

	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU KADMIA A OLOVA METODOU FAAS

1 Rozsah a účel

Metoda specifikuje podmínky pro stanovení Cd a Pb v krmivech a minerálních premixech. Stanovení je určeno pro mineralizáty připravené na suché cestě (zpopelnění vzorku a rozpuštění v kyselině dusičné) a pro mineralizáty připravené na mokré cestě (přímé rozpouštění v kyselině dusičné).

2 Princip

Kadmium a olovo se stanoví po mineralizaci vzorku metodou plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS). Koncentrace stanovovaných prvků se zjišťuje na základě charakteristické absorpce záření na rezonančních čarách těchto prvků v plameni acetylen – vzduch metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak. Pokud je nutné, musí být chemikálie přečištěny (např. podvarovou destilací).

- 1 Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$.
- 2 Kyselina dusičná, HNO_3 , roztok přibližně 2% v/v, používá se výhradně k mytí skla.
- 3 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 4 Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 1 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se odpipetuje 70 ml koncentrované kyseliny dusičné (1), doplní po značku vodou (3) a promíchá.
- 5 Základní komerční certifikované roztoky kadmia a olova o koncentraci 1000 mg/l nebo směsný certifikovaný roztok těchto prvků.
- 6 Acetylen čistý a vzduch tlakový pro FAAS.
- 7 Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 10 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se odměří 692 ml koncentrované kyseliny dusičné (1), doplní po značku vodou (3) a promíchá.
- 8 Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se odměří 6,9 ml koncentrované kyseliny dusičné (1), doplní po značku vodou (3) a promíchá.
- 9 Kyselina dusičná, HNO_3 , 5%.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije 500 ml vody (3), přidá se 79 ml kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní po značku.

10 Kyselina chlorovodíková, HCl, koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.

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

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 400 ml vody (3) a přidá se 530 ml kyseliny chlorovodíkové (10). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.

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

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 800 ml vody (3) a přidá se 88 ml kyseliny chlorovodíkové (10). Po vytemperování se doplní po značku a promíchá.

4 Přístroje a pomůcky

1 Atomový absorpční spektrofotometr s korekcí nespecifické absorpce a s vhodnými výbojkami pro stanovené prvky, vybavený hořákem s nástavcem pro křemenný koncentrátor atomů.

2 Muflová pec s regulací teploty (100 – 600) °C.

3 Analytické váhy.

4 Topná deska s regulovatelnou teplotou.

5 Dávkovací mikropipety o objemu (100 – 4500) μl .

6 Analytické filtry kvantitativní (např. FILTRAK 389 nebo obdobné).

7 Sušárna laboratorní elektrická, s možností odvětrávání, automatickou regulací teploty a teploměrem pro rozsah teplot nejméně do 120 °C.

Poznámky

1 *Používané laboratorní sklo (pipety, kádinky, odměrné baňky atd.) se před použitím dobře vypláchne vodou a louží ve zředěné kyselině dusičné (2) nejlépe přes noc. Poté se několikrát promyje demineralizovanou vodou.*

5 Úprava vzorku

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.

Potřebné množství zhomogenizovaného zkušebního vzorku se upraví na velikost částic menší než 0,5 mm v třecí misce nebo na mlýnku se sítím s velikostí oka 0,5 mm.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

5.2 Postup mineralizace

Postup je určen pro stanovení kadmia a olova. Pokud zkušební vzorek obsahuje organické látky a neobsahuje fosfáty, ze kterých by při spalování vznikaly nerozpustné produkty, postupuje se podle 5.2.1.

Pokud je zkušební vzorek minerální sloučenina nebo obsahuje fosfáty, postupuje se podle 5.2.2.

