CH 1.5

Stanovenie antimónu hydridovou technikou AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie antimónu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Mineralizát vzorky sa upraví na generovanie hydridov, vzniknutý SbH_3 sa termicky rozloží a antimón sa meria na atómovom absorpčnom spektrometri.

3. Pomôcky

3.1. Prístroje a zariadenia

- atómový adsorpčný spektrometer SpectrAA 220FS (Varian)
- generátor hydridových pár VGA 76 (Varian)

3.2. Chemikálie a roztoky

- bórhydrid sodný, 0,6% roztok v 0,5% roztoku NaOH
- 10% roztok jodidu draselného
- 20% roztok močoviny
- kyseliny dusičná, ANALPURE.65%
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková
- deionizovaná voda
- koncentrovaná kyselina sírová
- peroxid vodíka (30%)
- kyselina chlorovodíková o koncentrácii 10mol/l
- štandardný roztok antimónu (c=1g/l)
- kalibračné štandardné roztoky antimónu o koncentráciách: 2, 5, 10, 15 $ng.ml^{-1}$, ktoré sa pripravia vhodným riedením štandardného roztoku antimónu tak, že k alikvotnému objemu štandardného roztoku sa pridajú 4 ml HCl (10mol/l) a 8ml 10% roztoku KI do 50ml odmernej banky a roztoky sa doplnia po značku deionizovanou vodou.

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1. Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho

teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko, sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), p.a., (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

Z roztoku mineralizátu vzorky sa odpipetuje 10 ml vzorky do 25 ml odmernej banky. K tomuto objemu sa pridajú 3 ml 20% roztoku močoviny a roztok sa nechá stáť aspoň 30 minút. Potom sa k roztoku pridajú 2,5 ml 10 mol/l roztoku HCl a 4,5 ml 10% roztoku KI. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou. Takto upravený mineralizát vzorky je pripravená na meranie.

5.2. Príprava merania

Roztoky antimónu

Roztok antimónu o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku antimónu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok antimónu o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku antimónu o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok antimónu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}**: Z roztoku antimónu o koncentrácii 5μg.ml^{-1} sa odpipetuje 1ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Z roztoku antimónu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pripravia nasledovné pracovné štandardy(tabuľka č.2), ktoré sa použijú na meranie:

Tabuľka č.2

koncentrácia pracovného štandardu **(ng.ml^{-1})**	odpipetovaný objem z rotoku o koncentrácii 50ng.ml^{-1} **(ml)**	objem odmernej banky **(ml)**	objem koncentrovanej HCl **(ml)**	objem KI **(ml)**
0 - blank	0	100	8	20
2	2	50	4	10
5	5	50	4	10
10	10	50	4	10
15	15	50	4	10

K odpipetovanému objemu roztoku antimónu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pridá množstvo HCl a KI uvedené podľa tabuľky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Príprava pomocných roztokov:

-20% roztok močoviny - 100g močoviny sa rozpustí v 400 ml deionizovanej vody, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

-10% roztok jodidu draselného KI - 50g KI a 5g kyseliny askorbovej sa rozpustí v troche deionizovanej vody, pridá sa 40ml koncentrovanej HCl a doplní sa do 500ml deionizovanou vodou, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

-0,6% roztok tetraboritanu sodného BH_4Na - 1,5g BH_4Na a 1,25g hydroxidu sodného NaOH sa rozpustí a doplní deionizovanou vodou na objem 250ml, uchováva sa v chladničke.

-10 M roztok kyseliny chlorovodíkovej HCl - k 80ml deionizovanej vody sa pridá 420ml koncentrovanej HCl, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

Upravený mineralizát vzorky sa čerpá zariadením VGA 76 spolu s roztokom bórhydridu sodného a kyselinou chlorovodíkovou. Vzniknutý SbH_3 sa vedie prúdom inertného plynu (Ar) do kremennej kyvety, ktorá je ohrievaná plameňom acetylén - vzduch. Prístroj sa kalibruje uvedenými kalibračnými roztokmi.

Kalibračná krivka 2,00 μl/l
5,00 μl/l
10,00 μl/l
15,00 μl/l

6. Vyhodnotenie

Vyhodnotenie výsledkov sa prevádza metódou kalibračnej krivky. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3. Ak koncentrácia antimónu vo vzorke prekročí rozsah kalibračnej krivky, roztok sa vhodne riedi roztokom 1mol/l HCl.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie antimónu

Instrument mode	Absorbance
Calibration mode	Concentration
Measurement mode	Integration
Lamp current	10 mA
Slit width	0,2 nm
Slit height	Normal
Wavelength	217,6 nm
Flame	air – acetylene
Sample introduction	Manual
Delay time	45 s
Time constant	0,05 s
Measurement time	5,0 s
Replicates	3
Background correction	on

Koncentrácia antimónu v upravenom mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia antimónu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah antimónu v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

Weltz, Sperling: Atomic Absorption Spectrometry, 1999

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str.12

CH 1.5

Stanovenie arzénu hydridovou technikou AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie arzénu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Mineralizát vzorky sa upraví na generovanie hydridov, vzniknutý arzenovodík sa termicky rozloží a arzén sa meria na atómovom absorpčnom spektrometri.

3. Pomôcky

3.1 Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer SpectrAA 220FS (Varian)
- generátor hydridových pár VGA 76 (Varian)

3.2 Chemikálie a roztoky

- bórhydrid sodný, 0,6% roztok v 0,5% roztoku NaOH
- 10% roztok jodidu draselného
- 20% roztok močoviny
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková
- deionizovaná voda
- koncentrovaná kyselina sírová
- peroxid vodíka (30%)
- kyselina chlorovodíková o koncentrácii 10 mol/l
- štandardný roztok arzénu (c=1 g/l)
- kalibračné štandardné roztoky arzénu o koncentráciách: 2, 5, 10, 15 $ng.ml^{-1}$, ktoré sa pripravia vhodným riedením štandardného roztoku arzénu tak, že k alikvotnému objemu štandardného roztoku sa pridajú 4 ml HCl (10mol/l) a 8 ml 10% roztoku KI do 50 ml odmernej banky a roztoky sa doplnia po značku deionizovanou vodou.

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1.Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po

dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko, sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

Z roztoku mineralizátu vzorky (okrem vzoriek rýb, rybích múčiek a kuracích pŕs) sa odpipetuje 10 ml vzorky do 25 ml odmernej banky. K tomuto objemu sa pridajú 3 ml 20% roztoku močoviny a roztok sa nechá stáť aspoň 30 minút. Potom sa k roztoku pridajú 2,5 ml 10 mol/l roztoku HCl a 4,5 ml 10% roztoku KI. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou. Takto upravená vzorka sa nechá stáť najmenej 1 hodinu, najviac však 24 hodín.

Mineralizáty vzoriek rýb, rybích múčiek a kuracích pŕs sa najskôr spracujú v prístroji Digesdahl. Podľa predpokladaného obsahu arzénu sa z mineralizátu odpipetuje 2 a 5 ml do

špeciálnej odbernej banky a pridá sa 4 ml koncentrovanej H_2SO_4 a položí na vyhriaty varič. Roztok sa zahrieva do refluxu (cca 460°C), ktorý sa udržuje 2-3 minúty. Po ochladení na cca 350°C, sa pridá 10 ml H_2O_2 a opäť sa zahrieva do refluxu, ktorý sa udržuje 5 minút. Studený roztok sa kvantitatívne prenesie do 25 ml odmernej banky, kde sa k nemu pridajú ostatné reagenty.

5.2 Príprava merania

Roztoky arzénu

Roztok arzénu o koncentrácii **50µg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku arzénu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok arzénu o koncentrácii **5µg.ml^{-1}**: Z roztoku arzénu o koncentrácii 50µg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok arzénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}**: Z roztoku arzénu o koncentrácii 5µg.ml^{-1} sa odpipetuje 1ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Z roztoku arzénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pripravia nasledovné pracovné štandardy (tabuľka 2), ktoré sa použijú na meranie:

Tabuľka 2:

koncentrácia pracovného štandardu **(ng.ml^{-1})**	odpipetovaný objem z roztoku o koncentrácii 50ng.ml^{-1} **(ml)**	objem odmernej banky **(ml)**	objem koncentrovanej HCl **(ml)**	objem KI **(ml)**
0 - blank	0	100	8	20
2	2	50	4	10
5	5	50	4	10
10	20	100	8	20
15	15	50	4	10

K odpipetovanému objemu roztoku arzénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pridá množstvo HCl a KI uvedené podľa tabuľky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Príprava pomocných roztokov:

-20% roztok močoviny - 100g močoviny sa rozpustí v 400 ml deionizovanej vody, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

-10% roztok jodidu draselného KI - 50g KI a 5g kyseliny askorbovej sa rozpustí v troche deionizovanej vody, pridá sa 40ml koncentrovanej HCl a doplní sa do 500ml deionizovanou vodou, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

-0,6% roztok tetraboritanu sodného BH_4Na - 1,5g BH_4Na a 1,25g hydroxidu sodného NaOH sa rozpustí a doplní deionizovanou vodou na objem 250ml, uchováva sa v chladničke.

-10 M roztok kyseliny chlorovodíkovej HCl - k 80ml deionizovanej vody sa pridá 420ml koncentrovanej HCl, uchováva sa pri laboratórnej teplote.

Upravený mineralizát vzorky sa čerpá zariadením VGA 76 spolu s roztokom bórhydridu sodného a kyselinou chlorovodíkovou. Vzniknutý arzenovodík sa vedie prúdom inertného plynu (Ar) do kremennej kyvety, ktorá je ohrievaná plameňom acetylén - vzduch. Prístroj sa kalibruje uvedenými kalibračnými roztokmi.

