

Metodenavn: Krom og ytterbium
BIOVIT-nr.: Arb1071

1. Innledning/hensikt

Krom (Cr) og ytterbium (Yb) brukes som markører i stoffskifteforsøk hos drøvtyggere. Markørstoffene løses opp i vann, og injiseres via en peristaltisk pumpe gjennom plastslange rett i vomma i dyret. Konsentrasjonen av krom og ytterbium bestemmes ved hjelp av MP-AES etter fortynning eller dekomponering av prøvene. Konsentrasjonen av injeksjonsløsningen vil variere fra 1000-1800µg/ml.

Dekomponeringen av prøven er den mest kritiske delen av analysen da ufullstendig dekomponering kan ha stor påvirkning på resultat. Man må også hindre tap av analytt under dekomponering. En effektiv metode er å benytte mikrobølge-dekomponering med syre da alt foregår i et lukket system.

De ferdig oppsluttede prøvene analyseres spektrofotometrisk med MP-AES (Microwave Plasma Atomic Emission Spectrometer) fra Agilent.

2. Reagenser og kontrollprøve

- Konsentrert HNO₃ – (mikrobølge-dekomponering)
- Hydrogenperoksid – (mikrobølge-dekomponering)
- 2 % HNO₃ – (vaskeløsning til injektor); 20 mL HNO₃ + 980 mL milliQ-vann
- 16 % HNO₃ – (til fortynninger/blank); 160 mL HNO₃ + 840 mL milliQ-vann
- Cr/Yb standarder (0,01-0,05-0,1-0,25-0,5-0,75-1,0-2-4-6 mg/L). Husk at standarder og prøve skal ha samme syrekonsentrasjon!
- Kontroll: kugjødse tilsatt Cr/Yb

3. Risikovurdering

- Konsentrert HNO₃ – Skadelig ved hudkontakt og øyekontakt, samt svelging.
 - Bruk hansker og jobb i avtrekk
 - Ved hudkontakt – skyll med vann, ta av tilsølte klær, ring lege
 - Ved øyekontakt- skyll med vann og ring lege
- Hydrogenperoksid (30%) - Skadelig ved svelging og ved øyekontakt,
 - Skadelig for liv i vann med langtidsvirkende effekt
 - Bruk hansker og jobb i avtrekk
 - Ved svelging – skyll munn, ring lege ved ubehag
 - Ved øyekontakt- skyll med vann og ring lege

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 08.2018	Revisjon 10.2021	Erstatter 03.2021	Dokumentnavn 1071_arb_Krom og ytterbium_NO	Side 1/5

Dannelse av nitrose gasser:

Nitrose gasser dannes ved dekomponering av salpetersyre og kan gi irritasjon i øvre og nedre luftveier-kan være kritisk. All jobb med dekomponerte rør gjøres i samme avtrekk til prøvene er fortynnet. La de fortynnede prøvene stå i avtrekk ca 30 min med åpen kork. Bruk autosamplere med cover.

4. Utstyr

- MP-AES 4200 (Agilent Technologies)
- Start D Microwave digestion system (Milestone Srl)

5. Prøvemateriale

Fôr/faeces prøver 0,5 mm malingsgrad

6. ArbeidsbeskrivelsePrøveopparbeidelse:For væskeprøver:

Infusjonsvæske skal ikke dekomponeres, bare fortynnes.

1. Sentrifuger rørene på 3000 rpm i 10 minutter.
2. Fortynn 0,25 ml prøve i 49,75 ml Milli-Q vann (1:200 fortynning)

Urin og vomsaft dekomponeres med samme metode som faste prøver (se under).

1. Spinn opp prøven slik at man får med partikler.
2. Pipetter ut 2 ml prøve til oppslutningsrørene. Etter dekomponering ha prøven over i 50 ml rør og tilsett Milli-Q vann til 50 ml merket. Dette tilsvarer 1:25 fortynning.

For faste prøver:

Oppslutning ved dekomponering i mikrobølgeovn (rotor = max 24 prøver)

1. Vei ut ca. 0,1 gram materiale
2. Reagenser; 2 mL H₂O₂ og 8 mL HNO₃ (1:5)
3. HUSK; MINIMUM 10 mL REAGENS/RØR!
4. Bruk Lab Dancer etter tilsetning av reagens – unngå klumper av tørt materiale
5. HUSK; sett beskytteren på temperatursensor!
6. Hent opp eksisterende metode

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 08.2018	Revisjon 10.2021	Erstatter 03.2021	Dokumentnavn 1071_arb_Krom og ytterbium_NO	Side 2/5

7. Legg inn tid/effekt/temperatur
8. 100 W/prøve – opp til 1200 W
9. Husk 10 minutter ventilasjon etter kjøring
10. Ikke åpne rør før temperaturen er under 50 °C
11. Ved åpning av rør; Pass på at overtrykksventilen er vendt bort fra deg!
12. Overfør til 50 mL plastrør og fortynn opp til merket med Milli-Q vann. Gir matriks på 16 % HNO₃.
13. Sett på kork og vend røret minst 10 ganger for miksing
14. La røret stå slik at eventuelle partikler synker til bunnen
15. Plastrøret kan settes direkte i autoinjektoren

Oppstart av MP-AES:

16. Stram tubinger til vaskeløsning (på autosamplere)
17. Fyll på 2 % HNO₃ vaskeløsning om nødvendig
18. Åpne **MPExpert** (ikon – desktop)
19. Åpne fanen **PUMP** – trykk «normal»
20. Stram tubinger på selve instrumentet (lettere når pumpa går)
21. **Plasma** – «plasma on» (hører start opp, sjekk i vindu at plasma er tent)
22. **Autosampler** – dobbeltklikk på posisjon for vann (Milli-Q) (**NB:skru av kork**)
23. **Pumpe** – «fast»
24. **Instrument** – oversikt over instrumentet (her kan det purges hvis plasma ikke tenes pga luft i systemet, eller se feilmeldinger)
25. Titt i spraykammer- når det har blitt tåke; **Pumpe** – «normal»

Om det står «Calibration overdue»-utfør en bølgelengde kalibrering pkt 52 (ca 1 gang per mnd).

