 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU VÁPŇÍKU, DRASLÍKU, HOŘČÍKU, SODÍKU A FOSFORU METODOU ICP-OES

1 Rozsah a účel

Metoda je určena pro stanovení makroprvků vápník, fosfor, draslík, hořčík a sodík a mikroprvků měď, železo, mangan a zinek v krmivech metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

2 Princip


Vzorky krmiv se zpopelní a popel se rozpustí v kyselině chlorovodíkové anebo se vzorky přímo rozpustí v kyselině chlorovodíkové (minerální premixy).

Prvky se stanoví v mineralizátu vzorku metodou ICP-OES. Aerosol vzorku je proudem argonu přiveden do argon-argonového plazmatu, kde dojde vlivem vysoké teploty k excitaci a ionizaci prvků. Při jejich přechodu do stavů s nižší energií dochází k vyzáření charakteristických kvant záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity záření na vhodné linii daného prvku se stanoví koncentrace tohoto prvku ve vzorku metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 3 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 600 ml vody (1) v 1000ml odměrné baňce se přidá 265 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 4 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 500 ml vody (1) v 1000ml odměrné baňce se přidá 27 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 5 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 400 ml vody (1) v 1000ml odměrné baňce se přidá 530 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 6 Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
- 7 Základní certifikované roztoky prvků (Ca, P, K, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, Zn) o koncentraci 1000 mg/l.
- 8 Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , roztok 200 g/l.

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

Poznámky

- 1 *Ve standardních kalibračních roztocích je třeba modelovat koncentraci kyseliny chlorovodíkové tak, aby byla shodná s její koncentrací ve vzorcích a odpovídala i použité míře ředění vzorku před měřením.*
- 2 *Je možné používat i víceprvkové zásobní standardní roztoky s odpovídající specifikací uvádějící použitou kyselinu a techniku přípravy. Doporučuje se použít komerčně dostupné zásobní roztoky.*
- 3 *Sklo umyté v myčce se dále čistí následujícím způsobem: sklo se naplní 5% kyselinou dusičnou a nechá se máčet nejlépe přes noc. Poté se kyselina vylije, sklo se nechá okapat, vypláchne se 3 × vodou a vysuší. Sklo se přechovává suché v uzavíratelných boxech.*

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený pneumatickým zmlžovačem.
- 2 Křemenný nebo porcelánový kelímek.
- 3 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 4 Filtrační papír střední hustoty.
- 5 Elektrický vaříč, topná deska nebo plynový kahan.
- 6 Sušárna laboratorní elektrická, s možností odvětrávání, automatickou regulací teploty a teploměrem pro rozsah teplot nejméně do 120 °C.
- 7 Analytické váhy s přesností nejméně 0,001g.


Poznámky

- 4 *Postup byl vypracován a ověřen na simultánním přístroji SPECTROBLUE (SPECTRO, Německo) s radiálním uspořádáním.*
- 5 *Pro měření mineralizátů je vhodné použít zvlhčovač argonu, který zamezí zanášení zmlžovače vyloučenými solemi ze vzorků.*
- 6 *Lze použít i platinové kelímky. V takovém případě se musejí dodržovat pravidla pro práci s platinovým nádobím. Platinové kelímky nelze použít pro analýzu premixů a minerálních surovin.*

5 Postup mineralizace

5.1 Úprava vzorku

Úprava vzorků se provádí podle ČSN EN ISO 6498 Krmiva - Pokyny pro přípravu vzorku a JPP 60010.1 Postupy úprav zkušebních vzorků jednotlivých druhů krmiv.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.2.

Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.3.

Poznámky

- 7 *Zjištění přítomnosti organické hmoty: lžička se vzorkem se vloží do plamene. Pokud dojde k tání, vzorek organickou hmotu neobsahuje. Pokud dojde ke změně barvy a tání se neobjeví, vzorek organickou hmotu obsahuje.*

5.2 Rozklad krmiv organického původu na suché cestě

Do spalovacího kelímku se podle předpokládaného obsahu prvků odváží asi 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g a obsah kelímku se pozvolna zpopelní na elektricky vyhřívané desce nebo na kahanu. Potom se kelímek se zuhelnatěným vzorkem vloží do muflové pece a spaluje se 3 h při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$. Po uplynutí této doby se kelímek vyjme, nechá se zchladit v exsikátoru a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (8), kelímek se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 8).

