	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10472.1 – Stanovení obsahu kobaltu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU KOBALTU METODOU ICP-MS

1 Rozsah a účel

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


2 Princip

Obsah kobaltu se stanoví v mineralizátu (extraktu) 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 asi 500 ml vody (3), přidá se 79 ml koncentrované kyseliny dusičné (1). Po vytemperování se doplní vodou (3) po značku a promíchá.
- 3 Voda (ultračistá).
- 4 Peroxid vodíku, H_2O_2 , $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 30 \%$.
- 5 Základní standardní roztok kobaltu (Co), $c = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce.
- 6 Základní standardní roztok vnitřního porovnávacího prvku (In), $c = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce.
- 7 Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná, 35%, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 8 Kyselina chlorovodíková, HCl , roztok $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 600 ml vody (3) v 1000ml odměrné baňce se přidá 265 ml koncentrované HCl (7) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 9 Kyselina chlorovodíková, HCl , roztok $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: K asi 400 ml vody (3) v 1000ml odměrné baňce se přidá 530 ml koncentrované HCl (7) a po ochlazení se doplní do 1 litru.
- 10 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.
- 11 Helium, čistota 5.0.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10472.1 – Stanovení obsahu kobaltu metodou ICP-MS	Vydání	1
		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 mikrovlnný rozklad.
- 4 Zařízení pro přípravu ultračisté vody.
- 5 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 6 Automatické dávkovače, (1 – 10) ml.
- 7 Platinová, křemenná nebo porcelánová miska nebo kelímek.
- 8 Muflová pec s automatickou regulací teploty pro rozsahy teplot do 650 °C.
- 9 Elektrický vařič nebo topná deska.
- 10 Plastové lahvičky, 50 ml nebo 100 ml.
- 11 Filtrační papír střední hustoty.
- 12 Automatické pipety, (20 – 5000) µl.
- 13 Plastové zkumavky, (10 – 15) ml.
- 14 Plastové odměrné baňky, (25 – 50) ml.

Poznámky

- 1 *Veškeré skleněné i plastové nádobí se po umytí na 24 h naplní zředěnou kyselinou dusičnou (2). Poté se vypláchne vodou (3) a volně usuší. Takto vyčištěné nádobí se uchovává v uzavřených plastových boxech.*

5 Postup

5.1 Mineralizace vzorku


Pokud vzorek obsahuje organickou hmotu, postupuje se podle 5.1.1 nebo 5.1.2.

Vzorek minerálního původu, který neobsahuje žádnou nebo téměř žádnou organickou hmotu, se zpracovává podle 5.1.3.

5.1.1 Mikrovlnný rozklad krmiv organického původu

Pro rozklad mohou být použity různé mikrovlnné systémy. Postup rozkladu se optimalizuje podle pokynů výrobce tohoto zařízení.

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 se stát asi 20 min. Poté se nádoba vloží do mikrovlnného zařízení. Rozklad probíhá ve čtyřech stupních podle teplotního programu, který uvádí tabulka 1.

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10472.1 – Stanovení obsahu kobaltu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	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 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 bez navážky vzorku.

Poznámky

- 2 *Uvedený postup byl optimalizován pro rozkladné zařízení MWS-3 Speedwave, firmy Berghof, Německo.*
- 3 *V případě, kdy konstrukční řešení mikrovlnného zařízení (velikost a materiál rozkladných nádobek) neumožňuje rozklad vzorků směsi kyseliny dusičné a peroxidu vodíku (prudké vypěnění vzorku), lze rozklad provést bez přídavku peroxidu.*

5.1.2 Rozklad krmiv organického původu na suché cestě


Do spalovacího kelímku se odváží 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně 0,001 g. Kelímek se umístí na topnou desku nebo na vařič a obsah kelímku se pozvolna zpopelní. Potom se kelímek se zuhelnatělým vzorkem vloží do muflové pece a spaluje se 3 h při (550 ± 20) °C. Po uplynutí této doby se kelímek vyjme, nechá zchladit v exsíkátoru a spálený vzorek se vizuálně posoudí na přítomnost uhlíkatých částic. Jsou-li ještě přítomny, spaluje se za výše uvedených podmínek ještě 1 h.

