


| | | | |
|---|---|--------|---|
|  | Národní referenční laboratoř | Strana | 1 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

STANOVENÍ OBSAHU MĚDI, ŽELEZA, MANGANU A ZINKU METODOU ICP-OES

1 Rozsah a účel

Metoda je určena pro stanovení mikroprvků měď, železo, mangan a zinek a makroprvků vápník, fosfor, draslík, hořčík a sodík v krmivech metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

2 Princip


Vzorky krmiv se zpopelní a popel se rozpustí v kyselině chlorovodíkové anebo se vzorky přímo rozpustí v kyselině chlorovodíkové (minerální premixy).

Prvky se stanoví v mineralizátu vzorku metodou ICP-OES. Aerosol vzorku se proudem argonu přivede 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.

- 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) v 1000ml odměrné baňce se přidá 265 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 4 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok, $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 500 ml vody (1) v 1000ml odměrné baňce se přidá 27 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 5 Kyselina chlorovodíková, HCl, roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 400 ml vody (1) v 1000ml odměrné baňce se přidá 530 ml koncentrované HCl (2) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 6 Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
- 7 Základní roztoky prvků (Ca, P, K, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, Zn) o koncentraci 1000 mg/l.
- 8 Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , roztok 200 g/l.

| | | | |
|---|--|--------|---|
|  | Národní referenční laboratoř | Strana | 2 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

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 *Je možné používat i víceprvkové zásobní standardní roztoky s odpovídající specifikací uvádějící použitou kyselinu a techniku přípravy. Doporučuje se použít komerčně dostupné zásobní roztoky.*
- 3 *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 × vodou (1) a vysuší. Sklo se přechovává suché v uzavíratelných boxech.*

4 Přístroje


- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený pneumatikým zmlžovačem.
- 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 vaříč, 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 0,001g.

Poznámky

- 4 *Postup byl vypracován a ověřen na simultánním přístroji SPECTROBLUE (SPECTRO, Německo) v radiálním uspořádání.*
- 5 *Pro měření mineralizátů je vhodné použít zvlhčovač argonu, který zamezí zanášení zmlžovače vyloučenými solemi ze vzorků.*
- 6 *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.*

5 Postup mineralizace

Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.1.

| | | | |
|---|---|--------|---|
|  | Národní referenční laboratoř | Strana | 3 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.2.

Poznámky

- 7 *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 $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$. 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 (8), kelímeček se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 8).


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 $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ 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 (8), kelímeček se vysuší v sušárně při $103 ^\circ\text{C}$ do sucha, vloží znovu do muflové pece a při teplotě $(550 \pm 20) ^\circ\text{C}$ se spaluje ještě 1 hodinu (poznámka 8).

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 do 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

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

| | | | |
|--|--|--------|---|
|  Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský | Národní referenční laboratoř | Strana | 4 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

5.2 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

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.

6 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 vhodných referenčních materiálů, případně vzorků z mezilaboratorních porovnávacích zkoušek.

Následující podmínky měření jsou pouze možným příkladem nastavení ICP-OES spektrometru. Podmínky jsou uvedeny pro simultánní přístroj SPECTROBLUE firmy SPECTRO v radiálním uspořádání.

Tabulka 1. Příklad podmínek měření.

| | |
|----------------------------|---------------------------------------|
| Průtok plazmového plynu | 14,5 l/min |
| Průtok přidavného plynu | 1 l/min |
| Průtok zmlžovacího plynu | 1 l/min |
| Otáčky peristaltické pumpy | 30 ot/min měření, 63 ot/min. proplach |
| Čas měření | 5 s |

Vlnové délky a korekce pozadí:

| | | | |
|---|---|--------|---|
|  | Národní referenční laboratoř | Strana | 5 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

Spektrometr SPECTROBLUE snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar s měřením pozadí v jejich okolí.

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.

