(pozri vyššie). Takto zhotovenú kalibračnú krivku vidíme na obr. 2. Prítomnosť 1 % horčíka vôbec neovplyvňovala priebeh kalibračnej krivky; podobne ani stopové množstvá síry a železa nevykazovali nijaký vplyv.



Obr. 2. Kalibračná krivka čistého vápnika (1) a vápnika za prítomnosti veľkého množstva fosforu (60 mg/100 ml) ako sýtiaceho prvku (2).

Pri analýze vzoriek biologického materiálu, do ktorých sa pridal fosfor ako sýtiaci prvok, dochádza k zvýšeniu jeho obsahu o to množstvo, ktoré je prítomné vo vzorke. Aby sme sa presvedčili o účinku takéhoto zvýšenia hladiny fosforu, zvýšili sme pri niektorých kalibračných roztokoch jeho obsah o 20 % a 50 % oproti pôvodnému; je to také zvýšenie, aké sa prakticky so vzorkami škрупiny nedosiahne.

Ako vidieť z výsledkov v tab. 1, vplyvom takéhoto zvýšenia hladiny fosforu nedochádza k zmenám. Odchýlky v odčítaných dielkoch na galvanometri sa pohybujú v rámci

T a b u l k a 1

Číslo vzorky	Ca mg/100 ml	Výchylka galvanometra po pridaní P v nadbytku oproti Ca		
		10 krát	12 krát	15 krát
2	1,5	209	208	209
3	3	349	352	352
4	4	427	429	428

chyby prístroja, ktoré dosahujú nepatrný zlomok percenta.

Pri hodnotení výsledkov analýzy ukázala sa metóda presná na $\pm 2,4 \%$.

Súhrn

Vaječná škrupina obsahuje vápnik prevažne ako uhličitan vápenatý a fosforečnan vápenatý. Okrem toho je však v nej prítomný aj horčík, v stopách železo a síra. Tieto látky, ako aj prítomnosť fosforu môže ovplyvniť stanovenie vápnika plameňovým fotometrom. Preto sa prišlo ku korekčnému postupu na odstránenie chýb spôsobených vplyvom vyššie spomínaných látok, najmä však horčíka a fosforu na emisné spektrum vápnika. Za tým účelom sa do roztoku vzorky pridalo také množstvo fosforu, ktoré má konštantný vplyv na vápnik, pričom ostatné rušivé vplyvy takmer odstráni. Rovnaké množstvo fosforu (60 mg P/100 ml) sa pridávalo do všetkých kalibračných roztokov i do vzoriek. Najnižší pomer P : Ca bol pri najkoncentrovanejšom kalibračnom roztoku vápnika, a to 10 : 1.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ В ЯИЧНОЙ СКОРУПЕ МЕТОДОМ ФОТОМЕТРИИ ПЛАМЕНИ

КАМИЛ МАРЦИНКА

Лаборатория физиологии хозяйственных животных Словацкой Академии Наук
в Иванке при Дунае

Выводы

Яичная скорлупа содержит в основном кальций в форме карбоната кальция и фосфата кальция. Кроме того находится в яичной скорлупе тоже магний, в следах железо и сера. Эти вещества, как и присутствие фосфора могут мешать определению кальция методом фотометрии пламени. Поэтому была введена поправка для устранения ошибок, вытекающих из влияния выше приведенных веществ, именно Mg и P на эмиссионный спектр Ca. С этой целью прибавлялось к раствору образца такое количество P, которое оказывало константное влияние на Ca, причем все остальные помехи

устраняется почти полностью. Равное количества фосфора (60 мг/100 мл) прибавлялось до всех калибровочных растворов и образцов. Самое низкое отношение $P : Ca$ было у самого концентрированного калибровочного раствора Ca и составляло 10 : 1.

Поступило в редакцию 28. 7. 1958 г.

FLAMMENPHOTOMETRISCHE CALCIUMBESTIMUNG IN DER EIERSCHALE

KAMIL MARCINKA

Laboratorium für Physiologie der landwirtschaftlichen Nutztieren der Slowakischen
Akademie der Wissenschaften in Ivánka pri Dunaji

Zusammenfassung

Die Eierschale enthält grösstenteils Calcium, gebunden als Calciumcarbonat und Calciumphosphat. Ausserdem ist jedoch in der Eierschale auch Magnesium, in Spuren auch Eisen und Schwefel anwesend. Alle diese Stoffe, ebenso auch die Anwesenheit von Phosphor, können die flammenphotometrische Calciumbestimmung beeinflussen. Deshalb schritt man zum Korrektionsverfahren zur Beseitigung jener Fehler, die durch den Einfluss der obenangeführten Stoffe, besonders Mg und P das Emissionsspektrum des Ca hervorgerufen wurden. Zu diesem Zwecke wird zur Lösung der Probe eine solche Menge P hinzugegeben, die einen konstanten Einfluss auf Ca ausübt, wobei die übrigen störenden Einflüsse fast beseitigt werden. Die gleiche Phosphormenge (60 mg $P/100$ ml) wurde zu allen Eichlösungen und ebenso zu den Proben hinzugefügt. Das niedrigste Verhältnis $P : Ca$ war bei der konzentriertesten Ca -Eichlösung und betrug 10 : 1.

In die Redaktion eingelangt den 28. 7. 1958

LITERATÚRA

1. Dulce H. J., Z. physiol. Chem. 302, 102—104 (1955). — 2. Williams T. R., Morgan R. R. T., Chem. Ind. 12, 970 (1953). — 3. Murthy G. K., Whitney R. McL., J. Dairy Sci. 39, 364—373 (1956). — 4. Spector J., Anal. Chem. 27, 1452—1455 (1955). — 5. Cooley M. L., Cereal Chem. 30, 39—47 (1953). — 6. Hemingway R. G., Analyst (London) 81, 164—168 (1956). — 7. Herrmann R., Das ärztliche Laboratorium, Würzburg 1956, 229—243. — 8. Romanoff A. L., Romanoff A. J., The Avian Egg, New York 1949. — 9. Erdey L., Svehla G., Z. anal. Chem. 154, 406—413 (1957).

Došlo do redakcie 28. 7. 1958

Adresa autora:

Inž. Kamil Marcinka, Ivánka pri Dunaji, Pobočka ČSAPV, Výskumný ústav pre chov hydiny.