Po ochlazení se popel opatrně zvlhčí několika kapkami vody a pomocí kyseliny chlorovodíkové (8) se kvantitativně převede do 250ml kádinky. Celkové množství roztoku kyseliny chlorovodíkové nemá být vyšší než 75 ml. Kádinka se přikryje krycím sklíčkem, umístí na topnou desku nebo na vařič a 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 (3). Filtrát v odměrné baňce se vytemperuje, doplní vodou (3) po značku a promíchá. Paralelně se provádí slepé stanovení bez navážky vzorku.

5.1.3 Rozklad krmiv minerálního původu na mokré cestě

Do 250ml kádinky se naváží 1 g až 5 g zkušební vzorku s přesností nejméně na 0,001 g. Opatrně se po částech přidá 100 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové (9) (možný vývoj oxidu uhličitého). Kádinka se přiklopí hodinovým sklíčkem a 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 (3). Filtrát v odměrné baňce

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10472.1 – Stanovení obsahu kobaltu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	1

se vytemperuje, doplní vodou (3) po značku a promíchá. Paralelně se provádí slepé stanovení bez navážky vzorku.

5.2 Měření, příprava kalibračních roztoků a mineralizátů pro analýzu

5.2.1 Příprava kalibračních roztoků (Co)

Pro stanovení obsahu kobaltu se používá externí kalibrace s vnitřním porovnávacím prvkem. Kalibrační standardy se připraví vhodným naředěním základního standardního roztoku Co (5) o koncentraci 1000 mg/l.

50 µl standardního roztoku (5) se pipetuje do 50ml plastové odměrné baňky, přidá se 1,0 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (3). Připravený roztok obsahuje 1 mg/l Co. 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 se po značku vodou (3). Takto připravené kalibrační roztoky obsahují (1; 5; 10; 20; 100) µg/l Co. Nulový kalibrační bod-standard o koncentraci 0 µg/l Co se připraví stejným způsobem bez pipetování roztoku analytu, tj. pipetuje se 0,5 ml kyseliny dusičné (1) do 25ml plastové odměrné baňky a doplní se vodou (3) po značku.

Poznámky

4 *Uvedený postup přípravy kalibračních standardů je platný pro postup mineralizace 5.1.1 v HNO₃ s H₂O₂ s využitím mikrovlnného rozkladného zařízení. Ve standardních kalibračních roztocích je třeba vždy modelovat koncentrace kyselin tak, aby byly shodné s jejich koncentracemi ve zmineralizovaných vzorcích a odpovídaly i použité míře ředění vzorku před měřením.*

5.2.2 Příprava roztoku vnitřního porovnávacího prvku (In)


Ze základního standardního roztoku india o koncentraci 1000 mg/l (6) se připraví roztok o koncentraci 1000 µg/l. Do 250ml odměrné baňky se pipetuje 250 µl základního standardního roztoku (6), přidá se 5 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se vodou (3) po značku.

5.2.3 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.

5.2.4 Stanovení kobaltu metodou ICP-MS

Ladění přístroje a naladění p/a faktoru se řídí postupem, který doporučuje výrobce. Měření probíhá v heliovém kolizním módu na izotopu Co (59). Jako vnitřní porovnávací prvek se používá In (115). Během měření jsou zjištěné koncentrace u ředěných extraktů automaticky přepočítávány na původní neředěné extrakty.

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv 10472.1 – Stanovení obsahu kobaltu metodou ICP-MS	Vydání	1
		Revize	1

6 Kontrola kvality

S každou sérií vzorků se analyzuje interní referenční materiál (IRM). V každé sérii je třeba zařadit alespoň jeden slepý pokus.

7 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentrace kobaltu v roztoku zkušební vzorku a v roztoku slepého pokusu se vypočtou z kalibrační rovnice. Výpočet vyhodnocuje program v ovládacím SW přístroje.

Koncentrace kobaltu ve vzorku X vyjádřená v mg/kg se vypočte podle vztahu

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

kde

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

C_V je koncentrace Co v mineralizátu vzorku v $\mu\text{g/l}$, odečtená z kalibračního grafu,

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

m je hmotnost navážky vzorku v g,

V je celkový objem mineralizátu v l.