Alternativním postupem je spalování navážky vzorku ve spalovacím kelímku v muflové peci. Kelímek se umístí do studené muflové pece, teplota se postupně zvyšuje a po dosažení teploty $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje 5 h. Poté se kelímek nechá vychladnout a zkontroluje se přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (8), kelímek se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 8).

Po ochlazení se popel mírně zvlhčí vodou (1) a pomocí kyseliny chlorovodíkové (3) se kvantitativně převede do 250ml kádinky. Celkové množství roztoku kyseliny chlorovodíkové nemá překročit 75 ml. Kádinka se přikryje krycím sklíčkem, obsah se uvede do varu a vaří se asi 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (1). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (1) po značku a promíchá (zásobní roztok).


Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.

Poznámky

- 8 *Dusičnan amonný se musí přidávat opatrně, aby se zamezilo dispergování popela.*

5.3 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Postupně se za občasných promíchání přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a přikryje se hodinovým sklíčkem. Po ukončení bouřlivé reakce se kádinka nechá přikrytá krycím sklíčkem,

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

obsah se uvede do mírného varu a vaří se 15 min. Obsah kádinky se ještě za horka filtruje přes středně hustý filtrační papír do 250ml odměrné baňky. Filtr se několikrát promyje horkou vodou (1). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (1) po značku a promíchá (zásobní roztok). Podle očekávaného obsahu jednotlivých prvků se tento mineralizát měří buď přímo, nebo po potřebném naředění kyselinou chlorovodíkovou (4).

Pro každou měřenou sérii se připraví slepý pokus tak, že se provedou stejné operace bez zkušební vzorku.

6 Měření

6.1 Podmínky měření, vlnové délky, korekce pozadí

Při měření se vychází z podmínek doporučených výrobcem pro daný přístroj. Je třeba optimalizovat zejména průtoky plynů, výkon plazmatu, výběr vlnových délek, výšku pozorování, odečet pozadí apod. Tyto parametry mohou významným způsobem ovlivnit míru možných interferencí. Při optimalizaci metody pro daný přístroj je nezbytné ověřit stanovení analýzou vhodných referenčních materiálů, případně vzorků z mezilaboratorních porovnávacích zkoušek.


Následující podmínky měření jsou pouze možným příkladem nastavení ICP-OES spektrometru. Podmínky jsou uvedeny pro simultánní přístroj SPECTROBLUE firmy SPECTRO v radiálním uspořádání..

Tabulka 1. Podmínky měření.	
Výkon plazmatu	1400W
Průtok plazmového plynu	14,5 l/min
Průtok přídavného plynu	1 l/min
Průtok zmlžovacího planu vzorku	1 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	30 ot/min měření, 63 ot/min proplach
Čas měření	5 s

Vlnové délky a korekce pozadí

Spektrometr SPECTROBLUE snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar s měřením pozadí v jejich okolí.

Odečet pozadí musí být zvolen tak, aby spektrální čára analytu byla co nejméně ovlivněna čarami jiných prvků, ale aby byla zároveň dostatečně účinně provedena korekce pozadí.

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

Tabulka 2. Doporučené vlnové délky.

Prvek	Vlnová délka [nm]	Alternativní vlnová délka [nm]
Vápník Ca	422,673	317,933
Draslík K	769,896	766,491
Hořčík Mg	285,213	
Sodík Na	589,592	
Fosfor P	214,914	177,495
Měď Cu	327,396	
Železo Fe	259,941	
Mangan Mn	257,611	
Zinek Zn	213,856	

6.2 Kalibrace


Pro stanovení obsahu prvků se provádí kalibrace pomocí kalibračních roztoků, které se připraví vhodným ředěním základních standardních roztoků (7).