5.2.1 Rozklad vzorků krmiv organického původu na suché cestě

Varianta A

Do skleněné nebo lépe křemenné 50 ml kádinky (poznámka č. 2) se naváží 2 g zkušební vzorku s přesností 0,001 g. Kádinka se přikryje hodinovým sklíčkem, vloží na studenou topnou desku, jejíž teplota se postupně zvyšuje po 50 °C/h až do teploty 300 °C. Potom se kádinka vloží do studené muflové pece. Nastaví se teplota 300 °C a vzorek se ponechá při této teplotě 1 h. Dále se teplota zvyšuje postupně po 50 °C/h až do teploty 480 °C. Při této teplotě se vzorek ponechá nejméně 3 h, nejlépe však přes noc. Barva popela se vizuálně posoudí. Pokud je ještě černá či tmavě šedá, vloží se vzorek zpět do pece a pokračuje se ve spalování. Jestliže je popel již světle šedý, přidá se opatrně po stěnách nádoby 1 ml (v případě většího množství popela 2 ml) kyseliny dusičné (1) a nádoba se vloží na topnou desku, která se zahřeje na teplotu nižší, než je bod varu (poznámka č. 3). Roztok nesmí vřít a mineralizáty se odpaří do sucha. Potom se opět vloží do muflové pece, kde se ponechá 1 h při 480 °C. Po vyjmutí z pece a vychladnutí se přidá podle množství popela přesně 10 ml až 20 ml roztoku kyseliny dusičné (4), přidané objemy se zaznamenají, obsah nádoby se promíchá krouživým pohybem a ponechá stát nejméně 2 h. Během této doby se nádobkou ještě několikrát zamíchá nebo lze pro dokonalé rozpuštění popela použít ultrazvukovou lázeň. Mineralizát se přefiltruje přes hustý filtr do uzavíratelné, nejlépe plastové nádoby.

Zároveň se provede slepý pokus se všemi činidly a stejným postupem s vyloučením vzorku.

Varianta B

Do porcelánového spalovacího kelímku se podle předpokládaného obsahu prvků naváží 2 g až 5 g zkušební vzorku s přesností 1 mg, kelímek se vloží do studené muflové pece a teplota se postupně zvyšuje (100 °C/h) až na 480 °C. Vzorek se spaluje při této teplotě asi 6 h, dokud se nezíská bílý nebo šedý popel (malé množství uhlíku neruší). Po spálení, vyjmutí z pece a ochlazení, se popel převede do 100ml kádinky, zalije 10 ml kyseliny dusičné (7), přikryje hodinovým sklem a na pískové lázni nebo topné desce se nechá opatrně projít varem. Hodinové sklo se sejme, kondenzát opláchne vodou (3) a celý obsah se filtruje přes filtr do 50ml odměrné baňky. Filtr se promývá zředěnou kyselinou dusičnou (8). Baňka se po vytemperování doplní po značku a promíchá. Obsah baňky se přelije do uzavíratelné plastové nádoby.

Zároveň se provede slepý pokus se všemi činidly a stejným postupem s vyloučením vzorku.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

5.2.2 Rozklad vzorků krmiv minerálního původu na mokré cestě

Varianta A

Podle předpokládaného obsahu prvků se do 250 ml kádinky se naváží 5 g až 10 g zkušební vzorku s přesností 1 mg, přidá se pomalu a opatrně 85 ml kyseliny dusičné (9), kádinka se zakryje hodinovým sklem a umístí se na topnou desku. Od dosažení varu se zahřívá 30 min. Hodinové sklo se sejme, kondenzát opláchne vodou (3) a celý obsah se filtruje přes filtr do 100ml odměrné baňky. Filtr se promývá zředěnou kyselinou dusičnou (8). Baňka se po vytemperování doplní po značku a promíchá. Obsah baňky se přelije do uzavíratelné plastové lahvičky.

Zároveň se provede slepý pokus se všemi činidly a stejným postupem s vyloučením vzorku.

Varianta B

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Postupně se za občasného promíchání přidá 75 ml kyseliny chlorovodíkové (11) 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 100ml odměrné baňky. Filtr se promyje horkou vodou (3). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (3) po značku a promíchá (zásobní roztok). Podle očekávaného obsahu jednotlivých prvků se tento mineralizát měří buď přímo, nebo po potřebném naředění kyselinou chlorovodíkovou (12).

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

Poznámky

- 2 *Použití platinových misek pro vzorky premixů je problematické a nedoporučuje se.*
- 3 *Bod varu kyseliny dusičné je 86 °C.*
- 4 *Mineralizát lze skladovat v temnu (mimo dosah slunečního záření) při laboratorní teplotě v uzavřené plastové lahvičce maximálně 14 dnů.*

5.3 Měření, příprava kalibračních roztoků a křivek

5.3.1 Sestrojení kalibračních křivek

Kadmium

Pracovní standardní roztok S2 o koncentraci 10 mg/l: Do 250ml odměrné baňky se odpipetuje 2,5 ml základního certifikovaného standardního roztoku a doplní po značku roztokem kyseliny dusičné (4).

Pracovní standardní roztok S3 o koncentraci 1 mg/l: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 a doplní po značku roztokem kyseliny dusičné (4).