Sjekk følsomhet

26. Autosampler- dobbeltklikk på posisjon for følsomhetskontrollprøven (husk skru av lokk)
27. Pump - fast
28. Instrument: Quick read – trykk på «Y» i periodiske system
29. Sjekk at linjen for 371.029 nm er markert
30. Pump – normal (når prøven har kommet frem til spraykammeret)
31. Read
32. Les av intensiteten x 3 (trykk read 3 ganger) Noter resultatet i loggboka. Intensiteten før ligge rundt 100 000 (mellom 85 000 og 120 000).
33. Autosampler – rinse

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 08.2018	Revisjon 10.2021	Erstatter 03.2021	Dokumentnavn 1071_arb_Krom og ytterbium_NO	Side 3/5

Quick read

34. Sett probe i prøve via autosampler
35. Instrument-quick read
36. Trykk på grunnstoff: eks: Natrium: read: scan 588.995: 120,000 intensitet. Skriv opp i labjournal. Gir en indikasjon på om du må fortynne prøven videre.

Lage sekvens:

37. **MPExpert- “New From”**
38. Dobbelklikk: eks. Yttrium_180323
39. Sett blank + standarder i stativ bakerst, fra venstre: blank - standard 1- standard 2 osv.
NB: ta av korker
40. Sett prøver i neste stativ (posisjon 1 = høyre hjørne bak)
41. **Standards-** kan legge inn/fjerne standarder. Sett forventet calibration error % (0,999 el 0,990).
42. **Sequence-** Legg inn prøver, NB riktige posisjoner. Bytt eventuelt navn på prøvene.
Hvis kjøring over natt; huk av for «*turn plasma and pump off*»
43. **Autosampler-** Sjekk at standarder og prøver står i samme posisjoner som vises på skjermen
44. Trykk «**Run**» (øvre fane).
45. Får opp spørsmål om lagring – lagre under ÅÅMMDD_RekvXX_Navn (skal stå mpws etter)
46. Check Autosampler racks – trykk “OK”
47. **Analysis** – kan følge med på resultatene under kjøring
48. Analysen er ferdig: *Worksheet run has been completed* - trykk “OK”
49. Lagre rådata: **Analysis**-venstreklikk på blå trekant ved siden av Rack tube for å markere kjøringene; høyre klikk «*Export selected solutions*»; lagres på desktop under: «Resultater MP AES».
50. Gå inn i excel filen og kopier resultat under «*concentration*» (mg/L); legg inn i rekvisisjonen.

Avslutte instrumentet:

48. **Pump- off**
49. **Plasma- off**
50. Løsne for tubinger på instrument
51. Løsne for tubinger til vaskeløsning (autosampler)

Wavelength calibration (en gang per mnd)

52. Sett autosampler i kalibreringsløsning
53. Instrument – Instrument calibration-Wavelength Calibrate and Check
54. Check
55. Zero order check
56. Run-Når den er ferdig: “*last successful calibration*” kommer opp med dato.

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 08.2018	Revisjon 10.2021	Erstatter 03.2021	Dokumentnavn 1071_arb_Krom og ytterbium_NO	Side 4/5

7. Beregning av analyseresultatet:

Resultater hentet ut fra MP-AES kommer i mg/L (disse legges inn i excel-arket)

Alle formler ligger inne i excel-arket (rekvisisjonsarket), men er som følger:

$\text{mg/L} \times \text{endelig volum (0,05 L)} / \text{innveid mengde (g)} = \text{mg/g eller g/kg}$

Hvis endelig volum nedskaleres (ved små prøver) må dette justeres i formelen.

Husk å ta hensyn til eventuelle fortyninger.

8. Diverse tips:

- Hvis du kommer borti probearmen på autosamplere må den restarteres (av/på knapp) på instrumentet.
- Hvis det er mye dråper i spraykammer må dette vaskes. Det kan legges i kongevann o/n.
- Standards: om kalibreringskurven har lav linearitet kan det velges «regular» og error kan settes opp (ved multikomp-metode.)
- Rack 1 skal brukes til standarder (default er et annet rack, så vær obs når lager nytt template).
- Sjekk det optiske vinduet og vask dette med såpe, skyld og tørk. Det kan bli blakket. I delkatalog (ligger på desktop) for bestilling: Pre-optic window: G800-64112.
- Torch kan vaskes i 10 % salpetersyre eller 50 % kongevann.
- Spraykammer kan vaskes om det blir møkkete og det dannes dråper på innside. Vaskes i 10 % salpetersyre, og tørk lett. G800-70007.
- Ande deler det er greit å ha:
- One Neb-nebulizer: 2010126900.
- Tubing: orange/grønn flared ends. 371006800.
- Blå/blå (som går fra spraykammer).
- Autosamplere: s 26 (atomabs) SPS 3: Probe: 9910111900 (kan bestilles om knekker).

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet av Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 08.2018	Revisjon 10.2021	Erstatter 03.2021	Dokumentnavn 1071_arb_Krom og ytterbium_NO	Side 5/5