6.2.1 Kalibrační standardní roztoky

Připravují se směsné kalibrační standardní roztoky pro všechny prvky stanovované tímto postupem. Přehled kalibračních standardních roztoků a koncentrací pro jednotlivé prvky uvádí tabulka 3.

Tabulka 3. Přehled standardních kalibračních roztoků (mg/l).

Prvek/Standard	STDHIGH	STD2	STD1	STDLOW
Vápník Ca	200	100	40	0
Draslík K	200	100	40	0
Hořčík Mg	100	50	20	0
Sodík Na	40	20	8	0
Fosfor P	200	100	40	0
Měď Cu	5	2,5	1	0
Železo Fe	20	10	4	0
Mangan Mn	10	5	2	0
Zinek Zn	10	5	2	0

	Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

6.2.2 Příprava kalibračních standardních roztoků

STDHIGH: Ze základních standardních roztoků o obsahu 1000 mg/l (7) se pipetují do odměrné baňky 500 ml objemy podle tabulky 4. Odměrná baňka se doplní roztokem kyseliny chlorovodíkové $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4).

Tabulka 4. Objemy základních standardních roztoků (7) pipetované pro přípravu STDHIGH.

Prvek	Pipetovaný objem (ml)
Vápník Ca	100
Draslík K	100
Hořčík Mg	50
Sodík Na	20
Fosfor P	100
Měď Cu	2,5
Železo Fe	10
Mangan Mn	5
Zinek Zn	5

STD2: 50 ml standardního roztoku STDHIGH se pipetuje do 100ml odměrné baňky a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4).

STD1: 20 ml standardního roztoku STDHIGH se pipetuje do 100ml odměrné baňky a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4).


STDLOW: Kyselina chlorovodíková $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4); nulový bod kalibrační křivky.

Průběhy kalibračních křivek jsou pro všechny prvky lineární. Přístroj nabízí pro komplikovanější průběhy kalibračních křivek proložení křivkou vyššího řádu.

6.3 Stanovení prvků v mineralizátech krmiv

Vzorky se měří optimalizovanou metodou za podmínek stabilizovaných teplotních poměrů spektrometru podle příslušného návodu k použití přístroje a doporučení výrobce.

Zároveň se provede slepý pokus se všemi činidly a stejným postupem, ale bez navážky vzorku. Do každé série je třeba zařadit alespoň dva slepé pokusy.

	Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10150.1 – Stanovení obsahu vápníku, draslíku, hořčíku, sodíku a fosforu metodou ICP-OES	Vydání	2
		Revize	0

7 Kontrola kvality

Pro kontrolu kvality měření se do každé série vzorků vkládají interní referenční materiály (IRM) navázané na certifikované referenční materiály (CRM) nebo IRM, které prošly mezilaboratorním porovnáním.

8 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentrace analytu v roztoku zkušební vzorku a v roztoku slepého pokusu se vypočtou z kalibrační rovnice. Tento výpočet provádí přímo vyhodnocovací program přístroje. Pokud jsou parametry slepého pokusu a IRM vyhovující, vypočte se výsledná koncentrace prvku ve vzorku po odečtení slepého pokusu podle následujícího vztahu

$$X = (C_V - C_B) \times V \times F \times 1000/m$$

kde

X je obsah prvku vyjádřený (mg/kg),

C_V je koncentrace příslušného prvku v extraktu vzorku (mg/l), odečtená z kalibračního grafu,

C_B je koncentrace příslušného prvku (mg/l) v roztoku slepého pokusu,

m je hmotnost navážky vzorku (g),

F je faktor ředění,

V je celkový objem filtrátu nebo extraktu (l).

9 Literatura

- 1 ČSN EN 15510 Krmiva – Stanovení vápníku, sodíku, fosforu, hořčíku, draslíku, železa, zinku, mědi, manganu, kobaltu, molybdenu, arsenu, olova a kadmia metodou ICP-AES.