	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10310.1 – Stanovení obsahu molybdenu metodou ICP-MS	Revize	2

STANOVENÍ OBSAHU MOLYBDENU METODOU ICP-MS

1 Rozsah a účel

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

2 Princip

Molybden 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, HNO_3 , koncentrovaná, podvarově destilovaná.

2 Kyselina dusičná, HNO_3 , 5%.

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

3 Voda, ultračistá.

4 Kyselina dusičná, HNO_3 , $c(\text{HNO}_3) = 10 \text{ mol/l}$.

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije 200 ml vody (3), přidá se 692 ml kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní po značku.


5 Peroxid vodíku, H_2O_2 , $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 30 \%$.

6 Standardní zásobní roztok molybdenu o koncentraci $c = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně.

7 Standardní zásobní roztok vnitřního porovnávacího prvku (Ge) o koncentraci $c = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně.

8 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.

9 Helium čistoty 4.9.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10310.1 – Stanovení obsahu molybdenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	2

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 Topná deska s regulovatelnou teplotou.
- 5 Zařízení pro mikrovlnný rozklad.
- 6 Laboratorní ultraodstředivý mlýn, síta o velikosti ok 0,5 mm nebo méně.
- 7 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 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 (3). Plastové zkumavky se nejméně na 24 h ponoří do kyselině dusičné (2), poté se opláchnou vodou (3), vysuší a uchovají se ve vzduchotěsných plastových boxech. Extrakty se ředí do suchých zkumavek.*


5 Postup

5.1 Příprava vzorku

Vzorek se upraví za použití mlýnku, dokud není dosaženo velikosti částic 0,5 mm nebo méně. Používají se výhradně titanová síta.

5.2 Mineralizace vzorku

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.2.1.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10310.1 – Stanovení obsahu molybdenu metodou ICP-MS	Revize	2

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 (5). 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


Po uplynutí doby mineralizace se nádobka vyjme z mineralizačního zařízení a nechá na vzduchu zchladit. Obsah nádoby se kvantitativně převede do 25ml odměrné baňky, po vytemperování se doplní po značku vodou (3) 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 250ml kádinky se naváží 2 g vzorku s přesností 0,0001 g. Po stěnách kádinky se opatrně pomalu přidá 20 ml roztoku kyseliny dusičné (4), přikryje se hodinovým sklíčkem a ponechá stát tak dlouho, až ustane šumění. Poté se kádinka umístí na topnou desku a 1 min povaří. Po sejmutí z topné desky se nechá stát do druhého dne. Během této doby se několikrát opatrně krouživými pohyby promíchá. Druhý den se obsah kádinky včetně sedimentu kvantitativně převede do 100ml odměrné baňky, doplní po značku vodou (3) a promíchá. Přefiltruje se přes papírový filtr do plastové lahvičky a uzavře se. Stejným postupem se provede slepé stanovení.

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10310.1 – Stanovení obsahu molybdenu metodou ICP-MS	Revize	2

5.3 Měření, příprava kalibračních roztoků a mineralizátů pro analýzu

5.3.1 Příprava kalibračních roztoků (Mo)

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

50 µl standardního roztoku molybdenu (6) se pipetuje do 50ml odměrné baňky, přidá se 1,0 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (3). Připravený roztok obsahuje 1 mg/l molybdenu. Z takto připraveného roztoku se pipetuje (25; 125; 250; 500; 2500) µl do 25ml plastových odměrných baněk, přidá se 0,5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní po značku vodou (3). Takto připravené kalibrační roztoky obsahují (1,0; 5,0; 10; 20; 100) µg/l Mo. 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 (3).

5.3.2 Příprava směšného roztoku vnitřních porovnávacích prvků

Ze základního certifikovaného standardního roztoku (7) se připraví roztok o koncentraci 10 mg/l. Ze základního roztoku se pipetuje 500 µl do 50ml odměrné baňky, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní vodou (3) po značku. Z tohoto roztoku se dalším ředěním připraví roztok o koncentraci 500 µg/l: 10000 µl připraveného roztoku se pipetuje do 200ml odměrné baňky, přidají se 4 ml kyseliny dusičné (1), doplní se po značku vodou (3).

5.3.3 Příprava mineralizátů pro analýzu

Pro měření se mineralizáty ředí 5×, respektive 10×, do plastových zkumavek o objemu 10 ml až 15 ml. Pipetuje se 1000 µl (respektive 500 µl) extraktu a 4000 µl (respektive 4500 µl) vody (3). Extrakty se ředí vždy v den měření do suchých zkumavek. Vzorky je taktéž možné ředit přímo během měření, pokud to daný typ přístroje umožňuje a je ověřeno, že měření není zatíženo vysokými matričními interferencemi.


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 Mo(95). Jako vnitřní porovnávací prvek je použito Ge(72). 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

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10310.1 – Stanovení obsahu molybdenu metodou ICP-MS	Revize	2

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 vztahu

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

kde

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

C_V je koncentrace příslušného prvku v extraktu vzorku v $\mu\text{g/l}$, odečtená z kalibračního grafu,

C_B je koncentrace příslušného prvku v $\mu\text{g/l}$ v roztoku slepého pokusu,

m je hmotnost navážky vzorku v g,

V je celkový objem filtrátu nebo extraktu v l.