	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

STANOVENÍ OBSAHU ARSENU METODOU ICP-MS

1 Rozsah a účel

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

2 Princip

Arsen 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 , $c(\text{HNO}_3) = 5 \%$.
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 Peroxid vodíku, H_2O_2 , $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 30 \%$.
- 5 Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná, $c(\text{HCl}) = 35 \%$, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 6 Standardní zásobní roztok arsenu o koncentraci $c(\text{As}) = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně.
- 7 Standardní zásobní roztok vnitřního porovnávacího prvku (Te) o koncentraci $c(\text{Te}) = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně.
- 8 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.
- 9 Helium, čistoty 5.0

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.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

- 4 Zařízení pro mikrovlnný rozklad.
- 5 Laboratorní ultraodstředivý mlýn, síta o velikosti ok 0,5 mm.
- 6 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 7 Mineralizační zařízení se zpětnými vodními chladiči a programátorem teploty.
- 8 Automatické dávkovače (1 –10) ml.
- 9 Laboratorní sklo (mineralizační trubice se zábrusem, odměrné baňky, nálevky).
- 10 Filtrační papír střední hustoty.
- 11 Plastové odměrné baňky se zátkami, 25 ml a 50 ml.
- 12 Automatické pipety (20 – 5000) µl.
- 13 Plastové zkumavky (10 – 15) ml.

Poznámky

- 1 *Plastové a skleněné odměrné baňky jsou naplněny kyselinou dusičnou (2) nejméně 24 h před měřením. Před vlastní přípravou kalibračních roztoků jsou vypláchnuty vodou (3). Plastové zkumavky jsou nejméně 24 h ponořeny v kyselině dusičné (2), poté opláchnuty vodou (3), vysušeny a uchovávány 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.


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 (4). 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).

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

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 nádobky 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 Mineralizace krmiv minerálního původu na mokré cestě


Do tuby se naváží 3 g vzorku. Dávkovačem se přidá 7 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a 21 ml kyseliny dusičné (1). Tuba se umístí do mineralizačního bloku a nasadí se zpětný chladič. Zahřívá se 1 h při 250 °C. Po vychladnutí se obsah tuby převede kvantitativně do 100ml odměrné baňky a doplní se vodou (3) po značku. Zfiltruje se přes filtrační papír do plastových nádobek.

5.3 Měření, příprava kalibračních roztoků a mineralizátů pro analýzu

5.3.1 Příprava kalibračních roztoků (As)

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

50 µl standardního roztoku (6) se pipetuje do 50ml plastové odměrné baňky, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (3). Připravený roztok obsahuje 1 mg/l arsenu. Z takto připraveného směšného roztoku se pipetuje (25; 125; 250; 500; 2500) µl do sady 25ml plastových odměrných baněk, přidá se 0,5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (3). Takto připravené kalibrační roztoky obsahují (1; 5; 10; 20; 100) µg/l As. Standard o koncentraci 0 µg/l se připraví stejným způsobem vyjma pipetování roztoku analytu, tzn. do 25ml plastové odměrné baňky se pipetuje 0,5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se vodou (3).

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

5.3.2 Příprava roztoku vnitřního porovnávacího prvku (Te)

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 (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 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 (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 As(75). Jako vnitřní porovnávací prvek se používá Te(125). Během měření jsou zjištěné koncentrace u ředěných extraktů automaticky přepočítávány na původní neředěné extrakty.


As se měří metodou ICP-MS pouze jako monoizotopický prvek na hmotě As(75). Při měření za použití kolizně-reakční cely s kolizním plynem He je nutné měřit v připravených mineralizátech vzorků také koncentraci významných interferentů. V případě As se jedná zejména o izotopy prvků vzácných zemin Nd(146), Sm(147) a společný izotop Nd, Sm(150). Uvedené prvky způsobují velmi silné interference dvojnásobně nabitých iontů Nd²⁺ a Sm²⁺, které se v hmotnostním spektru projeví jako interferent na hmotě As(150/75).

Doporučený postup měření As je významný zejména u minerálních krmných surovin, především krmných fosfátů, které mohou obsahovat vysoké koncentrace prvků vzácných zemin (REEs).

V případě vyšších obsahů těchto interferentů v mineralizátech vzorků je třeba postupovat podle doporučení uvedených v poznámkách 3 až 6.

Poznámky

- Pokud mineralizované vzorky obsahují prvky vzácných zemin (Nd, Sm, případně Eu) v koncentracích v řádu stovek µg/l, obsahy As v koncentracích jednotek µg/l budou zatíženy značným nárůstem falešně pozitivní koncentrace. Relativní abundance interferujících prvků na hmotě 150 je pro Sm 7,38 % a pro Nd 5,6 %, v případě vysokého obsahu Eu by mohlo dojít k rušení ze sousední hmoty 151 Eu²⁺ (47,81 %).*
- Kolizní cely je vhodný způsob odstranění polyatomických interferencí (ArCl⁺, CaCl⁺) na hmotě As(75). Interferující dvojnásobně nabití ionty však mají tu nevýhodu, že je není možné odstranit v kolizním módu s použitím He ani v reakčním módu s použitím H₂. K účinnému odstranění interferencí poslouží jedině kyslíkový reakční mód s posunem na produktový iont reakce AsO⁺(91), tzv. „mass shift mode“ společně*

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

s měřením v MS/MS modu, který zajistí dokonalé odstranění jiných interferujících iontů na hmotě 91.

- 5 Pokud je dostupná instrumentace ICP-MS pouze s jednoduchým kvadrupólem, je možné interference řešit zavedením korekční rovnice na As. Korekční rovnici je nutné stanovit v den analýzy pro aktuální instrumentální nastavení a obvykle dobře funguje, pokud obsah prvků vzácných zemin (REEs) není ve vzorku příliš vysoký (korekční rovnice selhává již při obsahu Nd asi 100 ppb v mineralizátu vzorku).
- 6 Stanovení korekční rovnice se provádí s čistými jednoprvkovými roztoky interferentů. Připraví se sada asi 3 čistých roztoků Nd a sada asi 3 čistých roztoků Sm v 2 % (v/v) HNO₃ o koncentracích (0; 10; 100; 500) µg/l. Tyto roztoky se proměří a pro každý roztok se zjistí odezva signálu na hmotě 75. Z poměru signálů v jednotkách cps na hmotách 75/150 se vypočítá pro každý čistý standard na dané koncentrační hladině faktor. Vypočítá se průměrná hodnota faktoru, která se vloží ve tvaru interferenční rovnice do metody. Pokud v rovnici mají být zahrnuty oba interferenty, stanoví se samostatně faktor např. pro Nd(150) a samostatně pro Sm(150). Příspěvek Sm se pak dopočítá z izotopového poměru přírodního zastoupení Sm(150)/Sm(147)=0,49, tj. 7,38%/14,99%. Výsledkem je hodnota faktoru Sm(150) × 0,49. Vliv Sm bývá obvykle podstatně nižší a není nezbytně nutné jej vždy do korekční rovnice zahrnovat. Vzor interferenční rovnice pro As, která se vloží do metody měření, lze uvést jako: 75:[75] × 1 – [150] × faktor pro Nd – [147] × faktor pro příspěvek Sm (viz výše).

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

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

	Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10440.1 – Stanovení obsahu arsenu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	3

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.