Kalibračná krivka: 2,00 µl/l
5,00 µl/l
10,00 µl/l
15,00 µl/l

6. Vyhodnotenie

Vyhodnotenie výsledkov sa prevádza metódou kalibračnej krivky. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3. Ak koncentrácia arzénu vo vzorke prekročí rozsah kalibračnej krivky, roztok sa vhodne riedi roztokom 1 mol/l HCl.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie arzénu

Instrument mode	Absorbance
Calibration mode	Concentration
Measurement mode	Integration
Lamp current	10 mA
Slit width	0,5 nm
Slit height	Normal
Wavelength	193,7 nm
Flame	air – acetylene
Sample introduction	Manual
Delay time	45 s
Time constant	0,05 s
Measurement time	3,0 s
Replicates	3
Background correction	On

Koncentrácia arzénu v upravenom mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia arzénu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah arzénu v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str 16

Analytical Method for Flame Spectroscopy, Varian, Australia 1989, str. 8

Digesdahl Digestion Aparatus, Earth Resources, U.S.A. 1995-1997

CH 1.5.
Stanovenie arzénu metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometria je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia špeciálna ultra As lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie arzénu v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1. atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /220 , grafitová piecka GTA 110 Varian , Ultra AA lamp control module Varian.
3.2. automatický dávkovač – sample dispenser
3.3. grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4. polyetylénové nádobky
3.5. laboratórne sklo
3.6. nosný plyn argón 4.6
3.7. chladiace zariadenie
3.8. mineralizátor vzoriek
3.9. analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1. certifikovaný referenčný materiál arzénu :1,0000 g/l As v 4% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok arzénu :1,0000 mg/l As
4.3. kalibračný štandardný roztok arzénu : 0,0500 mg/l As
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytica
4.5. modifikačný roztok $Pd(NO_3)_2$ fy Merck - 500 - 2000 mg/l, pripravený zo základného roztoku Pd o koncentrácii 10 g/l $Pd(NO_3)_2$ / HNO_3 , zmiešaný s 1% kyselinou ascorbovou v pomere 1:1
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - Mixér - Bosch
- Laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/ 200ml vody sa odparí v kadičke a po odparení na malé množstvo sa zaleje 10ml kyseliny dusičnej a zmineralizuje pod spätným chladičom.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman 220

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,0500 mg/l As, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu :

1. štandard o koncentrácii : 0,0050 mg/l As
2. 0,0100 mg/l As
3. 0,0150 mg/l As

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní arzénu je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah arzénu v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{As} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia arzénu vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/
C_{As} - koncentrácia arzénu odčítaná z kalibračnej čiary / mg/l/
C_{Sl} – koncentrácia arzénu slepého pokusu
R - príslušné riedenie
N - navážka vzorky /g/
V - objem vzorky /ml/

10. POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 38,44,56,113
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
4. Metódy AOAC - Ch 9 (2 - 3), 986.15F/238
5. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.1b/16, 1990
6. Amedis – Aplikačné listy – Varian
7. STN EN ISO 15586 – Kvalita vody, stanovenie stopových prvkov atómovou absorpčnou spektrometriou s grafitovou pieckou
8. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody, Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
9. ST EN ISO 5667-3 Kvalita vody. Odber vzoriek
   Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi
10. STN EN ISO 5667 –5 – Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman 220 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : instrument parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN 220 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectraAA - Zeeman 220 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 110 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

5. Počítač

6. Otvoríme prívod argónu

7. Zapneme chladiace zariadenie

8. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku ZEEMAN

9. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From stlačíme na príslušný dátum 2-krát ľavým tlačítkom na myši. Do Name Worksheet napíšeme príslušný dátum , stlačíme Ok.

10. Do LABELS napíšeme čísla meraných vzoriek

11. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Instrument vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

12. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a prevedieme optimalizáciu lampy, stlačíme OK.
13. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
14. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Instrument Mode	:	Absorbance
Sampling Mode	:	Autonormal
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Expansion Factor	:	1,0
Minimum Reading	:	Disabled
Smoothing	:	5 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	193.7 nm
Slit Width	:	0.5 nm
Gain	:	71 %
Lamp current	:	10.0 mA
Lamp Position	:	2
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0050 mg/l
Standard 2	:	0,0100 mg/l
Standard 3	:	0,0150 mg/l
Reslope Rate	:	15
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	120,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational

Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	30 µl
Sample Volume	:	20 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,050 mg/l
Bulk Vial No.	:	51
Makeup Vial No.	:	52
Modif 1 Mode	:	Co Inject
Modif 1 Vol	:	10µl
Co Last Dry Step	:	2

1.1.1 FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	3.0	Normal	No
2	95	40.0	3.0	Normal	No
3	120	10.0	3.0	Normal	No
4	1400	5.0	2.0	Normal	No
5	1400	1.0	2.0	Normal	No
6	1400	2.0	0.0	Normal	No
7	2600	0.6	0.0	Normal	Yes
8	2600	2.0	0.0	Normal	Yes
9	2600	2.0	3.0	Normal	Yes

1.1.2 STANDARDS

1. standard	0,0050 mg/l
2. standard	0,0100 mg/l
3. standard	0,0150 mg/l

Reslope Stand. No : 3

1.1.3 SAMPLER VOLUMES /µl/

	SOLUTION	BLANK	BULK
BLANK		20	0
STANDARD 1	0,0050 mg/l	18	2
STANDARD 2	0,0100 mg/l	16	4
STANDARD 3	0,0150 mg/l	14	6
SAMPLE	20		10
	RECALIBRATION RATE		15

RESLOPE RATE 0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie cínu metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie cínu v potravinách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Cín sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou podľa doporučených podmienok pre stanovenie cínu touto metódou.

3. Pomôcky

3.1. Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2. Chemikálie a roztoky

- štandardný roztok cínu o koncentrácii 1,0 g/l
- kalibračný štandard cínu o koncentrácii 100 $ng.ml^{-1}$, ktorý sa pripraví vhodným riedením štandardného roztoku cínu v 0,5% roztoku kyseliny dusičnej
- kyselina dusičná, ANALPURE, 0,5% roztok
- kyselina chlorovodíková, ANALPURE
- modifikačný roztok paládia o koncentrácii 1g/l
- modifikačný roztok - kyselina askorbová, 1% roztok
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1. Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko, sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), ANALPURE, (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Roztok cínu o koncentrácii 100ng/ml

Zo základného roztoku cínu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 25µl do 250ml odmernej banky, pridá sa 1ml koncentrovanej HCl a 1ml koncentrovanej HNO_3 a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Modifikačné roztoky:

-paládium 1g/l - uchováva sa v chladničke

-1% roztok kyseliny askorbovej - 1g kyseliny askorbovej sa rozpustí a doplní do 100ml odmernej banky deionizovanou vodou, uchováva sa pri laboratórnej teplote, maximálne po dobu 14 dní.

Kalibračný roztok cínu, modifikačné roztoky a deionizovaná voda sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa uložia na príslušné miesta do karusela autosamplera. Z týchto roztokov sa automaticky pripravia kalibračné roztoky podľa tabuľky 2. Kalibračné roztoky ako aj mineralizát vzorky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia štandardu ($ng.ml^{-1}$)	Objem kalibračného štandardu (µl)	Objem deionizovanej vody (µl)	Objem modifikačných roztokov (µl) Pd	kys.as.
Blank	0,00	0,0	20,0	5,0	5,0
1. štandard	20,00	4,0	16,0	5,0	5,0
2. štandard	40,00	8,0	12,0	5,0	5,0
3. štandard	60,00	12,0	8,0	5,0	5,0
Mineralizát vzorky	x	20,0µl vzorky	0,0	5,0	5,0

6. Vyhodnotenie

Meria sa závislosť absorbancie jednotlivých vzoriek, pri podmienkach uvedených v tabuľke 3, v závislosti od ich koncentrácie. Koncentrácia cínu v mineralizáte vzorky je určená automaticky prístrojom. Ak koncentrácia cínu v mineralizáte vzorky prekročí rozsah kalibračnej krivky, roztok sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Koncentrácia mineralizátu vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia cínu v mineralizáte vzorky prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah cínu v $mg.kg^{-1}$.

Tabuľka 3: Parametre merania pre stanovenie cínu

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	7 mA
Slit Width	0,5 nm
Slit height	normal
Wavelength	235,5 nm
Sample introduction	sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	on
Ash temperature	800 °C
Atomize temperature	2600 - 2700 °C

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 93

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Austalia 1988, str. 193

CH 1.5.
Stanovenie cínu metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometra je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia katódová lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

2.POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie cínu v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály a krmivách konzervovaných v kovových obaloch.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1. atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /240 , grafitová piecka GTA 120 Varian .
3.2. automatický dávkovač – sample dispenser PSD 120
3.3. grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4. polyetylénové nádobky
3.5. laboratórne sklo
3.6. nosný plyn argón 4.6
3.7. chladiace zariadenie
3.8. mineralizátor vzoriek
3.9. analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1.certifikovaný referenčný materiál cínu :1,0000 g/l Sn v 20 % HCl Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok cínu : 1,0000 mg/l Sn
4.3. kalibračný štandardný roztok cínu : 0,2500 mg/l Sn
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytica
4.5. modifikačný roztok $Pd(NO_3)_2$ fy Merck - 500 - 2000 mg/l, pripravený zo základného roztoku Pd o koncentrácii 10 g/l $Pd(NO_3)_2$ / HNO_3 , zmiešaný s 1% kyselinou ascorbovou v pomere 1:1
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000
5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman /240

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,250 mg/l Sn, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu :

1. štandard o koncentrácii : 0,0500 mg/l Sn
2. 0,1000 mg/l Sn
3. 0,2000 mg/l Sn

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní cínu je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah cínu v požívatinách, krmivách je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg.
Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Sn} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia cínu vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/
C_{Sn} - koncentrácia cínu odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/
C_{Sl} - koncentrácia cínu slepého pokusu /mg/l/
R - príslušné riedenie
N - navážka vzorky /g/
V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 99,27,54,107,95,10,59
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
4. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.3,b str.20 r.1990
5. Amedis – Aplikačné listy – Varian

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman/ 240 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN/ 240 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectrAA - Zeeman/ 240 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 120 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

6. Počítač

7. Otvoríme prívod argónu

8. Zapneme chladiace zariadenie

9. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku SpectrAA

10. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From Worksheet, vyberieme príslušný dátum. Do Name napíšeme aktuálny dátum , stlačíme Ok.

