 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Vydání	1
		Revize	2

## STANOVENÍ OBSAHU ARSENU, KOBALTU, CHROMU A NIKLU METODOU ICP-OES

### 1 Rozsah a účel

Metoda je určena pro stanovení uvedených prvků (As, Co, Cr, Ni) v krmivech metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

### 2 Princip

Vzorky krmiv se spálí a popel se rozpustí v kyselině chlorovodíkové nebo 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. Pokud je nutné, musejí být chemikálie přečištěny (např. podvarovou destilací).

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) se přidá 265 ml koncentrované HCl a po ochlazení se doplní vodou (1) do 1 litru.

4 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$ .


Příprava: K asi 800 ml vody (1) se přidá 88 ml koncentrované HCl a po ochlazení se doplní vodou (1) do 1 litru.

5 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok  $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$ .

Příprava: K asi 400 ml vody (1) a přidá se 530 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní vodou (1) do 1 litru.

6 Kyselina dusičná,  $\text{HNO}_3$ , koncentrovaná, podvarově destilovaná.

7 Dusičnan amonný,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , roztok 200 g/l.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b>	Vydání	1
	10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Revize	2

- 8 Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
- 9 Základní certifikovaný roztok prvků, např. CZ 9085 MIX 005 (Český metrologický institut) s koncentracemi: As = 25 mg/l, Co = 50 mg/l, Cr = 100 mg/l, Ni = 100 mg/l.

### 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 *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 × demineralizovanou vodou a nechá se usušit. Sklo se přechovává suché v uzavíratelných boxech.*

### 4 Přístroje a pomůcky


- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený pneumatickým zmlžovačem a zvlhčovačem argonu.
- 2 Křemenný nebo porcelánový spalovací kelímek.
- 3 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 4 Filtrační papír střední hustoty.
- 5 Elektrický vařič, 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 0,001 g

### Poznámky

- 3 *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.*
- 4 *Postup byl vypracován a ověřen na simultánním přístroji iCAP 6300 (Thermo Electron Corporation) s radiálním uspořádáním, s celoskleněným koncentrickým kapilárním zmlžovačem (typ Meinhard).*
- 5 *Pro měření mineralizátů je vhodné použít zvlhčovač argonu, který zamezí zanášení zmlžovače vyloučenými solemi ze vzorků.*

### 5 Postup mineralizace

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.1.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Vydání	1
		Revize	2

Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.2. Tento postup mineralizace není vhodný pro stanovení As. V případě, že je požadováno stanovení As, je využita mineralizace podle bodu 5.3.

## Poznámky

6 *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.*

### 5.1 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 kelímeček se zuhelnatěným vzorkem vloží do muflové pece a spaluje se 3 h při teplotě ( $550 \pm 20$ ) °C. Po uplynutí této doby se kelímeček vyjme, nechá se zchladit v exsíkátoru a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (7), kelímeček se vysuší v sušárně při 103 °C do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě ( $550 \pm 20$ ) °C se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 7).

Alternativním postupem je spalování navážky vzorku ve spalovacím kelímku v muflové peci. Kelímeček se umístí do studené muflové pece, teplota se postupně zvyšuje a po dosažení teploty ( $550 \pm 20$ ) °C se spaluje 5 h. Poté se kelímeček nechá vychladnout a zkontroluje se přítomnost uhlíkatých částic. Pokud jsou přítomny, vzorek se zvlhčí několika kapkami roztoku dusičnanu amonného (7), kelímeček se vysuší v sušárně při 103 °C do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě ( $550 \pm 20$ ) °C se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 7).


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 k 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

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

### 5.2 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Vydání	1
		Revize	2

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, 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.

### Poznámky

- 8 *Při očekávání nízkých obsahů stanovovaných prvků ve vzorcích je vhodné použít pro přípravu mineralizátů odměrné baňky menších objemů než 250 ml (např. 100 ml nebo 50 ml).*

### 5.3 Rozklad krmiv minerálního původu „obrácenou“ lučavkou královskou

Do spalovací tuby se naváží 3 g vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Přidá se 7 ml kyseliny chlorovodíkové (2) a 21 ml kyseliny dusičné (6). Tuba se umístí do mineralizačního bloku a zahřívá se 1 h při 250 °C. Po vychladnutí se mineralizát filtruje do odměrné baňky (100 ml) a doplní vodou (1) po značku.

