	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10290.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	2

STANOVENÍ OBSAHU SELENU METODOU ICP-MS

1 Rozsah a účel

Metoda specifikuje podmínky pro stanovení obsahu selenu v krmivech metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS).

2 Princip

Selen se stanoví v mineralizátu vzorku metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) za použití kolizní/reakční cely.


3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina dusičná, HNO₃, koncentrovaná, podvarově destilovaná.
- 2 Kyselina dusičná, HNO₃, c(HNO₃) = 5 %.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije 500 ml vody (5), přidá se 79 ml kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní po značku.
- 3 Peroxid vodíku, (H₂O₂), c(H₂O₂) = 30 %.
- 4 Kyselina sírová, H₂SO₄, koncentrovaná, 96%, ρ(H₂SO₄) = 1,84 g/ml.
- 5 Voda, ultračistá.
- 6 Standardní zásobní roztok selenu o koncentraci c = 1000 mg/l. Dodává se komerčně.
- 7 Standardní zásobní roztok vnitřního porovnávacího prvku (Te) o koncentraci c = 1000 mg/l. Dodává se komerčně.
- 8 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.
- 9 Helium, čistota 4.9.

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený kolizní/reakční celou.
- 2 Podvarové destilační zařízení, celoteflonové.
- 3 Zařízení pro přípravu ultračisté vody.
- 4 Zařízení pro mikrovlnný rozklad.
- 5 Laboratorní ultraodstředivý mlýn, síta o velikosti ok 0,3 mm nebo menšími, případně 0,5 mm.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10290.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	2

- 6 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 7 Mineralizační zařízení dvacetimístné se zpětnými vodními chladiči a programátorem teploty.
- 8 Automatické dávkovače (1 –10) ml.
- 9 Laboratorní sklo.
- 10 Plastové lahvičky, 50 ml nebo 100 ml.
- 11 Filtrační papír střední hustoty.
- 12 Plastové odměrné baňky se zátkami, 25 ml a 50 ml.
- 13 Automatické pipety (20 – 5000) µl.
- 14 Plastové zkumavky (10 – 15) ml.

Poznámky

1 *Plastové a skleněné odměrné baňky se naplní kyselinou dusičnou (2) nejméně 24 h před měřením. Před vlastní přípravou kalibračních roztoků se vypláchnou vodou (5). Plastové zkumavky se nejméně na 24 h ponoří do kyseliny dusičné (2), poté se opláchnou vodou (5), vysuší a uchovají se ve vzduchotěsných plastových boxech. Extrakty se ředí do suchých zkumavek.*

5 Postup

5.1 Příprava vzorku

Vzorek se umele na laboratorním mlýnku s použitím síta s velikostí ok 0,3 mm, popřípadě menšími. Pokud to charakter vzorku nedovoluje, použije se síto s velikostí ok 0,5 mm.

5.2 Mineralizace vzorku

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.2.1.


Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.2.2.

5.2.1 Mikrovlnný rozklad krmiv organického původu

Do rozkladné nádoby se naváží diferenčním způsobem 0,25-0,5 g vzorku s přesností 0,0001 g. Ke vzorku se přidá 8 ml kyseliny dusičné (1) a 2 ml peroxidu vodíku (3). Nádoba se uzavře a ponechá stát asi 20 min. Po uplynutí této doby se nádoba vloží do mikrovlnného zařízení. Rozklad probíhá ve čtyřech stupních podle následujícího teplotního programu (tabulka 1).

Tabulka 1. Příklad teplotního programu pro mikrovlnný rozklad.

Stupeň rozkladu	1.	2.	3.	4.
Maximální teplota rozkladu (°C)	150	190	100	100
Doba dosažení maximální teploty (min.)	5	5	2	2
Doba rozkladu (min.)	4	8	10	10

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10290.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	2

Po uplynutí doby mineralizace se nádobka vyjme z mineralizačního zařízení a nechá na vzduchu zchladit. Obsah nádobky se kvantitativně převede do 25ml odměrné baňky, po vytemperování se doplní po značku vodou (5) a promíchá. Mineralizát se přefiltruje přes papírový filtr do plastové lahvičky a uzavře se. Paralelně se provádí slepé stanovení.