11. Do Sample Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

12. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Analysis vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

13. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a vyberieme príslušnú lampu , stlačíme OK.
14. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
15. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Instrument Mode	:	Absorbance
Sampling Mode	:	Automix
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Smoothing	:	7 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	286.3 nm
Slit Width	:	0.5 nm
Gain	:	58 %
Lamp current	:	7.0 mA
Lamp Position	:	2
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0500 mg/l Sn
Standard 2	:	0,1000 mg/l Sn
Standard 3		0.2000 mg/l Sn
Reslope Rate	:	0
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	125,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational
Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	15 µl
Sample Volume	:	10 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,2500 mg/l
Bulk position	:	51
Makeup position	:	52
Modif 1 Vol	:	5 µl

FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	0.3	Normal	No
2	95	40.0	0.3	Normal	No
3	120	10.0	0.3	Normal	No
4	700	5.0	0.3	Normal	No
5	700	1.0	0.3	Normal	No
6	700	2.0	0.0	Normal	No
7	2600	1.0	0.0	Normal	Yes
8	2600	2.0	0.0	Normal	Yes
9	2600	2.0	0.3	Normal	Yes

STANDARDS

1. standard 0,0500 mg/l Sn
2. standard 0,1000 mg/l Sn
3. standard 0.2000 mg/l Sn

Reslope Stand. No : 3

SAMPLER VOLUMES /µl/

	SOLUTION	BLANK	BULK
BLANK		10	0
STANDARD 1	0,0500 mg/l	8	2
STANDARD 2	0,1000 mg/l	6	4
STANDARD 3	0,2000 mg/l	2	8
SAMPLE	10		5

RECALIBRATION RATE 15
RESLOPE RATE 0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie hliníka metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie hliníka vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Hliník sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou podľa doporučených parametrov pre stanovenie hliníka touto metódou.

3. Pomôcky

3.1. Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2 Chemikálie a roztoky

- štandardný roztok hliníka o koncentrácii 1g/l
- kalibračný štandard hliníka o koncentrácii 50ng.ml^{-1}, ktorý sa pripraví riedením štandardného roztoku hliníka 0,5% roztokom kyseliny dusičnej
- kyselina dusičná, ANALPURE, 0,5% roztok
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1.Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Roztoky hliníka

Roztok hliníka o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku hliníka o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok hliníka o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku hliníka o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok hliníka o koncentrácii **50ng.ml^{-1}**: Z roztoku hliníka o koncentrácii 5μg.ml^{-1} sa odpipetuje 1ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Kalibračný štandard hliníka a deionizovaná voda sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa umiestnia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené. Z kalibračného štandardu sa postupným riedením s deionizovanou vodou postupne pripravia kalibračné roztoky hliníka podľa tabuľky 2. Kalibračné roztoky ako aj roztok mineralizátu vzorky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia roztoku ($ng.ml^{-1}$)	Objem kalibračného štandardu (µl)	Objem deionizovanej vody (µl)
Blank	0,00	0,0	20,0
1. štandard	10,00	4,0	16,0
2. štandard	20,00	8,0	12,0
3.štandard	30,00	12,0	8,0
Mineralizát vzorky	x	20µl min. vzorky	0,0

6. Vyhodnotenie

Meria sa závislosť absorbancie jednotlivých roztokov pri podmienkach uvedených v tabuľke 3, v závislosti od ich koncentrácie. Z kalibračnej krivky sa určí koncentrácia hliníka v mineralizáte vzorky. Ak koncentrácia hliníka prekročí rozsah kalibračnej krivky, roztok sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Koncentrácia hliníka v mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia hliníka prepočíta po zadaní navážky a objemu na obsah hliníka v $mg.kg^{-1}$.

Tabuľka 3: Parametre merania pre stanovenie hliníka

Instrument mode	Absorbance
Calibration mode	Concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	7 mA
Slit width	0,5 nm
Slit height	Normal
Wavelength	396,2 nm
Sample introduction	Sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	On
Ash temperature	1000 °C
Atomize temperature	2600 °C

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodných i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

Analytical Method for Grafite Tube Atomizers, Varian Australia 1988, str 38

CH 1.5

Stanovenie chrómu metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie chrómu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Chróm sa stanoví metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou podľa doporučených podmienok pre stanovenie chrómu touto metódou.

3. Pomôcky

3.1. Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2. Chemikálie a roztoky

- zmesný štandard (viď príprava zmesného štandardu)
- deionizovaná voda
- kyselina dusičná ANALPURE, 65%
- kyselina chlorovodíková ANALPURE

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1. Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Zmesný štandard obsahuje nasledovné prvky: olovo, kadmium, meď, chróm a nikel. Pripravuje sa postupným riedením štandardných roztokov jednotlivých prvkov.

Roztok chrómu o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku chrómu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok chrómu o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku chrómu o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Zmesný štandard a deionizovaná voda sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa uložia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené. Zo zmesného štandardu (obsah chrómu v zmesnom štandarde je 50ng.ml^{-1}) sa postupným riedením pripravia kalibračné roztoky podľa tabuľky 2.

Tieto roztoky ako aj mineralizát vzorky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia roztoku (ng.ml^{-1})	Objem zmesného štandardu (µl)	Objem deionizovanej vody (µl)
Blank	0,00	0,0	20,0
1. štandard	5,00	2,0	18,0
2. štandard	10,00	4,0	16,0
3. štandard	20,00	8,0	12,0
Mineralizát vzorky	x	20µl miner. vzorky	0,0

6. Vyhodnotenie

Meria sa absorbancia jednotlivých roztokov v závislosti od ich koncentrácie pri podmienkach uvedených v tabuľke 3. Ak koncentrácia chrómu v mineralizáte vzorky prekročí rozsah kalibračnej krivky, mineralizát vzorky sa vhodne riedi deionizovanou vodou.

Koncentrácia chrómu v mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia chrómu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah chrómu v mg.kg^{-1}.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie chrómu

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measuement mode	peak height
Lamp current	7 mA
Slit width	0,2 nm
Slit height	reduced
Wavelength	357,9 nm
Samle introduction	sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	off
Ash temperature	1100 °C
Atomize temperature	2500 °C

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SP)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

STN EN 14083(560077) Poživatiny. Stanovenie stopových prvkov. Stanovenie olova, kadmia, chrómu a molybdénu atómovou absorpčnou spektrometriou v grafitovej kyvete po mineralizácii za zvýšeného tlaku.

Veterinárne laboratórne metodiky, VII.b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 31

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Austalia 1988, str. 43

CH.1.5.
Stanovenie chrómu metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometria je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia katódová lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie chrómu v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /220 , grafitová piecka GTA 110 Varian , Ultra AA lamp control module Varian.
3.2. automatický dávkovač – sample dispenser
3.3. grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4. polyetylénové nádobky
3.5. laboratórne sklo
3.6. nosný plyn argón 4.6
3.7.chladiace zariadenie
3.8.mineralizátor vzoriek
3.9.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1.certifikovaný referenčný materiál chrómu :1,0000 g/l Cr v 2% HCl Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2.zásobný štandardný roztok chrómu : 1,0000 mg/l Cr
4.3.kalibračný štandardný roztok chrómu : 0,0500 mg/l Cr
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytica
4.5. modifikačný roztok $Pd(NO_3)_2$ fy Merck - 500 - 2000 mg/l, pripravený zo základného roztoku Pd o koncentrácii 10 g/l $Pd(NO_3)_2$ / HNO_3 , zmiešaný s 1% kyselinou ascorbovou v pomere 1:1
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - Mixér - Bosch
- Laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/ 200ml vody sa odparí v kadičke a po odparení na malé množstvo sa zaleje 10ml kyseliny dusičnej a zmineralizuje pod spätným chladičom.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman 220

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,0500 mg/l Cr, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu :

1. štandard o koncentrácii : 0,0063 mg/l Cr
2. 0,0125 mg/l Cr
3. 0,0250 mg/l Cr
4. 0,0500 mg/l Cr

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní chrómu je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah chrómu v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Cr} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia chrómu vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/

C_{Cr} - koncentrácia chrómu odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/

C_{Sl} - koncentrácia chrómu slepého pokusu /mg/l/

R - príslušné riedenie

N - navážka vzorky /g/

V - objem vzorky /ml/

10. POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 17,69.
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
5. Metódy AOAC - Ch 11 (16 - 17),
6. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.6,b str.31 r.1990
7. Amedis – Aplikačné listy – Varian
8. STN EN ISO 15586 Kvalita vody. Stanovenie stopových prvkov atómovou absorpčnou spektrometriou s grafitovou kyvetou
9. STN EN 15586 Kvalita vody. Stanovenie chrómu. Metódy atómovej absorpčnej spektrometrie.
10. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody, Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
11. ST EN ISO 5667-3Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
12. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman 220 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : instrument parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN 220 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectraAA - Zeeman 220 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 110 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

5. Počítač

6. Otvoríme prívod argónu

7. Zapneme chladiace zariadenie

8. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku ZEEMAN

9. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From stlačíme na príslušný dátum 2-krát ľavým tlačítkom na myši. Do Name Worksheet napíšeme príslušný dátum , stlačíme Ok.

10. Do LABELS napíšeme čísla meraných vzoriek

11. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Instrument vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

12. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a prevedieme optimalizáciu lampy, stlačíme OK.
13. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
14. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Instrument:		Absorbance
Sampling Mode	:	Autonormal
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Expansion Factor	:	1.0
Minimum Reading	:	Disabled
Smoothing	:	5 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	357.9 nm
Slit Width	:	0.5 nm
Gain	:	46 %
Lamp current	:	7.0 mA
Lamp Position	:	4
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0063 mg/l
Standard 2	:	0,0125 mg/l
Standard 3	:	0,0250 mg/l
Standard 4		0.0500 mg/l

Reslope Rate	:	15
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	120,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational
Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	10 µl
Sample Volume	:	8 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,0500 mg/l
Bulk Vial No.	:	51
Makeup Vial No.	:	52
Modif 1 Mode	:	Co Inject
Modif 1 Vol	:	2 µl
Co Last Dry Step	:	2

FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	3.0	Normal	No
2	95	40.0	3.0	Normal	No
3	120	10.0	3.0	Normal	No
4	250	5.0	3.0	Normal	No
5	250	1.0	2.0	Normal	No
6	250	2.0	0.0	Normal	No
7	1800	0.8	0.0	Normal	Yes
8	1800	2.0	0.0	Normal	Yes
9	1800	2.0	3.0	Normal	Yes

STANDARDS

1. standard	0,0063 mg/l
2. standard	0,0125 mg/l
3. standard	0,0250 mg/l
4. standard	0.0500 mg/l

Reslope Stand. No : 3

SAMPLER VOLUMES /µl/

SOLUTION	BLANK	BULK
BLANK	8	0

STANDARD 1	0,0063 mg/l	7	1
STANDARD 2	0,0125 mg/l	6	2
STANDARD 3	0,0250 mg/l	4	4
STANDARD 4	0.0500 mg/l	0	8

SAMPLE 8 2

RECALIBRATION RATE 15
RESLOPE RATE 0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie kadmia metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie kadmia vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Kadmium sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou ETA-AAS podľa doporučených a experimentálne overených podmienok pre stanovenie kadmia.

