	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv 20061.1 Příprava vodného extraktu třepáním za studena	Vydání	1
		Revize	2

PŘÍPRAVA VODNÉHO EXTRAKTU TŘEPÁNÍM ZA STUDENA

1 Rozsah a účel

Postup je určen pro přípravu vodného extraktu stopových prvků bor, kobalt, měď, železo, mangan, molybden a zinek v minerálních hnojivech na obou hladinách deklarovaných obsahů těchto prvků (méně než 10 % a více než 10 %) a pro odstranění organických látek ve vodném extraktu. V extraktu lze stanovit také síru přítomnou v různých formách, vodorozpustný fosfor a vápník přítomný ve formě síranu.

2 Princip

Vzorek hnojiva se extrahuje vodou třepáním při laboratorní teplotě. Získané extrakty se okyselují, aby se zabránilo hydrolyze. V případě potřeby se organické látky odstraní varem po přidavku peroxidu vodíku.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Kyselina dusičná, HNO_3 65%, $c(\text{HNO}_3) = 14,3 \text{ mol/l}$; $\rho = 1,42 \text{ g/ml}$.
- 3 Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) \approx 5 \text{ mol/l}$.


Příprava: Do 1000ml odměrné baňky s 500 ml vody (1) se přidá 350 ml koncentrované kyseliny dusičné (2). Do baňky se přidá voda (1) do objemu 900 ml, roztok se vytemperuje na laboratorní teplotu. Doplní se vodou (1) po značku a pečlivě promíchá.

- 4 Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) \approx 0,2 \text{ mol/l}$.

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky s 500 ml vody (1) se přidá 13,8 ml koncentrované kyseliny dusičné (2). Do baňky se přidá voda (1) do objemu 900 ml, roztok se vytemperuje na laboratorní teplotu. Doplní se vodou (1) po značku a pečlivě promíchá.

- 5 Peroxid vodíku, H_2O_2 30%, $\rho = 1,11 \text{ g/ml}$.
- 6 Kyselina chlorovodíková, HCl 37%, $c(\text{HCl}) = 12 \text{ mol/l}$, $\rho = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 7 Kyselina chlorovodíková, zředěná, $c(\text{HCl}) \approx 5 \text{ mol/l}$.

Příprava: Do odměrné baňky 1000ml s 500ml vody (1) se přidá 420 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (6). Do baňky se přidá voda (1) do objemu 900 ml, roztok se vytemperuje na laboratorní teplotu. Doplní se vodou (1) po značku a pečlivě promíchá.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	2	
	Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv		Vydání	1
	20061.1 Příprava vodného extraktu třepáním za studena		Revize	2

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Topná deska s regulací teploty.
- 2 Kádinky vhodného objemu, hodinová sklíčka.
- 3 Analytické váhy s přesností 0,001 g.
- 4 Rotační třepačka s možností nastavení otáček na (35 – 40) ot/min.
- 5 Extrakční láhve nebo Stohmanovy baňky o objemu 500ml, 1000ml.
- 6 Filtrační papír střední hustoty s vysokou rychlostí filtrace.
- 7 Odměrné baňky 25ml, 50ml.

5 Postup

5.1 Příprava extraktů mikroelementů

Při obsahu mikroelementů do 10 % se do 500ml extrakční láhve naváží ($5 \pm 0,005$) g zkušební vzorku. Přidá se ($250 \pm 0,2$) ml vody (1) o laboratorní teplotě.

Při obsahu mikroelementů nad 10 % se do 1000ml extrakční láhve naváží ($2 \pm 0,002$) g zkušební vzorku. Přidá se ($500 \pm 0,5$) ml vody (1) o laboratorní teplotě.

Po pečlivém uzavření extrakční láhve se obsah ručně důkladně protřepe, poté se lahev vloží do rotační třepačky a třepe se 1 h při (35 – 45) ot/min. Získaný extrakt se po vyjmutí z třepačky promíchá a ihned zfiltruje přes suchý skládaný filtr do plastových lahviček, přičemž prvních 50 ml filtrátu se nepoužije. Do 25ml odměrné baňky se pipetuje 20 ml filtrátu, přidá se 2,5 ml zředěné HNO_3 (3) nebo 2,5 ml zředěné HCl (7) a doplní se po značku vodou (1). Výsledná koncentrace kyselin v extraktu je 0,5 mol/l a faktor ředění (konečný objem : objem extraktu) je (5 : 4).


Zároveň s extraktem vzorku se připraví slepý pokus stejným postupem, ale bez navážky vzorku.

5.2 Příprava extraktu ve vodě rozpustné síry

Při obsahu síry méně než 3 % (S) se do 500ml Stohmanovy baňky naváží ($5 \pm 0,001$) g zkušební vzorku. Při obsahu síry větším než 3 % (S) se naváží ($1 \pm 0,001$) g zkušební vzorku.

Přidá se asi 450 ml vody (1), baňka se uzavře, vloží se do rotační třepačky a třepe se 0,5 h při (35 – 45) ot/min. Získaný extrakt se po vyjmutí z třepačky nechá stát 24 h při laboratorní teplotě. Pak se doplní po značku vodou (1) a filtruje se přes suchý filtr do vhodných 500ml baněk, přičemž prvních 50 ml filtrátu se nepoužije.

