

# Fluorbestimmung in Nahrungs- und Futtermitteln mittels des Systems Zirkonium—SPADNS nach der Diffusionsseparation aus Perchlorsäure

J. TUŠL

*Forschungsinstitut für Tierernährung, Pohořelice*

Eingegangen am 1. Juni 1968

In revidierter Form am 21. Dezember 1968

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode für die Fluorbestimmung in Nahrungs- und Futtermitteln beschrieben. Fluor wird aus den Proben durch Diffusionsseparation aus dem Medium einer 25%igen Perchlorsäure, enthaltend Silbersulfat, ohne eine vorhergehende Mineralisation abgetrennt. Nach der Abtrennung wird Fluor indirekt photometrisch aus der Entfärbung des Zirkonium—SPADNS Komplexes im Medium von Perchlorsäure und Chlorwasserstoffsäure bestimmt.

In the present paper, a method for determination of fluorine in food-stuffs is described. Fluorine is separated by diffusion from 25% perchloric acid containing silver sulfate without previous ashing of the samples. After separation, fluorine is determined by an indirect photometric method, based on the decolouration of zirconium—SPADNS complex in the presence of perchloric and hydrochloric acids.

Die Fluorbestimmung in biologischen Materialien schließt in der Regel stets die Mineralisation der Proben durch Verbrennung mit Calciumoxid, die Destillationsabtrennung aus Perchlorsäure und die Endbestimmung des Fluors durch Titration mit Thorium(IV)-nitrat ein [1]. Für die Separation des Fluors kann man auch Mikrodestillationsverfahren [2] anwenden, in der letzten Zeit pflegt man jedoch der Trennung des Fluors durch Diffusion in Pulvergläsern oder Conway-Schalen aus plastischen Stoffen den Vorzug zu geben. Wie *Hall* [3], *Singer* und *Armstrong* [4], und *Nicholson* [5] anführen, erfordern die Diffusionsmethoden keine vorhergehende Mineralisation der Proben und ermöglichen die Verarbeitung vieler Proben zu gleicher-Zeit. Für die eigentliche Fluorbestimmung erweisen sich photometrische Methoden als am vorteilhaftesten. So wurden einerseits Direktmethoden unter Benutzung eines Alizarinkomplexans, andererseits etwa fünfzig indirekte Entfärbungsmethoden beschrieben [6]. Die Bestimmungen mit einem Alizarinkomplexan sind hochselektiv [7], zahlreiche indirekte Methoden ragen wiederum durch große Einfachheit und Schnelligkeit hervor. Als vorteilhafteste indirekte Methode kann man die Bestimmung des Fluors mittels des Systems Zirkonium—2-(4-Sulfophenylazo)-1,8-dihydroxynaphthalin-3,6-disulfonsäure (SPADNS) [5, 8] ansehen.

In unserer Arbeit haben wir für die Trennung des Fluors Polyäthylen-Preßteile mit 30 Conway-Schalen mit je zwei Kleinkammern (Diffusionsmulticellen) gemäß *Nicholson* [5] benutzt. Die Trennung in Multicellen weist hinsichtlich der Schnelligkeit und der Einfachheit der Verarbeitung einer großen Anzahl von Proben auf einmal Vorteile auf. Das isolierte Fluor haben wir mittels des Systems Zirkonium—SPADNS bestimmt. Diese Methode ist weitaus empfindlicher als andere Verfahren.

Bei der Bestimmung mit einem verdünnteren Reagens [5] im Medium von  $\text{HClO}_4$  und  $\text{HCl}$  sind Ungenauigkeiten, die sonst durch die Messung gegen eine Farbstofflösung [8] verursacht werden, ausgeschlossen und diese Methode ist auch besser reproduzierbar. Gegenüber der Bestimmung des Fluors mittels Systemen, die Alizarinkomplexe einbeziehen, ist zwar die gewählte indirekte Methode weniger selektiv, man vermag jedoch störende Einflüsse durch Zusätze von Silbersulfat zu den Proben [3] zu eliminieren.

## Experimenteller Teil

### *Chemikalien*

Konzentrierte Perchlorsäure mit 2% Silbersulfat: 2 g  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  werden mit 2 ml Wasser vermischt, zu dieser Mischung werden 50 ml 27%ige  $\text{HClO}_4$  zugegeben und die Lösung wird bei 60°C bis zur Auflösung des Salzes erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit 72%iger  $\text{HClO}_4$  auf 100 ml aufgefüllt.

1,3 N-NaOH.

Photometrisches Reagens: 42 ml der Zirkoniumlösung werden mit 42 ml der SPADNS-Lösung vermischt, sodann 21 ml 72%ige  $\text{HClO}_4$  zugesetzt, und diese Lösung wird mit Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Dieses Reagens ist einige Tage beständig.