3. Pomôcky

3.1.Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2.Chemikálie a roztoky

- zmesný štandard (viď príprava zmesného štandardu)
- modifikačný roztok: dihydrogenfosforečnan amónny (NH_4)H_2PO_4 - 1% roztok
- kyseliny dusičná, ANALPURE, 65%
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1.Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Zmesný štandard obsahuje nasledovné prvky: olovo, kadmium, meď, chróm a nikel. Pripravuje sa postupným riedením štandardných roztokov jednotlivých prvkov.

Roztoky kadmia

Roztok kadmia o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku kadmia o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok kadmia o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku kadmia o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok kadmia o koncentrácii **0,5μg.ml^{-1}**: Z roztoku kadmia o koncentrácii 5μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Zmesný štandard:

Do 100ml odmernej banky sa odpipetuje:

- 1ml štandardného roztoku olova o koncentrácii 5μg.ml^{-1}

- 1ml štandardného roztoku kadmia o koncentrácii 0,5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku medi o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku chrómu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku niklu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}

Zmes roztokov sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

V zmesnom štandarde sú koncentrácie jednotlivých prvkov nasledovné:
- 50ng.ml^{-1} olova
- 5ng.ml^{-1} kadmia
- 50ng.ml^{-1} medi
- 50ng.ml^{-1} chrómu
- 50ng.ml^{-1} niklu

Modifikačný roztok: dihydrogénfosforečnan amónny $(NH_4)H_2PO_4$ - 1% roztok 5g $(NH_4)H_2PO_4$ sa rozpustí v deionizovanej vode a doplní sa na objem 500 ml. Uchováva sa pri laboratórnej teplote.

Zmesný štandard, deionizovaná voda a modifikačný roztok sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa umiestnia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené. Zo zmesného štandardu (koncentrácia kadmia v zmesnom štandarde je 5 ng.ml^{-1}) sa postupným riedením pripravia kalibračné roztoky v zadaní sampler automixing podľa tabuľky 2. Tieto roztoky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety pomocou automatického dávkovača.

Meria sa absorbancia jednotlivých roztokov v závislosti od ich koncentrácie. Mineralizát vzorky sa aplikuje do pyrolytickej grafitovej kyvety pri rovnakých podmienkach ako kalibračné roztoky.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia štandardu (ng.ml^{-1})	Objem zmesného štandardu (μl)	Objem deionizovanej vody (μl)	Objem modifikačného roztoku (μl)
Blank	0,000	0,0	20,0	5,0
1. štandard	0,500	2,0	18,0	5,0
2. štandard	1,000	4,0	16,0	5,0
3. štandard	2,000	8,0	12,0	5,0
Mineralizát vzorky	x	20μl vzorky	0,0	5,0

6. Vyhodnotenie

Koncentrácia kadmia je automaticky určená prístrojom z kalibračnej krivky. Ak koncentrácia kadmia prekročí rozsah kalibračnej krivky, vzorka sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie kadmia

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	4 mA
Slit width	0,5 nm
Slit height	normal
Wavelength	228,8 nm
Sample introduction	sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	on
Ash temperature	600 °C
Atomize temperature	2200 °C

Koncentrácia kadmia v mineralizáte vzorky je udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia kadmia prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah kadmia v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

STN EN 14083(560077) Poživatiny. Stanovenie stopových prvkov. Stanovenie olova, kadmia, chrómu a molybdénu atómovou absorpčnou spektrometriou v grafitovej kyvete po mineralizácii za zvýšeného tlaku.

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 44

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Austalia 1988, str. 49

CH 1.5.
Stanovenie kadmia metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometria je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia katódová lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie kadmia v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /240 , grafitová piecka GTA 120 Varian .
3.2.automatický dávkovač – sample dispenser PSD 120
3.3.grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4.polyetylénové nádobky
3.5 laboratórne sklo
3.6.nosný plyn argón 4.6
3.7.chladiace zariadenie
3.8.mineralizátor vzoriek
3.9.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1. certifikovaný referenčný materiál kadmia :1,0000 g/l Cd v 2% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok kadmia : 1,0000 mg/l Cd
4.3. kalibračný štandardný roztok kadmia : 0,0050 mg/l Cd
4.4. kyselina dusičná 65 % Analpur SD Analytika
4.5. dihydrogénfosforečnan amónny 1 %. /99,99 Suprapur/ Merck
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/ 200ml vody sa odparí v kadičke a po odparení na malé množstvo sa zaleje 10ml kyseliny dusičnej a zmineralizuje pod spätným chladičom.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman /240

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,0050 mg/l Cd, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu

1. štandard o koncentrácii : 0,0006 mg/l Cd
2. 0,0012 mg/l Cd
3. 0,0025 mg/l Cd
4. 0,0050 mg/l Cd

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní kadmia je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah kadmia v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Cd} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia kadmia vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/

C_{Cd} - koncentrácia kadmia odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/

C_{Sl} - koncentrácia kadmia slepého pokusu /mg/l/

R - príslušné riedenie

N - navážka vzorky /g/

V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 52/1985
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
4. Metódy AOAC – Ch 9 /16 – 23/
5. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.8c str.44 Bratislava 1990
6. Amedis – Aplikačné listy – Varian
7. STN EN ISO 5961 /75 7437/ Kvalita vody. Stanovenie kadmia atómovou absorpčnou spektrometriou
8. STN ISO 8288 75 7443 Kvalita vody. Stanovenie kobaltu, niklu, medi zinku, kadmia a olova. Metódy plameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie.
9. STN EN ISO 15586 Kvalita vody. Stanovenie stopových prvkov atómovou absorpčnou spektrometriou s grafitovou kyvetou
10. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody. Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
11. ST EN ISO 5667-3 Kvalita vody Odber vzoriek
    Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
12. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman/ 240 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN/ 240 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectrAA - Zeeman/ 240 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 120 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

5. Počítač

6. Otvoríme prívod argónu

7. Zapneme chladiace zariadenie

8. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku SpectrAA

9. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From Worksheet, vyberieme príslušný dátum. Do Name napíšeme aktuálny dátum , stlačíme Ok.

10. Do Sample Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

11. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Analysis vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

12. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a vyberieme príslušnú lampu , stlačíme OK.
13. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
14. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Mode	:	Absorbance Instrument
Sampling Mode	:	Automix
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Smoothing	:	5 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	228.8 nm
Slit Width	:	0.5 nm
Gain	:	43 %
Lamp current	:	4.0 mA
Lamp Position	:	2
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0006 mg/l
Standard 2	:	0,0012 mg/l
Standard 3		0.0025 mg/l
Standard 4		0.0050 mg/l
Reslope Rate	:	0
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	125,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational

Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	10 µl
Sample Volume	:	8 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,0050 mg/l
Bulk position	:	51
Makeup position	:	52
Modif 1 Vol	:	2 µl

FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	0.3	Normal	No
2	95	40.0	0.3	Normal	No
3	120	10.0	0.3	Normal	No
4	250	5.0	0.3	Normal	No
5	250	1.0	0.3	Normal	No
6	250	2.0	0.0	Normal	No
7	1800	0.8	0.0	Normal	Yes
8	1800	2.0	0.0	Normal	Yes
9	1800	2.0	0.3	Normal	Yes

STANDARDS

1. standard	0,0006 mg/l	Cd
2. standard	0,0012 mg/l	Cd
3. standard	0.0025 mg/l	Cd
4. standard	0,0050 mg/l	Cd

Reslope Stand. No : 3

SAMPLER VOLUMES /µl/

	METHOD CONC	**BLANK**	**BULK**
CAL ZERO	0,0000	8	0
STANDARD 1	0,0006 mg/l	7	1
STANDARD 2	0,0012 mg/l	6	2
STANDARD 3	0,0025 mg/l	4	4
STANDARD 4	0,0050 mg/l	0	8

SAMPLE	**8**	**MODIF**	**2**

RECALIBRATION RATE 15
RESLOPE RATE 0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie kobaltu metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie kobaltu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Kobalt sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou ETA-AAS podľa doporučených a experimentálne overených podmienok pre stanovenie kobaltu

3. Pomôcky

3.1.Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2.Chemikálie a roztoky

- štandard (viď príprava štandardu)
- kyselina dusičná, ANALPURE,65%
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1.Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Roztoky kobaltu

Roztok kobaltu o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku kobaltu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok kobaltu o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku kobaltu o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok kobaltu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}**: Z roztoku kobaltu o koncentrácii 5μg.ml^{-1} sa odpipetuje 1ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Štandard a deionizovaná voda (blank) sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa umiestnia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené.

Zo štandardu (koncentrácia kobaltu v štandarde je 50 $ng.ml^{-1}$) sa postupným riedením pripravia kalibračné roztoky v zadaní sampler automixing podľa tabuľky 2. Tieto roztoky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety pomocou automatického dávkovača.