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


## 6 Postup 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 certifikovaných referenčních materiálů (CRM), případně vzorků z mezilaboratorních porovnávacích zkoušek.

Následující podmínky měření (tabulka 1) jsou pouze možným příkladem nastavení ICP-OES spektrometru. Podmínky jsou uvedeny pro simultánní přístroj iCAP 6300 firmy Thermo Electron Corporation v radiálním uspořádání se zmlžovačem typu Meinhard a zvlhčovačem argonu.

### Tabulka 1. Příklad podmínek měření.


 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Vydání	1
		Revize	2

Tlak argonu na zmlžovači	0,12 MPa
Průtok přídavného argonu	0,5 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	50 ot/min měření, 100 ot/min. proplach
Promývací čas vzorku	20 s
Integrace signálu v UV oblasti	5 s
Integrace signálu ve VIS oblasti	5 s
Výkon plazmatu	1150 W
Hadička pro vzorek	Tygon orange/white
Hadička pro odpad	Tygon white/white

Vlnové délky a korekce pozadí: Spektrometr iCAP 6300 snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar s měřením pozadí v jejich okolí. Výsledkem snímání je dvourozměrné spektrum píku, tzv. spektrální graf.

Výběr pixelů pro odečet signálu lze softwarově měnit, stejně jako polohu pro odečet pozadí, která se řídí možnými interferencemi ve spektru vzorku, a především samotným vzhledem píku analytu a jeho okolí. Je potřeba upravit pro každý prvek polohu pixelů pro odečet analytu a pozadí jak pro kalibrační standardy, tak zejména pro reálné vzorky, u kterých bývá obvykle pík analytu ovlivněn maticí vzorku.

Teprve po nastavení odečtu pixelů se provede kalibrace a mohou se měřit reálné vzorky. 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	6
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b>	Vydání	1
	10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Revize	2

**Tabulka 2. Vlnové délky (I – atomová čára, II – iontová čára).**

Prvek	Vlnová délka (spektrální řád) (nm)	Druh spektrální čáry
Arsen As	189,042 (479)	I
Kobalt Co	228,616 (447)	II
Chrom Cr	267,716 (126)	II
Nikl Ni	231,604 (445)	II

### Poznámky

9 Při stanovení kobaltu, chromu a niklu u vysoce kontaminovaných vzorků může být problémem fyzikální rušení na spektrálních čárách, uvedených v tabulce 2, kde je pozorovatelná deprese signálu až o 15 %. Alternativní čáry Co 345,350, Cr 357,869 a Ni 341,476 jsou použitelné, ale z hlediska spektrálního rušení, intenzit a detekčních limitů méně vhodné.

## 6.2 Kalibrace

Pro stanovení obsahu prvků se používá kalibrace pomocí kalibračních roztoků, které se připraví vhodným ředěním základního standardního roztoku (9).

### 6.2.1 Kalibrační standardní roztoky


Směsné kalibrační standardní roztoky se připravují 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
Arsen As	2,5	1,25	0,5	0
Kobalt Co	5	2,5	1	0
Chrom Cr	10	5	2	0
Nikl Ni	10	5	2	0

### 6.2.2 Příprava kalibračních standardních roztoků

**STDHIGH:** Do 200ml odměrné baňky se pipetuje 20 ml základního standardního roztoku (9) Odměrná baňka se doplní roztokem kyseliny chlorovodíkové  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$  (4).

	Národní referenční laboratoř	Strana	7
	<b>Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv</b> 10480.1 – Stanovení obsahu arsenu, kobaltu, chromu a niklu metodou ICP-OES	Vydání	1
		Revize	2

**STD2:** Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 50 ml standardního roztoku STDHIGH a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$  (4).

**STD1:** Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 20 ml standardního roztoku STDHIGH a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$  (4).

**STDLOW:** Kyselina chlorovodíková  $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$  (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.

## 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 vztahu

$$X_{elem} = \frac{(C_V - C_B) \times V \times F}{m} \times 1000$$

kde

$X_{elem}$  je obsah prvku vyjádřený v mg/kg,

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

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

$m$  je hmotnost navážky vzorku v g,

$F$  je faktor ředění,

$V$  je celkový objem filtrátu nebo extraktu v litrech.