	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10282.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES	Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU SELENU METODOU ICP-OES

1 Rozsah a účel

Postup specifikuje podmínky pro stanovení celkového obsahu selenu v minerálních krmivech a premixech metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Citlivost ICP-OES spektrometru je obvykle dostatečná pro stanovení obsahu selenu v minerálních krmivech. Metoda není určena pro stanovení nízkých koncentrací selenu v krmných směsích, kde se přednostně používají citlivější analytické metody, např. HG-AAS nebo ICP-MS.

2 Princip


Selen se stanoví v mineralizátu vzorku metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

Aerosol vzorku se proudem argonu přivede do argon-argonového plazmatu, ve kterém dojde vlivem vysoké teploty k termické excitaci a ionizaci atomů prvku. Při jejich přechodu do stavu s nižší energií (následně de-excitaci) dojde k vyzáření charakteristických kvant, která odpovídají záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity emitovaného záření na vhodné vlnové délce stanovovaného prvku se určí koncentrace daného prvku ve vzorku metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina dusičná, koncentrovaná, HNO₃, 65% (m/m).
- 2 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 3 Kyselina sírová, koncentrovaná, H₂SO₄, 96% (m/m).
- 4 Peroxid vodíku, H₂O₂, 30% (m/m).
- 5 Základní standardní roztok selenu o koncentraci $c = 1000$ mg/l. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce, např. Analytika s.r.o. Praha.
- 6 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10282.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES	Revize	0

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem, případně vybavený zvlhčovačem argonu.
- 2 Mineralizační zařízení s programátorem teploty a zpětnými vodními chladiči.
- 3 Laboratorní ultraodstředivý mlýn, síta o velikosti ok 0,12 mm, případně 0,5 mm.
- 4 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 5 Automatické dávkovače, (1 – 10) ml.
- 6 Plastové lahvičky, 50 ml nebo 100 ml.
- 7 Filtrační papír střední hustoty.
- 8 Skleněné odměrné baňky se zátkami, (50 – 100) ml.
- 9 Automatické pipety s volitelným objemem (100 – 5000) μ l.

5 Postup

5.1 Příprava vzorku

Vzorek se umele na laboratorním mlýnku s použitím síta 0,12 mm. Pokud to charakter vzorku nedovoluje, použije se síto s velikostí ok 0,5 mm.

5.2 Mineralizace vzorku


Rozklad na mokré cestě v mineralizačním bloku

Do mineralizační trubice se naváží asi 2 g vzorku s přesností 0,0001 g. Do trubice se opatrně pomocí dávkovače přidá 10 ml kyseliny dusičné (1), trubice se umístí do mineralizačního bloku a nasadí se zpětný chladič a vzorky se nechají alespoň 16 h. Potom se směs zahřívá pod zpětným chladičem v mineralizačním bloku postupným nárůstem teplot: 10 min při 100 °C, 10 min při 140 °C a 90 min při 175 °C.

Po ochlazení směsi se opatrně přidají pomocí dávkovače 2 ml kyseliny dusičné (1) a 1 ml kyseliny sírové (3). Směs se opatrně zahřívá pod zpětným chladičem 60 min při teplotě 175 °C. Po ochlazení se po kapkách přidají (3 ± 1) ml peroxidu vodíku (4) a směs se zahřívá 10 min při 140 °C. Po ochlazení se obsah trubice kvantitativně převede přes filtrační papír do 50ml odměrné baňky. Po vytemperování se doplní vodou (2) po značku a promíchá se. Stejným způsobem se připraví slepý pokus bez navážky vzorku.

Poznámky

- 1 Navážku vzorku lze snížit podle očekávaného obsahu selenu v minerálním krmivu.
- 2 Lze použít i jiný typ mineralizačního zařízení s programátorem teploty, na kterém nedochází ke ztrátám selenu.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10282.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES	Revize	0

5.3 Příprava standardních kalibračních roztoků selenu

Pro stanovení obsahu selenu se používá externí kalibrace. Kalibrační standardy se připraví vhodným naředěním základního standardního roztoku selenu o koncentraci 1000 mg/l (5).

5 ml základního standardního roztoku selenu (5) se pipetuje do 50ml odměrné kalibrované skleněné baňky, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (2). Připravený pracovní roztok S1 obsahuje koncentraci selenu 100 mg/l.