Meria sa absorbancia jednotlivých roztokov v závislosti od ich koncentrácie. Mineralizát vzorky sa aplikuje do pyrolytickej grafitovej kyvety pri rovnakých podmienkach ako kalibračné roztoky.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia štandardu ($ng.ml^{-1}$)	Objem zmesného štandardu (µl)	Objem deionizovanej vody (µl)
Blank	0,00	0,0	20,0
1. štandard	5,00	2,0	18,0
2. štandard	10,00	4,0	16,0
3. štandard	20,00	8,0	12,0
4.štandard	30,00	12,0	8,0
Mineralizát vzorky	x	20µl vzorky	0,0

6. Vyhodnotenie

Koncentrácia kobaltu je automaticky určená prístrojom z kalibračnej krivky. Ak koncentrácia kobaltu prekročí rozsah kalibračnej krivky, vzorka sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie kobaltu

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	7 mA
Slit width	0,2 nm
Slit height	normal
Wavelength	242,5 nm
Sample introduction	sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	on

Ash temperature	750 °C
Atomize temperature	2300 °C

Koncentrácia kobaltu v mineralizáte vzorky je udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia kobaltu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah kobaltu v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Austalia 1988, str. 43

CH 1.5.
Stanovenie medi metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Meď sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou plameňovej absorpčnej spektrometrie. Metóda je založená na rozprašovaní roztoku mineralizátu vzorky v acetylén-vzduchovom plameni. Drobné kvapôčky aerosolu sa v plameni vyparia, rozložia a atomizujú termodisociačnými a termickými procesmi. Prvky prítomné v mineralizáte sa v plameni dostanú do vzbudeného stavu a hodnota absorbancie pri danej vlnovej dĺžke odpovedajúca rezonančnej čiare je úmerná koncentrácii v analyzovanej vzorke.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie medi v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA 240FS
3.2.laboratórne sklo
3.3.nosný plyn acetylén
3.4.kompresor na vzduch
3.5.mineralizátor vzoriek
3.6.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1. certifikovaný referenčný materiál medi :1,0000 g/l Cu v 2% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok medi : 1,0000 mg/l Cu
4.3 . kalibračné štandardné roztoky medi sa pripravia riedením zo zásobného štandardného roztoku o koncentrácii: 0,25000 0,5000 1,0000 3,0000 mg/l Cu.
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytika
4.5. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne

5.1. homogenizácia
- mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia
- 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000
- 5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod

spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/

.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA 240FS

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa denne vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov.. Po každej desiatej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Z kalibračných štandardných roztokov zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu

1. štandard o koncentrácii 0,2500 mg/l Cu
2. štandard 0,5000 mg/l Cu
3. štandard 1,0000 mg/l Cu
4. štandard 3,0000 mg/l Cu

Kalibračné štandardy a vzorky sa aplikujú do plameňa manuálne.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2 Pri meraní medi nie je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu. Merania sa vykonávajú pri bežnej izbovej teplote .

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah medi v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Cu} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia medi vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/

C_{Cu} - koncentrácia medi odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/

C_{Sl} - koncentrácia medi slepého pokusu /mg/l/

R - príslušné riedenie

N - navážka vzorky /g/

V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Firemná literatúra Analytical methods Varian - Varian instrument at work

2. STN ISO 8288 (757443) –Kvalita vody. Stanovenie kobaltu, niklu, zinku, medi, kadmia a olova. Metódy plameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie.
3. Veterinárne laboratórne metodiky VII b/1.3.11 b/56, 1990 Chémia potravín Bratislava 1990
4. AOAC Ch 9 /2-3, 16-22/
5. STN EN ISO 6869Krmivo pre zvieratá. Stanovenie obsahu vápnika, medi, železa, horčíka, mangánu, draslíka, sodíka a zinku. Metóda atómovej absorpčnej spektrometrie.
6. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody. Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
7. ST EN ISO 5667-3 Kvalita vody Odber vzoriek. Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
8. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek. Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA 240FS – Varian
č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA 240FS- Varian

1. Zapneme prístroj SpectraAA 240FS - do pozície I. Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Monitor

3. Tlačiareň

4. Otvoríme prívod acetylénu, zapneme kompresor na vzduch

5. Počítač

6. Filing Load Worksheet , New from – vyberieme príslušný dátum.

7. Do Name napíšeme aktuálny dátum – stlačíme OK.

8. V Select vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať.

9. Do Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

10. V Optimize vyberieme príslušnú lampu. Po nahriatí lampy cca 5min. stlačíme Optimize Lamps a Optimize Signál, Inst Zero, OK.

11. Zapneme horák , necháme nahriať horák asi 1min. Stlačíme Štart.

č.2., ODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Element	Cu
Instrument Type	Flame
Instrument Mode	Absorbance
Calibration Mode	Concentration
Measurement Mode	Integration
Samling Mode	Manual
Lamp Position	3
Lamp Current	4.0
Slit Width	0,5
Wavelength	324.8
Flame Type	Air / Acetylén
Acetyléne Flow	1,85
Air Flow	12,34
Read Delay	8
Measurement Time	3.0
Minimum Reading	0.0
Replicates All	3
Beckground Corre	Off
Recalibration Rate	10
Reslope Rate	0
Standard 1	0.2500 mg/l
Standard 2	0.5000 mg/l
Standard 3	1.0000 mg/l
Standard 4	3.0000 mg/l
Smoothing	7 point
Expansion Factor	1.0
QC Protokol	Off
Overrange Dilut.	Off
Conc Decimal Places	4
Calib. Algorithm	New Rational

CH 1.5

Stanovenie niklu metódou ETA- AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie niklu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Nikel sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou ETA-AAS podľa doporučených a experimentálne overených podmienok pre stanovenie niklu.

3. Pomôcky

3.1.Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2.Chemikálie a roztoky

- zmesný štandard (viď príprava zmesného štandardu)
- kyselina dusičná 65%, ANALPURE
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1.Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Zmesný štandard obsahuje nasledovné prvky: olovo, kadmium, meď, chróm a nikel. Pripravuje sa postupným riedením štandardných roztokov jednotlivých prvkov.

Roztoky niklu

Roztok niklu o koncentrácii **50µg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku niklu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok niklu o koncentrácii **5µg.ml^{-1}**: Z roztoku niklu o koncentrácii 50µg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Zmesný štandard:

Do 100ml odmernej banky sa odpipetuje:
- 1ml štandardného roztoku olova o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku kadmia o koncentrácii 0,5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku medi o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku chrómu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku niklu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}

Zmes roztokov sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

V zmesnom štandarde sú koncentrácie jednotlivých prvkov nasledovné:
- 50ng.ml^{-1} olova
- 5ng.ml^{-1} kadmia
- 50ng.ml^{-1} medi
- 50ng.ml^{-1} chrómu
- 50ng.ml^{-1} niklu

Zmesný štandard a deionizovaná voda sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa umiestnia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené. Zo zmesného štandardu (koncentrácia niklu v zmesnom štandarde je 50 ng.ml^{-1}) sa postupným riedením pripravia kalibračné roztoky v zadaní sampler automixing podľa tabuľky 2. Tieto roztoky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety pomocou automatického dávkovača.

Meria sa absorbancia jednotlivých roztokov v závislosti od ich koncentrácie. Mineralizát vzorky sa aplikuje do pyrolytickej grafitovej kyvety pri rovnakých podmienkach ako kalibračné roztoky.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia štandardu (ng.ml^{-1})	Objem zmesného štandardu (μl)	Objem deionizovanej vody (μl)
Blank	0,000	0,0	20,0
1. štandard	10,00	4,0	16,0
2. štandard	20,00	8,0	12,0
3. štandard	30,00	12,0	8,0
Mineralizát vzorky	x	20μl vzorky	0,0

6. Vyhodnotenie

Koncentrácia niklu je automaticky určená prístrojom z kalibračnej krivky. Ak koncentrácia niklu prekročí rozsah kalibračnej krivky, vzorka sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie niklu

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	4 mA
Slit width	0,2 nm
Slit height	normal
Wavelength	232,0 nm
Sample introduction	sampler automixing
Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background correction	On
Ash temperature	800 °C
Atomize temperature	2400 °C

Koncentrácia niklu v mineralizáte vzorky je udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia niklu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah niklu v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 44

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Austalia 1988, str. 49

CH 1.5.
Stanovenie niklu metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometria je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia katódová lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

1. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie niklu v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /220 , grafitová piecka GTA 110 Varian .
3.2.automatický dávkovač – sample dispenser PSD 110
3.3.grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4.polyetylénové nádobky
3.5. laboratórne sklo
3.6. nosný plyn argón 4.6
3.7.chladiace zariadenie
3.8.mineralizátor vzoriek
3.9.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1.certifikovaný referenčný materiál niklu :1,0000 g/l Ni v 2% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2.zásobný štandardný roztok niklu : 1,0000 mg/l Ni
4.3.kalibračný štandardný roztok niklu : 0,1000 mg/l Ni
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytica
4.5. modifikačný roztok $Pd(NO_3)_2$ fy Merck - 500 - 2000 mg/l, pripravený zo základného roztoku Pd o koncentrácii 10 g/l $Pd(NO_3)_2$ / HNO_3 , zmiešaný s 1% kyselinou ascorbovou v pomere 1:1
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/ 200ml vody sa odparí v kadičke a po odparení na malé množstvo sa zaleje 10ml kyseliny dusičnej a zmineralizuje pod spätným chladičom.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman /220

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,1000 mg/l Ni, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu :

1. štandard o koncentrácii : 0,0200 mg/l Ni
2. 0,0500 mg/l Ni
3. 0,0700 mg/l Ni
4. 0,1000 mg/l Ni

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní niklu je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah niklu v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Ni} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia niklu vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/

C_{Ni} - koncentrácia niklu odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/

C_{Sl} - koncentrácia niklu slepého pokusu /mg/l/

R - príslušné riedenie

N - navážka vzorky /g/

V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 73,54,64,30,10,29.
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
5. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.13,b str.65 r.1990
6. Amedis – Aplikačné listy – Varian
7. STN EN ISO 15586 Kvalita vody. Stanovenie stopových prvkov atómovou absorpčnou spektrometriou s grafitovou kyvetou
8. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody. Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
9. ST EN ISO 5667-3Kvalita vody. Odber vzoriek
   Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
10. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman/ 220 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN/ 220 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectrAA - Zeeman/ 220 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 120 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

5. Počítač

6. Otvoríme prívod argónu

7. Zapneme chladiace zariadenie

8. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku SpectrAA

9. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From Worksheet, vyberieme príslušný dátum. Do Name napíšeme aktuálny dátum , stlačíme Ok.