Zirkoniumlösung: 133 mg  $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  werden in 350 ml 37%iger  $\text{HCl}$  aufgelöst und diese Lösung wird mit Wasser auf 500 ml verdünnt.

SPADNS-Lösung: 2,880 g des Reagens werden in Wasser aufgelöst und diese Lösung wird mit Wasser auf 500 ml verdünnt.

Standardlösung von NaF in einer Konzentration von 100  $\mu\text{g F}^-/\text{ml}$ : 221,0 mg NaF werden in Wasser aufgelöst und diese Lösung wird mit Wasser auf 1 l verdünnt. Diese Standardlösung wird in einer Polyäthylenflasche aufbewahrt.

Sämtliche angeführten Chemikalien wurden mit der Reinheitsbezeichnung p. a. verwendet. Wasser wurde nach einer einmaligen Destillation aus einer Glasapparatur verwendet.

### *Geräte*

Die Diffusionsseparation des Fluors wurde in Polyäthylenmulticellen der Fa. The Kendall Co., USA, durchgeführt. Diese Multicellen wurden mit Polyäthylenfolien und Glasplatten zugedeckt. Die Apparatur wurde mit Silikonvakuumfett Lukosan M 14 der Fa. Synthesia, Kolín, abgedichtet. Die photometrischen Messungen wurden auf einem Pulfrich-Photometer mit einer elektronischen Vorrichtung Elpho der Fa. Carl Zeiss, Jena, DDR, durchgeführt.

### *Arbeitsvorgang*

#### *Isolierung des Fluors*

In die Außenteile der Conway-Schalen werden 5–200 mg der trockenen, feingemahlten Probe eingewogen, die mit 1,5 ml Wasser angefeuchtet werden. In die Mittelteile der Schalen werden je 0,3 ml 1,3 N-NaOH pipettiert und die Ränder der Schalen mit dem Silikonvakuumfett eingerieben. In die Außenteile der Schalen werden hierauf ohne augenblicklichen Kontakt mit den Proben je 0,75 ml  $\text{HClO}_4$  mit 2%  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  pipettiert. Die Multicelle wird mit der erwähnten Folie bedeckt, die an die Oberfläche der Apparatur gedrückt wird. Durch eine vorsichtige Kreisbewegung werden die Proben mit der Per-

chlorsäure vermischt, worauf die Multicelle in den auf 60°C erwärmten Thermostaten eingelegt wird. Dann deckt man sie mit einer Glasplatte zu, beschwert diese vollkommen und beläßt sie 24 Stdn. bei 60°C.

### *Bestimmung des Fluors*

Nach Beendigung der Separation werden die Lösungen des Fluorids im Natriumhydroxid mit Hilfe einer Pipette in Meßkolben für 25 ml mit 6 ml des photometrischen Reagens überführt, wobei man die Mittelteile der Schalen einigemal mit Wasser ausspült. Die Lösungen werden mit Wasser bis zur Marke verdünnt, hierauf werden sie durchgemischt, und nach Ablauf von 5 Minuten wird mit der Messung deren Extinktion bei 570 nm in 2 cm Küvetten gegen Wasser begonnen. Der Fluorgehalt wird aus der Eichkurve abgelesen, die unter Zuhilfenahme der Standardlösung von Natriumfluorid im Bereich 0–3 µg Fluor konstruiert wurde. Die Standardlösung wird in gleicher Weise behandelt wie die Proben.

### **Ergebnisse und Diskussion**

Das angeführte Verfahren für die Fluorbestimmung haben wir auf Standardlösungen von Natriumfluorid appliziert. Sämtliche Versuche wurden zumindest viermal durchgeführt. Dabei haben wir festgestellt, daß diese Methode im Bereich 0,1–3 µg Fluor befriedigende Resultate ergibt. Die Ausbeute des analysierten Stoffs betrug im Durchschnitt 99,8% und die Standardabweichung bewegte sich zwischen 0,04–0,07 µg Fluor, wodurch der Beweis für die Quantitativität und die befriedigende Reproduzierbarkeit der Separation und der Bestimmung erbracht ist. Der Wert des Blindversuchs betrug praktisch null.

Wir haben festgestellt, daß die Bedingungen der Separation (Temperatur 60°C und Dauer der Trennung 24 Stdn.) für die quantitative Separation des Fluors auch in einer Menge von 6 µg durchaus hinreichend sind. Die Multicellen werden durch Entfernung des Vakuumfetts, durch Abspülen mittels Aceton und Wasser und durch Trocknen regeneriert. In ähnlicher Weise werden auch die Folien gereinigt.

