	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10412.1 – Stanovení obsahu niklu metodou ICP-MS	Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU NIKLU METODOU ICP-MS

1 Rozsah a účel

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


2 Princip

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

3 Chemikálie

Pokud není uvedeno jinak, používají se chemikálie analytické čistoty, bez přítomnosti stanovovaných látek.

- 1 Kyselina dusičná, HNO₃, koncentrovaná, podvarově destilovaná.
- 2 Voda (ultračistá), čistota podle ČSN ISO 3696.
- 3 Kyselina dusičná, HNO₃, c(HNO₃) = 10 mol/l.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 200 ml vody (2), přidá se opatrně 692 ml kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní po značku.
- 4 Kyselina dusičná, HNO₃ 5% (v/v), pro dekontaminaci skleněného, teflonového a plastového nádobí.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se nalije asi 500 ml vody (2), přidá se 79 ml koncentrované kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní po značku.
- 5 Peroxid vodíku, H₂O₂, c(H₂O₂) = 30 %.
- 6 Základní standardní roztok niklu o koncentraci c = 1000 mg/l. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce, např. Analytika s.r.o. Praha.
- 7 Základní standardní roztok vnitřního porovnávacího prvku (In) o koncentraci c = 1000 mg/l. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce, např. Analytika s.r.o. Praha.
- 8 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.
- 9 Helium, čistota 5.0

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10412.1 – Stanovení obsahu niklu metodou ICP-MS	Revize	1

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 a méně.
- 7 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 8 Automatické dávkovače (1 – 10) ml.
- 9 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 zředěnou kyselinou dusičnou (4) nejméně 24 h před měřením. Před vlastní přípravou kalibračních roztoků se vypláchnou vodou (2). Plastové zkumavky se nejméně na 24 h ponoří do kyseliny dusičné (4), poté se důkladně opláchnou vodou (2) a vysuší. Uchovávají 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.

Při přípravě vzorku je nutno zabránit v maximální možné míře kontaminaci vzorku niklem. Proto nelze používat nože a síta z nerezové oceli. Doporučují se titanová síta a nože.

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

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10412.1 – Stanovení obsahu niklu metodou ICP-MS	Revize	1

5.2.1 Mikrovlnný rozklad krmiv organického původu

Do rozkladné nádobky 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 se stát asi 20 min. Po uplynutí této doby se nádoba vloží do mikrovlnného zařízení. Rozklad probíhá ve čtyřech stupních podle teplotního programu, který uvádí 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 se na vzduchu zchladit. Po ochlazení se obsah nádobky kvantitativně převede do 25ml odměrné baňky, po vytemperování se doplní po značku vodou (2) a promíchá. Mineralizát se přefiltruje přes papírový filtr do plastové lahvičky. První část filtrátu se odstraní. Lahvička s filtrátem se uzavře. Paralelně se provádí slepé stanovení.


Poznámky

- Uvedený postup byl optimalizován pro rozkladné zařízení MWS-3 Speedwave firmy Berghof, Německo. Lze použít i jiné mikrovlnné rozkladné zařízení a postup optimalizovat podle pokynů výrobce tohoto zařízení.*
- 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 přídavku 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 (3), přikryje se hodinovým sklíčkem a ponechá se stát tak dlouho, až ustane šumění. Poté se kádinka umístí na topnou desku, obsah se přivede k varu a 1 min se 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 (2) 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
	10412.1 – Stanovení obsahu niklu metodou ICP-MS	Revize	1

5.3 Měření, příprava kalibračních roztoků a mineralizátů pro analýzu

5.3.1 Příprava standardních kalibračních roztoků niklu

Pro stanovení obsahu Ni se používá externí kalibrace s vnitřním porovnávacím prvkem. Kalibrační standardy se připraví vhodným naředěním základního standardního roztoku Ni o koncentraci 1000 mg/l (6).

Připraví se pracovní roztok niklu o koncentraci 1 mg/l. 50 µl základního standardního roztoku niklu (6) se pipetuje do 50ml odměrné plastové baňky, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (2).

Do sady 25ml plastových odměrných baněk se pipetuje (25; 125; 250; 500; 2500) µl pracovního roztoku. Do každé baňky se přidá 0,5 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (2).

Připravené kalibrační roztoky obsahují nikl v koncentracích (1; 5; 10; 20; 100) µg/l. Nulový kalibrační roztok o koncentraci 0 µg/l niklu se připraví stejným způsobem bez pipetování roztoku analytu, tedy do 25ml plastové odměrné baňky se pipetuje 0,5 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) a baňka se doplní vodou (2) po značku.

5.3.2 Příprava roztoku vnitřního porovnávacího prvku (In)

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 se vodou (2) 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 (2).

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 (2). 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

Přístroj a p/a faktor pro detektor se naladí podle postupu, který doporučuje výrobce přístroje. Měření probíhá v heliovém kolizním módu na izotopu Ni(60). Jako vnitřní porovnávací prvek se používá In(115). Měření se provádí formou externí kalibrace.

6 Kontrola kvality

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

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10412.1 – Stanovení obsahu niklu metodou ICP-MS	Revize	1

7 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentrace analytu v roztoku zkušební vzorku a v roztoku slepého pokusu se vypočtou z kalibrační rovnice. Tento výpočet poskytuje 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 Ni –vyjádřený v mg/kg,
 C_V je koncentrace Ni v extraktu vzorku v $\mu\text{g/l}$, odečtená z kalibračního grafu,
 C_B je koncentrace Ni 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.