10. Do Sample Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

11. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Analysis vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

12. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a vyberieme príslušnú lampu , stlačíme OK.
13. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
14. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Instrument Mode	:	Absorbance
Sampling Mode	:	Automix
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Smoothing	:	7 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	232.0 nm
Slit Width	:	0.2 nm
Gain	:	66 %
Lamp current	:	4.0 mA
Lamp Position	:	2
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0200 mg/l
Standard 2	:	0,0500 mg/l
Standard 3		0,0700 mg/l
Standard 4		0.1000 mg/l
Reslope Rate	:	0
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	125,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational
Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	13 µl

Sample Volume	:	10 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,1000 mg/l
Bulk position	:	51
Makeup position	:	52
Modif 1 Vol	:	3 µl

FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	0.3	Normal	No
2	95	40.0	0.3	Normal	No
3	120	10.0	0.3	Normal	No
4	800	5.0	0.3	Normal	No
5	800	1.0	0.3	Normal	No
6	800	2.0	0.0	Normal	No
7	2400	0.8	0.0	Normal	Yes
8	2400	2.0	0.0	Normal	Yes
9	2400	2.0	0.3	Normal	Yes

STANDARDS

1. standard	0,0200 mg/l	Ni
2. standard	0,0500 mg/l	Ni
3. standard	0,0700 mg/l	Ni
4. standard	0.1000 mg/l	Ni

Reslope Stand. No : 3

SAMPLER VOLUMES /µl/

	METHOD CONC	BLANK	BULK
CAL ZERO	0,0000	10	0
STANDARD 1	0,0200 mg/l	8	2
STANDARD 2	0,0500 mg/l	5	5
STANDARD 3	0,0700 mg/l	3	7
STANDARD 4	0,1000 mg/l	0	10
SAMPLE	10		3

RECALIBRATION RATE	15
RESLOPE RATE	0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie olova metódou ETA- AA

1. Určenie metódy
Metóda je určená na stanovenie olova vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, pitných vodách a krmivách

2. Princíp metódy
Olovo sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou podľa doporučených a experimentálne overených parametrov pre stanovenie olova.

3. Pomôcky
3.1. Prístroje a zariadenia
- atómový absorpčný spektrometer : SpectrAA 220Z (Varian)
- elektrotermický atomizátor s grafitovou kyvetou: GTA-110Z (Varian)

3.2.Chemikálie a roztoky
- zmesný štandard (viď príprava zmesného štandardu)
- modifikačný roztok: dihydrogenfosforečnan amónny (NH_4)H_2PO_4 - 1% roztok
- kyselina dusičná 65%, ANALPURE
- deionizovaná voda

4. Bezpečnosť pri práci
Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1. Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Rovnakým spôsobom sa pripraví i slepý pokus.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko,sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

5.2. Príprava merania

Zmesný štandard obsahuje nasledovné prvky: olovo, kadmium, meď, chróm a nikel. Pripravuje sa postupným riedením štandardných roztokov jednotlivých prvkov.

Roztoky olova

Roztok olova o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku olova o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Roztok olova o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku olova o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

Zmesný štandard:

Do 100ml odmernej banky sa odpipetuje:
- 1ml štandardného roztoku olova o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku kadmia o koncentrácii 0,5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku medi o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku chrómu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}
- 1ml štandardného roztoku niklu o koncentrácii 5μg.ml^{-1}

Zmes roztokov sa doplní po značku 0,5% roztokom kyseliny dusičnej.

V zmesnom štandarde sú koncentrácie jednotlivých prvkov nasledovné:
- 50ng.ml^{-1} olova
- 5ng.ml^{-1} kadmia
- 50ng.ml^{-1} medi
- 50ng.ml^{-1} chrómu
- 50ng.ml^{-1} niklu

Modifikačný roztok: dihydrogénfosforečnan amónny $(NH_4)H_2PO_4$ - 1% roztok 5g $(NH_4)H_2PO_4$ sa rozpustí v deionizovanej vode a doplní sa na objem 500 ml. Uchováva sa pri laboratórnej teplote.

Zmesný štandard, modifikačný roztok a deionizovaná voda sa nalejú do príslušných nádobiek, ktoré sa umiestnia do karusela autosamplera na miesto pre ne určené. Zo zmesného štandardu (koncentrácia olova v zmesnom štandarde je 50ng.ml^{-1}) sa postupným riedením pripravia kalibračné roztoky podľa tabuľky 2. Tieto roztoky sa postupne aplikujú do pyrolytickej grafitovej kyvety pomocou automatického dávkovača. Meria sa absorbancia jednotlivých roztokov v závislosti od ich koncentrácie. Mineralizát vzorky sa aplikuje do pyrolytickej grafitovej kyvety pri rovnakých podmienkach ako štandardy.

Tabuľka 2: Parametre pre sampler

Roztok	Koncentrácia roztoku (ng.ml^{-1})	Objem zmesného štandardu (µl)	Objem deionizovanej vody (µl)	Objem modifikačného roztoku (µl)
Blank	0,00	-	20,0	5,0
1. štandard	5,00	2,0	18,0	5,0
2. štandard	10,00	4,0	16,0	5,0
3. štandard	20,00	8,0	12,0	5,0
4. štandard	30,00	12,0	8,0	5,0
Vzorka	x	20,0µl vzorky	-	5,0

5.3 Vyhodnotenie

Koncentrácia olova v mineralizáte je automaticky určená prístrojom z nameranej kalibračnej krivky. Ak koncentrácia olova prekročí rozsah kalibračnej krivky, vzorka sa vhodne riedi deionizovanou vodou. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie olova

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	peak height
Lamp current	5 mA
Slit width	0,5 nm
Slit height	normal
Wavelength	283,3 nm
Sample introduction	sampler automixing

Time constant	0,05 s
Measurement time	1,0 s
Replicates	2
Background corection	on
Ash temperature	600 °C
Atomize temperature	2200 °C

Koncentrácie olova v mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia olova prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah olova v $mg.kg^{-1}$.

6. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

7. Literatúra:

STN 560065 Metódy mineralizácie vzoriek pred stanovením obsahu ťažkých kovov v poživatinách

STN EN 14083(560077) Poživatiny. Stanovenie stopových prvkov. Stanovenie olova, kadmia, chrómu a molybdénu atómovou absorpčnou spektrometriou v grafitovej kyvete po mineralizácii za zvýšeného tlaku.

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 70

Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers, Varian, Australia 1988, str. 53

CH 1.5.
Stanovenie olova metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Atómová absorpčná spektrometria je metóda založená na schopnosti voľných atómov absorbovať žiarenie. Malý objem vzorky sa nanesie do grafitovej kyvety spolu s matricovým modifikátorom . Kyveta sa elektricky vyhrieva. Postupným zvyšovaním teploty prechádza vzorka fázami sušenia, pyrolýzy a atomizácie. Zdroj žiarenia katódová lampa emituje žiarenie špecifické pre daný prvok . Pri prechode lúča žiarenia oblakom atómov vytvorených v zahriatej grafitovej kyvete nastáva selektívna absorpcia žiarenia atómami daného prvku. Pokles intenzity žiarenia sa meria detektorom pri špecifickej vlnovej dĺžke. Koncentrácia prvku vo vzorke sa stanoví porovnaním absorbancie vzorky s absorbanciou kalibračných roztokov.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie olova v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA Zeeman /240 , grafitová piecka GTA 120 Varian .
3.2.automatický dávkovač – sample dispenser PSD 120
3.3.grafitové kyvety s pyrolytickým povlakom
3.4.polyetylénové nádobky
3.5. laboratórne sklo
3.6. nosný plyn argón 4.6
3.7.chladiace zariadenie
3.8.mineralizátor vzoriek
3.9.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1. certifikovaný referenčný materiál olova :1,0000 g/l Pb v 2% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok olova : 1,0000 mg/l Pb
4.3. kalibračný štandardný roztok olova : 0,0500 mg/l Pb
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytica
4.5. kyselina fosforečná 85 % p.a. Merck
4.6. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne:

5.1. homogenizácia - mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom

5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/ 200ml vody sa odparí v kadičke a po odparení na malé množstvo sa zaleje 10ml kyseliny dusičnej a zmineralizuje pod spätným chladičom.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA – Zeeman /240

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov. Po každej pätnástej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Nariedením kalibračného štandardného roztoku o koncentrácii 0,0500 mg/l Pb, použitím programu "automixing" z nameraných absorbancií zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu :

1. štandard o koncentrácii : 0,0063 mg/l Pb
2. 0,0125 mg/l Pb
3. 0,0250 mg/l Pb
4. 0,0500 mg/l Pb

Štandardy (mineralizáty) sa spolu s modifikačným roztokom a blankom aplikujú do pyrolytickej kyvety pomocou automatického dávkovača.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2. Pri meraní olova je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu len pre potrebu nastavenia teploty na chladiacom zariadení, ináč vonkajšia teplota neovplyvňuje priebeh analýzy.

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah olova v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l. Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Pb} - C_{Sl}).\ R\ .\ V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia olova vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/

C_{Pb} - koncentrácia olova odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/

C_{Sl} - koncentrácia olova slepého pokusu /mg/l/

R - príslušné riedenie

N - navážka vzorky /g/

V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizer - Varian
2. Firemná literatúra Varian instruments at work No.AA – 52/1985
3. Využití atómové absorpční spektrometrie v potravinářské a zemědelské praxi, VÚPP, J. Pavelka a kol., Praha 1990
5. Veterinárne lab. metodiky / VII b/1.3.14 str.70 Bratislava 1990
6. Amedis – Aplikačné listy – Varian
7. STN ISO 8288 75 7443 Kvalita vody. Stanovenie kobaltu, niklu, medi zinku, kadmia a olova. Metódy plameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie.
8. STN EN ISO 15586 Kvalita vody. Stanovenie stopových prvkov atómovou absorpčnou spektrometriou s grafitovou kyvetou
9. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody. Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
10. ST EN ISO 5667-3 Kvalita vody Odber vzoriek
    Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
11. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek
    Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA Zeeman/ 240 – Varian
č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA ZEEMAN/ 240 - Varian

1. Zapneme prístroj SpectrAA - Zeeman/ 240 do pozície I.
   Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Zapneme GTA 120 do pozície I . Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

3. Monitor

4. Tlačiareň

5. Počítač

6. Otvoríme prívod argónu

7. Zapneme chladiace zariadenie

8. V pravom hornom rohu stlačíme pravým tlačítkom na myši 2-krát na políčku SpectrAA

9. Stlačíme Worksheet, New from. Z New Worksheet From Worksheet, vyberieme príslušný dátum. Do Name napíšeme aktuálny dátum , stlačíme Ok.