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

Kalibrační roztoky: Do sady 100ml odměrných baněk se postupně pipetuje (0; 2; 4; 8; 20) ml pracovního standardního roztoku S3 a pak doplní po značku roztokem kyseliny dusičné (4). Tato ředění odpovídají koncentracím Cd: (0; 0,02; 0,04; 0,08; 0,2) mg/l. Kalibrační roztoky se pak převedou do plastových nádobek a uzavřou. Uchovávají se při laboratorní teplotě.

Olovo

Pracovní standardní roztok o koncentraci 10 mg/l: Do 250ml odměrné baňky se odpipetuje 2,5 ml základního certifikovaného standardního roztoku a doplní po značku roztokem kyseliny dusičné (4).

Kalibrační roztoky: Do sady 100ml odměrných baněk se postupně pipetuje (0; 4; 10; 15; 20; 40) ml pracovního standardního roztoku a pak doplní po značku roztokem kyseliny dusičné (4). Tato ředění odpovídají koncentracím Pb: (0; 0,4; 1; 1,5; 2; 4) mg/l.

Kalibrační roztoky se pak převedou do plastových nádobek a uzavřou. Uchovávají se při laboratorní teplotě.

Poznámky

- 5 *V případě potřeby lze koncentrace standardů upravit dle očekávaných obsahů kadmia ve vzorcích*

5.4 Postup měření

Používají se mineralizáty připravené podle 5.2.1. nebo 5.2.2. Měří se v oxidačním plameni acetylen-vzduch s nízkým průtokem acetylenu se štěrbinovým hořákem o délce 10 cm umístěným v optické ose přístroje a s využití deuteriové korekce nespecifické absorpce. Pro kadmium se používá vlnová délka 228,8 nm a pro olovo vlnová délka 217,0 nm. Další přístrojové parametry (proud pro žhavení dutokatodových výbojek, optická šířka štěrbin, průtoky plynů atd.) se nastaví podle doporučení výrobce přístroje nebo na základě optimalizace postupu pro konkrétní přístroj. Měří se po dosažení dostatečně stabilizovaných podmínek přístroje (nažhavení výbojky, teplota plamene) a jeho nastavení na nejvyšší citlivost pro měření olova a kadmia (poznámka 5).

Absorbance všech měřených vzorků včetně kalibrační křivky i s roztokem s nulovou koncentrací se měří nejméně 3 × po 2sekundové integraci a po 3sekundové prodlevě.

Z naměřených hodnot absorbancí a jim odpovídajících hodnot koncentrací kalibračních roztoků se sestojí kalibrační křivka. Při vyhodnocení zkoušených vzorků je třeba dbát na to, aby se měřené koncentrace nacházely v lineární části kalibrační křivky.

Pokud ani s křemenným koncentrátorem atomů není citlivost stanovení metodou FAAS dostatečná, je třeba využít jinou metodu, např. ICP-MS.

Poznámky

- 6 *Pro zvýšení citlivosti stanovení kadmia a olova je při analýze zpravidla nutné využít křemenný koncentrátor atomů. Pak je zvýšení citlivosti minimálně trojnásobné. Při jeho*

	Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	2
	10450.1 – Stanovení obsahu kadmia a olova metodou FAAS	Revize	0

použití je třeba prodloužit dobu pro ustálení (prodlevu) signálu nejméně na 5 s. Štěrbínový křemenný koncentrátor nesmí přijít do styku s redukčním plamenem. Životnost křemenných trubic lze významně prodloužit, když se před prvním použitím nejprve zmlžuje roztok o koncentraci lanthanu 1000 mg/l po dobu asi 10 min a tento postup se v průběhu používání trubice periodicky opakuje. Takto upravený křemen lépe vzdoruje slučování s alkáliemi ve vzorku.

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah kadmia a olova v mg/kg se vypočte podle vztahu

$$X = \frac{C \times V}{m} \times R$$

kde

- X je obsah sledovaného prvku v mg/kg,
 C koncentrace příslušného prvku, odečtená z kalibrační křivky v mg/l,
 V objem v ml, do kterého byl převeden mineralizát,
 m hmotnost navážky zkušebního vzorku pro mineralizaci v g,
 R korekce na ředění před vlastním měřením

$$R = \frac{V_A}{V_m}$$

- V_A celkový objem po naředění mineralizátu před měřením v ml,
 V_m objem mineralizátu pipetovaný pro ředění v ml.