Tabulka 2. Doporučené vlnové délky.


| Prvek | Vlnová délka [nm] | Alternativní vlnová délka [nm] |
|-----------|----------------------|-----------------------------------|
| Měď Cu | 327,396 | - |
| Železo Fe | 259,941 | - |
| Mangan Mn | 257,611 | - |
| Zinek Zn | 213,856 | - |
| Vápník Ca | 422,673 | 317,933 |
| Draslík K | 769,896 | 766,491 |
| Hořčík Mg | 285,213 | - |
| Sodík Na | 589,592 | - |
| Fosfor P | 214,914 | 177,495 |

6.2 Kalibrace

Pro stanovení obsahu prvků se provádí kalibrace pomocí kalibračních roztoků, které se připraví vhodným ředěním základních standardních roztoků (7).

6.2.1 Kalibrační standardní roztoky

Připravují se směsné kalibrační standardní roztoky pro všechny prvky stanovované tímto postupem. Přehled kalibračních standardních roztoků a koncentrací pro jednotlivé prvky uvádí tabulka 3.


| | | | | |
|--|--|--|--------|---|
|  Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský | Národní referenční laboratoř | | Strana | 6 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | | Vydání | 1 |
| | | | Revize | 3 |

Tabulka 3. Přehled standardních kalibračních roztoků (mg/l).

| Prvek/Standard | STDHIGH | STD2 | STD1 | STDLOW |
|----------------|---------|------|------|--------|
| Měď Cu | 5 | 2,5 | 1 | 0 |
| Železo Fe | 20 | 10 | 4 | 0 |
| Mangan Mn | 10 | 5 | 2 | 0 |
| Zinek Zn | 10 | 5 | 2 | 0 |
| Vápník Ca | 200 | 100 | 40 | 0 |
| Draslík K | 200 | 100 | 40 | 0 |
| Hořčík Mg | 100 | 50 | 20 | 0 |
| Sodík Na | 40 | 20 | 8 | 0 |
| Fosfor P | 200 | 100 | 40 | 0 |

6.2.2 Příprava kalibračních standardních roztoků

STDHIGH: Ze základních standardních roztoků o obsahu 1000 mg/l (7) se pipetují do 500ml odměrné baňky objemy podle tabulky 4. Odměrná baňka se doplní roztokem kyseliny chlorovodíkové (4).

| | | | |
|---|---|--------|---|
|  | Národní referenční laboratoř | Strana | 7 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

Tabulka 4. Objemy základních standardních roztoků (7) pipetované pro přípravu STDHIGH.

| Prvek | Pipetovaný objem (ml) |
|-----------|-----------------------|
| Měď Cu | 2,5 |
| Železo Fe | 10 |
| Mangan Mn | 5 |
| Zinek Zn | 5 |
| Vápník Ca | 100 |
| Draslík K | 100 |
| Hořčík Mg | 50 |
| Sodík Na | 20 |
| Fosfor P | 100 |

STD2: 50 ml standardního roztoku STDHIGH se pipetuje do 100ml odměrné baňky a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4).

STD1: 20 ml standardního roztoku STDHIGH se pipetuje do 100ml odměrné baňky a doplní se roztokem kyseliny chlorovodíkové $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (4).


STDLOW: Kyselina chlorovodíková $c(\text{HCl}) = 0,3 \text{ mol/l}$ (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

Měření vzorků se provádí 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.

| | | | |
|--|--|--------|---|
|  Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský | Národní referenční laboratoř | Strana | 8 |
| | Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10320.1 – Stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku metodou ICP-OES | Vydání | 1 |
| | | Revize | 3 |

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

$$X = (C_V - C_B) \times V \times F \times 1000/m$$

kde

X obsah prvku (mg/kg),

C_V koncentrace příslušného prvku v extraktu vzorku (mg/l), odečtená z kalibračního grafu,

C_B koncentrace příslušného prvku (mg/l) v roztoku slepého pokusu,

m hmotnost navážky vzorku (g),

F faktor ředění,

V celkový objem filtrátu nebo extraktu (l).

9 Literatura

- 1 EN 15510 Krmiva – Stanovení vápníku, sodíku, fosforu, hořčíku, draslíku, železa, zinku, mědi, manganu, kobaltu, molybdenu, arsenu, olova a kadmia metodou ICP-AES. Rok vydání 2011.