Poznámky

2 *V případě, kdy konstrukční řešení mikrovlnného zařízení (velikost a materiál rozkladných nádobek) neumožňuje rozklad vzorků směsí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku (prudké vypěnění vzorku), lze rozklad provést bez přidavku peroxidu.*

5.2.2 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

Do mineralizační trubice se diferenčním způsobem naváží asi 2 g vzorku s přesností 0,0001 g. Do trubice se opatrně pomocí dávkovače přidá 10 ml kyseliny dusičné (1), ihned se umístí do mineralizačního bloku a nasadí se zpětný chladič. Takto se nechá stát do druhého dne. Druhý den se směs zahřívá pod zpětnými chladiči 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 (4). Směs se opět zahřívá pod zpětnými chladiči 60 min při teplotě 175 °C. Po ochlazení se po kapkách přidá 2 ml až 4 ml peroxidu vodíku (3) 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 (5) po značku a promíchá se.

5.3 Měření, příprava kalibračních roztoků a mineralizátů pro analýzu


5.3.1 Příprava kalibračních roztoků (Se)

Pro stanovení obsahu selenu se používá externí kalibrace s vnitřním porovnávacím prvkem. Směsné kalibrační standardy se připraví vhodným naředěním základního standardního roztoku (6).

Ze standardního roztoku (6) se do 50ml odměrné baňky pipetuje 50 µl, 1,0 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (5). Připravený roztok obsahuje 1 mg/l selenu. Z takto připraveného směsného roztoku se do 25ml plastových odměrných baněk pipetuje (25; 125; 250; 500; 2500) µl, přidá se 0,5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní po značku vodou (5). Takto připravené kalibrační roztoky obsahují (1,0; 5,0; 10; 20; 100) µg/l Se. Standard o koncentraci 0 µg/l se připraví stejným způsobem vyjma pipetování roztoku analytu. Do 25ml plastové odměrné baňky se pipetuje 0,5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se vodou (5) po značku.

5.3.2 Příprava roztoku vnitřního porovnávacího prvku

Ze základního certifikovaného standardního roztoku (7) se připraví roztok o koncentraci 10 mg/l. Do 50ml odměrné baňky se pipetuje 500 µl základního roztoku, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se vodou (5) po značku. Z tohoto roztoku se dalším ředěním

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10290.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	2

připraví roztok o koncentraci 100 µg/l: 2000 µl připraveného roztoku se pipetuje do 200ml odměrné baňky, přidají se 4 ml kyseliny dusičné (1), doplní se po značku vodou (5).

5.3.3 Příprava mineralizátů pro analýzu

Pro měření se mineralizáty ředí 5 ×, respektive 20 ×, do plastových zkumavek o objemu 10 ml až 15 ml. Pipetuje se 1000 µl (respektive 250 µl) extraktu a 4000 µl (respektive 4750 µl) vody (5). Extrakty se ředí vždy v den měření do suchých zkumavek.

5.3.4 Stanovení metodou ICP-MS

Ladění přístroje a naladění p/a faktoru se provede podle postupu doporučeného výrobcem. Měření probíhá v heliovém módu na izotopu Se(78). Jako vnitřní porovnávací prvek se používá Te(125). Během měření se zjištěné koncentrace u ředěných extraktů automaticky přepočítají na původní neředěné extrakty.

6 Kontrola kvality

S každou sérií vzorků se provede analýza interního referenčního materiálu (IRM). V každé sérii je třeba zařadit alespoň jeden slepý pokus.

7 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 je hodnota slepého pokusu vyšší než přípustná hodnota stanovená v průběhu validace metody, je třeba zjistit příčinu a odstranit ji. V tomto případě není možné vyhodnocení změřených vzorků, stejně jako v případě, že naměřená hodnota IRM neodpovídá požadovaným parametrům. Pokud jsou parametry slepého pokusu a IRM vyhovující, vypočte se výsledná koncentrace prvku ve vzorku po odečtení slepého pokusu podle následujícího vztahu

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

kde

X je obsah prvku vyjádřený v mg/kg,

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

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

m je hmotnost navážky vzorku v g,

V je celkový objem filtrátu nebo extraktu v l.