10. Do Sample Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

11. V ľavom stĺpci stlačíme Select. V Analysis vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať a označíme vzorky ktoré budeme merať. .

12. V ľavom stĺpci stlačíme OPTIMIZE a vyberieme príslušnú lampu , stlačíme OK.
13. Do karuselu umiestnime do pozície č.1 vodu, do 2 a 3 slepé pokusy, do 4 až 15 vzorky,16 slepý pokus.... vzorky.
    Do pozície 52 MAKE-UP dáme vodu, do 54 príslušný modifikátor, do 51 meraný štandard.
14. Stlačíme START a meriame.

č.2., PODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Instrument Mode	:	Absorbance
Sampling Mode	:	Automix
Calibration Mode	:	Concentration
Measurement Mode	:	Peak Height
Replicates Stand	:	2
Replicates Sample	:	2
Smoothing	:	7 point
Conc. Dec. Places	:	4
Wavelenght	:	283.3 nm
Slit Width	:	0.5 nm
Gain	:	41 %
Lamp current	:	5.0 mA
Lamp Position	:	2
Background Corr.	:	BC On
Standard 1	:	0,0063 mg/l
Standard 2	:	0,0125 mg/l
Standard 3		0.0250 mg/l
Standard 4		0.0500 mg/l
Reslope Rate	:	0
Reslope Stand. No	:	2
Reslope Lower Limit	:	75.0 %
Reslope Upper Lim	:	125,0 %
Recalibration Ra	:	15
Calib. Algorith.	:	New Rational

Cal. Lower Limit	:	20 %
Cal. Upper Limit	:	150 %
Workhead Height	:	0.0 mm
Total volume	:	10 µl
Sample Volume	:	8 µl
Vol. Reducti Fac.	:	2
Bulk Conc.	:	0,0500 mg/l
Bulk position	:	51
Makeup position	:	52
Modif 1 Vol	:	2 µl

FURNACE PARAMETERS

Step	Temp º C	Time s	Flow 1/min	Gas Type	Read
1	85	5.0	0.3	Normal	No
2	95	40.0	0.3	Normal	No
3	120	10.0	0.3	Normal	No
4	400	5.0	0.3	Normal	No
5	400	1.0	0.3	Normal	No
6	400	2.0	0.0	Normal	No
7	2100	1.0	0.0	Normal	Yes
8	2100	2.0	0.0	Normal	Yes
9	2100	2.0	0.3	Normal	Yes

STANDARDS

1. standard	0,0063 mg/l	Pb
2. standard	0,0125 mg/l	Pb
3. standard	0.0250 mg/l	Pb
4. standard	0,0500 mg/l	Pb

Reslope Stand. No : 3

SAMPLER VOLUMES /µl/

	METHOD CONC	**BLANK**	**BULK**
CAL ZERO	0,0000	8	0
STANDARD 1	0,0063 mg/l	7	1
STANDARD 2	0,0125 mg/l	6	2
STANDARD 3	0,0250 mg/l	4	4
STANDARD 4	0,0500 mg/l	0	8

SAMPLE 8 MODIF 2

RECALIBRATION RATE 15
RESLOPE RATE 0

MULTIPLE INJECT NO HOT INJECT NO PRE INJECT MOD NO

CH 1.5

Stanovenie selénu hydridovou technikou AAS

1. Určenie metódy

Metóda je určená na stanovenie selénu vo vzorkách živočíšneho i rastlinného pôvodu, nápojoch, vodách a krmivách

2. Princíp metódy

Mineralizát vzorky sa upraví na generovanie hydridov, vzniknutý selenovodík sa termicky rozloží a selén sa meria na atómovom absorpčnom spektrometri.

3. Pomôcky

3.1. Prístroje a zariadenia

- atómový absorpčný spektrometer SpectrAA 220FS (Varian)
- generátor hydridových pár VGA 76 (Varian)

3.2. Chemikálie a roztoky

- bórhydrid sodný, 0,6% roztok v 0,5% roztoku NaOH
- 20% roztok močoviny
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková
- deionizovaná voda
- kyselina chlorovodíková o koncentrácii 10mol/l
- štandardný roztok selénu ($c=1 g.dm^{-3}$)
- kalibračné štandardné roztoky selénu o koncentráciách: 5, 10, 20 $ng.ml^{-1}$, ktoré sa pripravia vhodným riedením štandardného roztoku selénu tak, že k alikvotnému objemu štandardného roztoku sa pridajú 4ml 20% močoviny a 4ml HCl (10mol/l) a do 50ml odmernej banky a roztoky sa doplnia po značku deionizovanou vodou.

4. Bezpečnosť pri práci

Dodržiavať Zásady pre bezpečnú prácu v chemických laboratóriách podľa STN 01 8003

5. Pracovný postup

5.1. Príprava vzorky

<u>Mineralizácia vzorky pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote</u>

Podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke sa naváži 0,2 až 5 gramov zhomogenizovanej vzorky (tab. 1) do teflónovej nádobky. Ku vzorke sa pridá 3 až 12ml kyseliny dusičnej. Teflónová nádobka sa uzavrie do tlakovej bombičky, ktorá sa zohrieva po dobu 4 hodín pri teplote 170°C v sušiarni alebo sa zahrieva mikrovlnným žiarením v zariadení pre mikrovlnný rozklad (Plazmatronika), pričom sa vzorka rozkladá pri zvýšenom tlaku a zvýšenej teplote. Po vychladnutí sa mineralizačné zariadenie otvorí a vyberie sa z neho teflónová nádobka, ktorá obsahuje rozloženú vzorku. Mineralizát vzorky sa kvantitatívne prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Tabuľka 1: Navážky vzoriek podľa predpokladaného obsahu analytu vo vzorke a podľa jednotlivých komodít

Komodita	Navážka (g)
mäso, ryby, morské živočíchy, mliečne výrobky, masť	2,0
mäsové výrobky, syry, vnútornosti	1,5 – 2,0
vajcia	2,5
med	1,5
mliečne výrobky (smotana, jogurt)	2,5 - 3,0
mliečne výrobky (mrazené)	3,0 - 3,5
mlieko	4,0 - 5,0
sušené mlieko, sušené vajcia	1,0
obilniny, celková kŕmna dávka (žľabová vzorka)	1,0
kŕmne zmesi, bielkovinové krmivá (živočíšne, rastlinné), objemové krmivá sušené	0,5
objemové krmivá čerstvé	1,0 - 1,5
minerálne doplnky, premixy	0,15 - 0,3

Rozpúšťanie

Špeciálne vzorky (soľ, jodid draselný, seleničitan sodný, oxid zinočnatý a iné chemikálie anorganického charakteru, ktoré sú súčasťou krmív), ktoré sa rozpúšťajú vo vode alebo kyselinách (HCl, HNO_3) pri laboratórnej teplote sa rozkladajú za studena. Navážka takejto vzorky sa pohybuje v rozsahu 0,2 až 2,0g. Vzorka sa rozpúšťa vo vhodnom rozpúšťadle (deionizovaná voda, HNO_3, HCl). Vzniknutý mineralizát sa prenesie do 50ml odmernej banky a doplní sa po značku deionizovanou vodou.

Úprava vody

Vzorka vody sa okyslí HNO_3 (65%), (na 100ml vzorky vody sa pridáva 1ml HNO_3). Takto okyslená voda je pripravená na stanovenie.

Z roztoku mineralizátu vzorky sa odpipetuje 10ml vzorky do 25ml odmernej banky. K tomuto objemu sa pridajú 3 ml 20% roztoku močoviny a roztok sa nechá stáť aspoň 30 minút. Potom sa k roztoku pridajú 5ml koncentrovanej HCl. Roztok sa po dobu 30 minút zohrieva vo vodnom kúpeli pri teplote 70-90°C. Po ochladení pri izbovej teplote sa roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou. Takto upravená vzorka je pripravená na meranie.

5.2.Príprava merania

Roztoky selénu

Roztok selénu o koncentrácii **50μg.ml^{-1}**: Zo základného štandardného roztoku selénu o koncentrácii 1g/l sa odpipetuje 5ml do 100 ml odmernej banky, ktorá sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok selénu o koncentrácii **5μg.ml^{-1}**: Z roztoku selénu o koncentrácii 50μg.ml^{-1} sa odpipetuje 10ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Roztok selénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}**: Z roztoku selénu o koncentrácii 5μg.ml^{-1} sa odpipetuje 1ml do 100ml odmernej banky. Roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

Z roztoku selénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pripravia nasledovné pracovné štandardy, ktoré sa použijú na meranie:

Tabuľka 2:

koncentrácia pracovného štandardu **(ng.ml^{-1})**	odpipetovaný objem z roztoku o koncentrácii 50ng.ml^{-1} **(ml)**	objem odmernej banky **(ml)**	objem 20% močoviny **(ml)**	Objem koncentrovanej HCl **(ml)**
0 - blank	0	50	6	10
5	5	50	6	10
10	10	50	6	10
20	20	50	6	10

K odpipetovanému objemu roztoku selénu o koncentrácii **50ng.ml^{-1}** sa pridá množstvo 20% močoviny a uvedené podľa tabuľky 3 a roztok sa nechá 30minút stáť. Potom sa k nemu pridá koncentrovaná HCl (podľa tabuľky 2) a roztok sa doplní po značku deionizovanou vodou.