Eingehend haben wir den Einfluß des Silikonvakuumfetts auf die Separation und die Bestimmung des Fluors untersucht. *Taves* [9] deutete nämlich unlängst an, daß flüchtige Bestandteile des Schmierfetts, die aus dem Medium der Perchlorsäure einerseits in Form von Trimethylfluorosilan (nach der Reaktion mit den Fluoriden), andererseits direkt in die Auffanglösung übergehen, die eigentliche Fluorbestimmung stören können. Wir haben hingegen festgestellt, daß weder das SilikonSchmierfett noch dessen Zersetzungsprodukte weder die Separation noch die Fluorbestimmung beeinflussen. Die Eichkurven, die mit einer Standardlösung des Natriumfluorids ohne Diffusion und nach der Diffusion erhalten wurden, waren völlig übereinstimmend. Die Bestimmung wird auch nicht durch Zusätze von Kaliumsilikat zu den Standards, ebenso auch nicht durch Zusätze einer Lösung des Schmierfetts, das durch Sieden des Schmierfetts in 25%iger  $\text{HClO}_4$  erhalten wurde, beeinflusst. Wie wir ferner festgestellt haben, beeinflussen weder das SilikonSchmierfett noch dessen Zersetzungsprodukte auch die weiteren photometrischen Methoden der Fluorbestimmung, die nach der Diffusionsseparation üblicherweise verwendet werden [10]. Diese Ergebnisse werden von *Nicholson* [11] und *Singer* [12] bestätigt,

die keinerlei Einflußnahme des Schmierfetts auf die Methode der Fluorbestimmung mittels des Systems Zirkonium—SPADNS [5] und Zirkonium—Eriochromcyanin R [4] festgestellt haben. Diese Autoren [11, 12] benutzten Silikonvakuumfett der Fa. Dow-Corning, USA, das hinsichtlich der Zusammensetzung dem Vakuumfett Lukosan M 14 sehr ähnlich ist. Diese beiden erwähnten Schmierfette beeinflussen also die photometrischen Methoden der Fluorbestimmung nicht. Die gleichen Resultate haben wir mit zwei weiteren Schmierfetten der Marke Lukosan (M 11 und M 20) erhalten, die sich vom ursprünglich benutzten Schmierfett durch die Viskosität unterscheiden. Es ist demnach offenkundig, daß die photometrischen Methoden durch keines der Silikonschmierfette beeinflußt werden.

Die angewandte photometrische Methode der Fluorbestimmung [5] ist insbesondere für die Bestimmung kleiner Fluormengen sehr geeignet. Es läßt sich nämlich damit verläßlich noch  $0,1 \mu\text{g}$  Fluor in 25 ml Lösung bestimmen; diese Methode ist also wesentlich empfindlicher als andere indirekte Verfahren. Der benutzte Konzentrationsbereich ( $0,1\text{--}3 \mu\text{g F}^-/25 \text{ ml}$ ) entspricht dem Extinktionsbereich  $1,15\text{--}0,82$ . Der angeführte Konzentrationsspielraum ist in Kombination mit der Diffusionsseparation vorteilhaft; andernfalls besteht die Möglichkeit, damit bis zu  $10 \mu\text{g}$  Fluor in 25 ml zu bestimmen [10]. Die Eichkurve ist bis zu  $1 \mu\text{g}$  linear, bis zu  $4 \mu\text{g}$  mäßig, und weiterhin dann mehr gekrümmt. Der Kurvenverlauf ist jedoch regelmäßig, während bei anderen indirekten Methoden (bei der Bestimmung mittels des System: Zirkonium—Eriochromcyanin R und Thorium—Xylenolorange) in der Kurvenmitte ein Haltepunkt und ein Wendepunkt wahrzunehmen ist [10]. Was die Zeitabhängigkeit anbelangt erreicht die Färbung während 3 Minuten ihr Maximum und ändert sich im Laufe der weiteren 30 Minuten nicht.

Die Analysen der Lebens- und Futtermittelproben haben wir in wenigstens drei parallelen Wiederholungen durchgeführt. Dabei haben wir festgestellt, daß die Trennung unter Verwendung von Perchlorsäure, enthaltend Silbersulfat, vorteilhafter ist als die Trennung mit Perchlorsäure allein, denn letztere Trennung gibt unverhältnismäßig hohe Ergebnisse; die Richtigkeit jener Ergebnisse, die nach der Silbersulfat verwendenden Methode erhalten werden, wurde durch die Standardzusatzmethode nachgewiesen.