Z takto připraveného pracovního roztoku S1 o koncentraci selenu 100 mg/l se do sady 100ml skleněných kalibrovaných odměrných baněk pipetuje (0; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0) ml, do každé baňky se přidá 1 ml kyseliny dusičné (1) a baňky se doplní po značku vodou (2). Stejným způsobem se připraví nulový kalibrační roztok o koncentraci selenu 0 mg/l bez pipetování pracovního roztoku S1. Připravené kalibrační roztoky obsahují koncentrace selenu (0; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0) mg/l.

Tabulka 1. Příprava standardních kalibračních roztoků selenu pro přípravu kalibrační křivky.

Koncentrace Se v kalibračních bodech (mg/l)	Pipetovaný objem (ml) pracovního roztoku S1 (100 mg/l) do 100ml odměrných baněk
0	0
0,2	0,2
0,5	0,5
1,0	1,0
5,0	5,0
10,0	10,0


Poznámky

3 *Počet standardních roztoků a rozsah kalibrační křivky lze upravit podle očekávaného obsahu selenu v minerálním krmivu.*

5.4 Měření metodou ICP-OES

Přístroj se nastaví podle doporučení výrobce. Pro každý přístroj je třeba optimalizovat zejména průtoky plynů, optimální výšku pozorování, výkon plazmy, výběr vhodné vlnové délky a odečet pozadí. Tyto parametry mohou významně ovlivnit míru možných interferencí při měření.

Obsah selenu se měří na vlnové délce atomové čáry 196,090 nm.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10282.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES	Revize	0

Tabulka 2. Podmínky měření pro simultánní ICP-OES spektrometr SpectroBlue (SPECTRO, Německo) s radiálním uspořádáním plazmatu - příklad nastavení.

Typ zmlžovače	Crossflow
Výkon plazmatu	1400 W
Průtok chladicího plynu Ar	14,50 l/min
Průtok pomocného plynu Ar	1 l/min
Průtok Ar ve zmlžovači	1 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	30 ot/min (rychlý mód 63 ot/min)
Promývací čas vzorku	40 s celkem (rychlý mód 10 s, normální mód 30 s)
Strategie integrace signálu	standard mode 3 × 36 s


Tabulka 3. Podmínky měření pro simultánní ICP-OES spektrometr Agilent 5100 s radiálním uspořádáním plazmatu - příklad nastavení.

Typ zmlžovače	Koncentrický zn. Meinhard
Výkon plazmatu	1200 W
Průtok chladicího plynu Ar	12 l/min
Průtok pomocného plynu Ar	1 l/min
Průtok Ar ve zmlžovači	0,7 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	12 ot/min (rychlý mód 80 ot/min)
Promývací čas vzorku	20 s celkem
Strategie integrace signálu	Radiál 3 × 5 s

ICP-OES spektrometr snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar a pozadí v jejich spektrálním okolí. Je potřeba nastavit polohu odečtu pozadí, které se řídí vzhledem samotného píku analytu a jeho okolí. Odečet píku analytu a jeho pozadí se upraví pro kalibrační standardní roztoky. Poté se vyladí pro reálné vzorky, u kterých bývá obvykle pík analytu významně ovlivněn maticí vzorku.

Po teplotní stabilizaci plazmatu se přístroj kalibruje s použitím připravené sady kalibračních standardů postupným měřením jednotlivých roztoků s rostoucí koncentrací selenu (5.3). Kalibrační křivka je zpravidla v celém koncentračním rozsahu lineární.

Mineralizáty vzorků se měří přímo bez ředění.

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10282.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES	Revize	0

6 Kontrola kvality

Série vzorků se skládá z měřených mineralizátů vzorků, interního referenčního materiálu (IRM) a slepého pokusu.

7 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentraci selenu v roztoku v mg/l vypočítá z kalibrační rovnice program v ovládacím SW přístroje. Koncentrace selenu ve vzorku X vyjádřená v mg/kg se vypočte podle vztahu

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

kde

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

C_V koncentrace selenu v mineralizátu vzorku v mg/l, odečtená z kalibračního grafu,

C_B koncentrace selenu v mg/l v roztoku slepého pokusu,

m hmotnost navážky vzorku v g,

V celkový objem roztoku v ml.