<u>Príprava pomocných roztokov</u>:

-20% roztok močoviny - 100g močoviny sa rozpustí v 400 ml deionizovanej vody, roztok sa uchováva pri laboratórnej teplote

-0,6% roztok tetraboritanu sodného BH_4Na - 1,5g BH_4Na a 1,25g hydroxidu sodného NaOH sa rozpustí a doplní deionizovanou vodou na objem 250ml, uchováva sa v chladničke

-10M roztok kyseliny chlorovodíkovej HCl - k 80ml deionizovanej vody sa pridá 420ml koncentrovanej HCl, uchováva sa pri laboratórnej teplote

Upravený mineralizát vzorky sa čerpá zariadením VGA 76 spolu s roztokom bórhydridu sodného a kyselinou chlorovodíkovou. Vzniknutý selenovodík sa vedie prúdom inertného plynu (Ar) do kremennej kyvety, ktorá je ohrievaná plameňom acetylén - vzduch. Prístroj sa kalibruje uvedenými kalibračnými roztokmi.

Kalibračná krivka 5,00 μl/l
10,00 μl/l
20,00 μl/l

6. Vyhodnotenie

Vyhodnotenie výsledkov sa prevádza metódou kalibračnej krivky. Podmienky stanovenia sú uvedené v tabuľke 3. Ak koncentrácia selénu vo vzorke prekročí rozsah kalibračnej krivky, roztok sa vhodne riedi roztokom 1mol/l HCl.

Tabuľka 3: Podmienky merania pre stanovenie selénu

Instrument mode	absorbance
Calibration mode	concentration
Measurement mode	integration

Lamp current	10 mA
Slit width	1,0 nm
Slit height	normal
Wavelength	196,0 nm
Flame	air - acetylene
Sample introduction	manual
Delay time	45 s
Time constant	0,05 s
Measurement time	3,0 s
Replicates	3
Background correction	on

Koncentrácia selénu v upravenom mineralizáte vzorky je priamo udaná spektrometrom. Podľa potreby sa koncentrácia selénu prepočíta pri zadaní navážky a objemu na obsah selénu v $mg.kg^{-1}$.

7. Zabezpečenie kvality výsledkov skúšok

- pravidelné zaraďovanie slepých pokusov pri každej sérii vzoriek
- paralelné analýzy po každej dvadsiatej vzorke
- pravidelné používanie RM a CRM
- sledovanie trendov v regulačných diagramoch pre RM a CRM
- účasť v medzilaboratórnych testoch (medzinárodné i v rámci SR)
- certifikácia prístrojov, pravidelné servisné kontroly
- používanie kalibrovaného odmerného skla, overených analytických váh

8. Literatúra:

Veterinárne laboratórne metodiky, VII. b, Štátna veterinárna správa SR, Bratislava 1990, str. 82

Analytical Method for Flame Spectroscopy, Varian, Austalia 1989, str. 57

CH 1.5.
Stanovenie zinku metódou atómovej absorpčnej spektrometrie

1. PRINCÍP METÓDY

Zinok sa stanoví v mineralizáte vzorky metódou plameňovej absorpčnej spektrometrie. Metóda je založená na rozprašovaní roztoku mineralizátu vzorky v acetylén-vzduchovom plameni. Drobné kvapôčky aerosolu sa v plameni vyparia, rozložia a atomizujú termodisociačnými a termickými procesmi. Prvky prítomné v mineralizáte sa v plameni dostanú do vzbudeného stavu a hodnota absorbancie pri danej vlnovej dľžke odpovedajúca rezonančnej čiare je úmerná koncentrácii v analyzovanej vzorke.

2. POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie zinku v potravinách živočíšneho a rastlinného pôvodu, surovinách , polotovaroch, nápojoch, výživových doplnkoch, dehydrovaných a instantných potravinách, pochutinách, biologickom materiály, vodách a krmivách.

3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1.atómový absorpčný spektrometer Varian SpectrAA 240FS
3.2.laboratórne sklo
3.3.nosný plyn acetylén
3.4.kompresor na vzduch
3.5.mineralizátor vzoriek
3.6.analytické váhy

4. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

4.1. certifikovaný referenčný materiál zinku :1,0000 g/l Zn v 2% HNO_3 Slovenský metrologický ústav Bratislava
4.2. zásobný štandardný roztok zinku : 1,0000 mg/l Zn
4.3. kalibračné štandardné roztoky zinku sa pripravia riedením zo zásobného štandardného roztoku o koncentrácii: 0,5000 1,0000 3,0000 5,0000 7,0000 mg/l Zn.
4.4. kyselina dusičná 65% Analpur SD fy Analytika
4.5. deionizovaná voda /Milli-Q/

5. PRÍPRAVA VZORKY

Vzorka sa pripraví k analýze nasledovne
5.1. homogenizácia - mixér - Bosch
- laboratórny mlynček
- trecia miska

5.2. mineralizácia - 5.2.1. - mikrovlnný rozklad - MDS - 2000

5.2.2. - mokrá mineralizácia v prostredí kyseliny dusičnej pod spätným chladičom
5.2.3. - vzorka vody zakonzervovaná kyselinou dusičnou /2ml kyseliny dusičnej do 1l vzorky/

.

6. PRACOVNÝ POSTUP

Pracovný postup je uvedený v prílohe č.1 – Návod na použitie prístroja Varian SpectrAA 240FS

7. KALIBRÁCIA PRÍSTROJA

Pred každým meraním prvku sa denne vykonáva kalibrácia prístroja pomocou kalibračných štandardných roztokov.. Po každej desiatej vzorke sa vykonáva rekalibrácia prístroja. Z kalibračných štandardných roztokov zostrojí prístroj kalibračnú krivku v rozsahu

1. štandard o koncentrácii 0,5000 mg/l Zn
2. štandard 1,0000 mg/l Zn
3. štandard 3,0000 mg/l Zn
4. štandard 5,0000 mg/l Zn
5. štandard 7,0000 mg/l Zn

Kalibračné štandardy a vzorky sa aplikujú do plameňa manuálne.

8. PODMIENKY PRÍSTROJA

Podmienky prístroja sú spracované v prílohe č.2 Pri meraní zinku nie je potrebné sledovať vonkajšiu teplotu. Merania sa vykonávajú pri bežnej izbovej teplote .

9. VÝPOČET A PREZENTÁCIA VÝSLEDKOV

Prístroj je riadený počítačom. Obsah zinku v požívatinách, krmivách a vode je vyhodnotený automaticky prístrojom z kalibračnej krivky a udaný v mg/kg, kvapalné vzorky v mg/l.
Výsledok sa prepočíta na navážku a príslušné riedenie pomocou vzorca:

$$C = \frac{(C_{Zn} - C_{Sl}) . R . V}{N} \quad /mg/kg/$$

C - výsledná koncentrácia zinku vo vzorke prepočítaná na navážku vzorky a príslušné riedenie /mg/kg/
C_{Zn} - koncentrácia zinku odčítaná z kalibračnej krivky /mg/l/
C_{Sl} - koncentrácia zinku slepého pokusu /mg/l/
R - príslušné riedenie
N - navážka vzorky /g/
V - objem vzorky /ml/

10. POUŹITÁ LITERATÚRA

1. Firemná literatúra Analytical methods Varian - Varian instrument at work
2. STN ISO 8288 (757443) –Kvalita vody. Stanovenie kobaltu, niklu, zinku, medi, kadmia a olova. Metódy plameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie.
3. Veterinárne laboratórne metodiky VII b/1.3.17 b/85, 1990 Chémia potravín Bratislava 1990
4. STN EN ISO 6869Krmivo pre zvieratá. Stanovenie obsahu vápnika, medi, železa, horčíka, mangánu, draslíka, sodíka a zinku. Metóda atómovej absorpčnej spektrometrie.
5. STN EN ISO 15587 – 2 Kvalita vody. Mineralizácia na stanovenie vybraných prvkov vo vode časť 2 /kyselinou dusičnou/
6. ST EN ISO 5667-3 Kvalita vody Odber vzoriek. Časť 3. Pokyny na konzerváciu vzoriek a manipuláciu s nimi.
7. ST ISO 5667 – 5 Kvalita vody. Odber vzoriek. Časť 5. Pokyny na odber vzoriek pitnej vody a vody používanej pri výrobe potravín a nápojov

11. PRÍLOHY

č.1., Návod na použitie prístroja SpectrAA 240FS – Varian

č.2., Podmienky prístroja : Instrument Parameters

č.1., NÁVOD NA POUŽITIE PRÍSTROJA SPECTRAA 240FS- Varian

1. Zapneme prístroj SpectraAA 240FS - do pozície I. Po zapnutí sa rozsvieti zelená kontrolka.

2. Monitor

3. Tlačiareň

4. Otvoríme prívod acetylénu, zapneme kompresor na vzduch

5. Počítač

6. Filing Load Worksheet , New from – vyberieme príslušný dátum.

7. Do Name napíšeme aktuálny dátum – stlačíme OK.

8. V Select vyberieme príslušný prvok ktorý budeme merať.

9. Do Labels napíšeme čísla meraných vzoriek

10. V Optimize vyberieme príslušnú lampu. Po nahriatí lampy cca 5min. stlačíme Optimize Lamps a Optimize Signál, Inst Zero, OK.

11. Horák otočíme o 90 stupňov.

12. Zapneme horák , necháme nahriať horák asi 1min. Stlačíme Štart.

č.2., ODMIENKY PRÍSTROJA : INSTRUMENT PARAMETERS

Element	Zn
Instrument Type	Flame
Instrument Mode	Absorbance
Calibration Mode	Concentration
Measurement Mode	Integration
Samling Mode	Manual
Lamp Position	3
Lamp Current	5.0
Slit Width	1,0
Wavelength	213,9
Flame Type	Air / Acetylén
Acetyléne Flow	2,00
Air Flow	13,50
Read Delay	8
Measurement Time	3.0
Minimum Reading	0.0
Replicates All	3
Beckground Corre	Off
Recalibration Rate	10
Reslope Rate	0
Standard 1	0.5000 mg/l
Standard 2	1,0000 mg/l
Standard 3	3.0000 mg/l
Standard 4	5.0000 mg/l
Standard 5	7.0000 mg/l
Smoothing	7 point
Expansion Factor	1.0
QC Protokol	Off
Overrange Dilut.	Off
Conc Decimal Places	4
Calib. Algorithm	New Rational