Die Analyseergebnisse einiger Proben wurden mit jenen Werten verglichen, die durch eine Fluorbestimmung mit dem Lanthan-Alizarinkomplexan im Medium von Aceton und Wasser [2, 13] nach dem Verbrennen der Proben mit Calciumoxid und nach der Mikrodestillationsabtrennung des Fluors aus einem Phosphorsäuremedium [2] erhalten wurden. Die Mehrheit der festgestellten Werte stand mit den Ergebnissen der Bestimmung mittels der beschriebenen Methode im Einklang (Tabelle 1). Die für Materialien mit einem höheren Fluorgehalt als  $10 \mu\text{g/g}$  erhaltenen niedrigeren Werte werden wahrscheinlich dadurch verursacht, daß die Asche der Proben nicht mit Kaliumhydroxid geschmolzen wurde, was nach den letzten Erkenntnissen für die quantitative Freisetzung des Fluors bei der Separation [14] unerläßlich ist. Die nahezu übereinstimmenden Ergebnisse der beiden unterschiedlichen Verfahren bestätigen jedoch die Richtigkeit der Ergebnisse, die bisweilen höher als die älteren Literaturangaben (Tabelle 1) liegen.

Die beschriebene Methode ermöglicht eine sehr rasche und einfache Analyse von vielen Proben zu gleicher Zeit. Die biologischen Materialien müssen nicht mineralisiert werden, wodurch die Möglichkeit einer Kontamination der Probe mit Fluor aus den Reagenzien oder aus den Auskleidungen der Öfen herabgesetzt wird. Die Diffusionstrennung, die bei einer niedrigen Temperatur in einer aus Kunststoffen

Tabelle 1

## Fluorbestimmung in Nahrungs- und Futtermitteln

Probe	Fluorgehalt ( $\mu\text{g/g}$ Trockensubstanz)			Literatur
	A	B	C	
Möhre	1,5	—	0,2— 2	[15, 16]
Sellerie	1,4	—	0,2— 2	[15]
Zwiebel	2,0	2,4	0,2— 2	[15]
Tee	84,2	74,2	66,0—100	[15, 16]
Kartoffeln	3,9	4,5	0,2— 2	[15, 16]
Reis	2,6	2,2	0,2— 2	[15, 16]
Linse	2,6	—	0,2— 2	[15]
Zuckerrübe	34,2	28,7	—	—
Luzernerklée	8,4	6,0	1,0	[16]
Sonnenblume	5,0	3,7	—	—
Mais	7,1	8,2	—	—
Weizen	5,4	3,6	1,0	[16]
Baumwollstaude	9,1	6,3	12,0	[16]
Sojabohne	5,5	8,5	—	—
Kleie	2,1	1,6	0,2	[16]
Knochenmehl	423,0	302,5	—	—
Fischmehl	94,2	50,2	120,0	[17]
Blutflocken	4,4	2,4	—	—

A — nach der Diffusion bestimmt mittels Zr—SPADNS.

B — nach Mineralisation und Destillation bestimmt mittels des Lanthan-Alizarin-komplexans.

C — in der Literatur angegeben.

bestehenden Apparatur durchgeführt wird, gewährleistet auch eine hohe Selektivität. Die eigentliche photometrische Bestimmung mittels des Systems Zirkonium—SPADNS ist rasch und auf größere Probenserien leicht applizierbar. Die beschriebene Methode, die praktisch ebenso selektiv ist wie die Bestimmung mit dem Lanthan-Alizarin-komplexan nach der Diffusionstrennung, kann für eine ganze Reihe von Materialien empfohlen werden. Sie bewährte sich nämlich nicht nur bei der Analyse verschiedener Lebens- und Futtermittel sondern auch bei der Analyse von klinischen Materialien, Wässern und mineralischen Phosphorverbindungen.

## Literatur

1. Willard H. H., Winter O. B., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **5**, 7 (1933).
2. Tušl J., *Chem. Listy* **62**, 839 (1968).
3. Hall R. J., *Proc. Soc. Anal. Chem.* **3**, 162 (1966).
4. Singer L., Armstrong W. D., *Anal. Biochem.* **10**, 495 (1965).
5. Nicholson C. R., *Anal. Chem.* **38**, 1966 (1966).
6. Tušl J., *Chem. Listy* **61**, 1302 (1967).
7. Belcher R., Leonard M. A., West T. S., *J. Chem. Soc.* **1959**, 3577.
8. Wharton H. W., *Anal. Chem.* **34**, 1296 (1962).
9. Taves D. R., *Anal. Chem.* **40**, 204 (1968).

10. Tušl J., *Anal. Chem.* **41**, 352 (1969).
11. Nicholson C. R., Privatmitteilung.
12. Singer L., Privatmitteilung.
13. Yamamura S. S., Wade M. A., Sikes J. H., *Anal. Chem.* **34**, 1308 (1962).
14. Hall R. J., *Analyst* (London) **93**, 461 (1968).
15. Záborský J., Rippel A., *Průmysl potravin* **17**, 251 (1966).
16. Churchill H. V., Bridges R. W., Rowley J. R., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* **9**, 222 (1937).
17. Ritchie G. D., *J. Ass. Offic. Anal. Chem.* **51**, 773 (1968).

Übersetzt von K. Ullrich