Zároveň s extraktem vzorku se připraví slepý pokus stejným postupem, ale bez navážky vzorku.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	3	
	Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv		Vydání	1
	20061.1 Příprava vodného extraktu třepáním za studena		Revize	2


5.3 Příprava extraktu vodorozpustného fosforu a vápníku

Do 500ml Stohmanovy baňky se naváží ($5 \pm 0,001$) g zkušební vzorku. Přidá se 450 ml vody (1). Třepe se 30 min na rotační třepače. Doplní se po značku vodou (1), promíchá a zfiltruje přes suchý skládaný filtr, přičemž prvních 50 ml filtrátu se nepoužije.

Zároveň s extraktem vzorku se připraví slepý pokus stejným postupem, ale bez navážky vzorku.

Poznámky

- 1 *Úprava navážky pro přípravu extraktů podle 5.1, 5.2 a 5.3 je možná při zachování extrahovacího poměru maximálně (vzorek : voda) (1 : 100).*
- 2 *Laboratorní teplotou je teplota v rozmezí (20 – 25) °C.*
- 3 *Získané extrakty se stabilizují s ohledem na matici kalibrační křivky a množství vzorku potřebné pro stanovení.*
- 4 *Pokud má být stanoven v extraktu obsah boru, nesmí se používat borosilikátové sklo. Doporučuje se používat teflon, křemenné sklo nebo plast PE-HD.*
- 5 *Pro stanovení obsahu vápníku vázaného v síranu se použije navážka 0,5 g pro získání 250 ml vodného výluhu. Tím se zajistí maximální výtěžnost.*
- 6 *Extrakty se uchovávají v plastových lahvičkách. Ve skleněných nádobkách pouze v případě, že není nutné stanovit obsah boru.*
- 7 *Pokud byly při mytí skla použity mycí prostředky obsahující bor, sklo se důkladně opláchně.*
- 8 *Velmi důležitá je čistota používaného laboratorního nádobí. Před použitím se veškeré používané nádobí zcela po okraj naplní horkým roztokem 0,2 mol/l $\text{HNO}_3(4)$ a ponechá se působit přes noc. Stejně se čistí i plastové zátky, lodičky a nálevky. Následující den se vše důkladně vymyje vodou a pečlivě vypláchně vodou (1).*
- 9 *Intenzita otáček třepačky (35 – 40) ot/min brání v usazování pevných částic v suspenzi při procesu extrakce.*
- 10 *Vzorek se ředí s ohledem na obsahy měřených prvků se zachováním matrice měřeného vzorku.*
- 11 *Stabilizované extrakty mohou být uchovávány po dobu až 15 dnů.*
- 12 *Mírné odchylky v koncentraci kyselin ve vzorcích a kalibrační křivce nemají významný vliv na výsledky stanovení.*
- 13 *Náhradou za filtraci extraktu může být použití centrifugy. Pro jemně mleté vzorky se doporučuje používat centrifugu nebo filtrační papíry s nesmáčivými okraji.*
- 14 *Některé cheláty stanovovaných prvků mohou při extrakci podléhat fotodestrukci, proto je vhodné provádět extrakci i uchování extraktu v neprůhledném nádobí.*

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy - zkoušení hnojiv 20061.1 Příprava vodného extraktu třepáním za studena	Vydání	1
		Revize	2

5.4 Odstranění organických látek z vodného extraktu

Do 100ml kádinky se pipetuje 25 ml extraktu připraveného v kap. 5.1. Přidá se 5ml peroxidu vodíku (5). Kádinka se uzavře hodinovým sklíčkem a obsah se ponechá stát 1 h při laboratorní teplotě. Poté se kádinka přenese na topnou desku (1) a extrakt se vaří 0,5 h. Pokud je extrakt stále viditelně zbarven organickými látkami, přidá se do ochlazeného extraktu dalších 5 ml peroxidu vodíku (5) a vaří se dalších 0,5 h do odstranění přebytku peroxidu vodíku. Po získání čirého roztoku se extrakt ochladí, kvantitativně se převede do 50ml odměrné baňky, přidá se 2,5ml ředěné kyseliny dusičné (3) nebo chlorovodíkové (7) a objem baňky se doplní vodou (1) po značku. Konečná koncentrace kyselin v extraktu je 0,5 mol/l, faktor ředění (konečný objem : objem extraktu) je (5 : 2).

Poznámka

15 *V případech, kdy vzorek hnojiva obsahuje malé množství organických látek, jejich obsah neovlivňuje stanovení prvků metodami ICP-OES a FAAS, proto není nutné organické látky odstraňovat.*

6 Literatura

- 1 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1009.
- 2 Příloha č. 2 k vyhlášce 309/2021 Sb., ve znění pozdějších předpisů, postup č. 3.1.6, 7.1.4, 9.1.1.2, 9.1.1.3, 9.2.1.2 a 9.2.1.3.
- 3 ČSN EN 16962: Hnojiva – Extrakce ve vodě rozpustných stopových živin v hnojivech a odstraňování organických látek z extraktů hnojiv.
- 4 ČSN EN 15958: Hnojiva – Extrakce fosforu rozpustného ve vodě.
- 5 ČSN EN 15926: Hnojiva – Extrakce vodorozpustné síry, kde je síra v různých formách.