

**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 1000-1800 µg/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  $\text{HNO}_3$  – (mikrobølge-dekomponering)
- Hydrogenperoksid – (mikrobølge-dekomponering)
- 2 %  $\text{HNO}_3$  – (vaskeløsning til injektor); 20 mL  $\text{HNO}_3$  + 980 mL milliQ-vann
- 16 %  $\text{HNO}_3$  – (til fortynninger/blank); 160 mL  $\text{HNO}_3$  + 840 mL milliQ-vann
- Cr/Yb standarder (0,5-1,0-2-4-6 mg/L)
- Kontroll: kugjødsele tilsatt Cr/Yb

### 3. Risikovurdering

- Konsentrert  $\text{HNO}_3$  – 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<br>Elin Follaug<br>Johnsen | Godkjent<br>Hanne<br>Kolsrud<br>Hustoft | Gjelder fra<br>08 2018 | Revisjon | Erstatter<br>01.02.02 | Dokumentnavn<br>Arb 1071 Krom<br>og ytterbium | Side<br>1/5 |

#### 4. Utstyr

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

#### 5. Prøvemateriale

Fôr/faeces prøver 0,5 mm malingsgrad

#### 6. Arbeidsbeskrivelse

##### Prøveopparbeidelse:

##### For væskeprøver:

1. Krom og ytterbium prøvene fortynnes først 4 ganger med RO-vann (1ml prøve + 3ml RO-vann).
2. Etter endt fortynning blandes prøvene godt. Fortynn så prøvene 100 ganger fortynning. (0,1ml + 10ml).
3. Etter endt fortynning blandes prøvene godt, og analyseres på MP-AES

##### For faste prøver:

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

1. Vei ut ca. 0,1 gram materiale
2. Reagenser; 8 mL HNO<sub>3</sub> og 2 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5:1)
3. HUSK; MINIMUM 10 mL REAGENS/RØR!
4. Bruk Lap Dancer etter tilsetning av reagens – unngå klumper av tørt materiale
5. HUSK; sett beskytteren på temperatursensor!
6. Hent opp eksisterende metode
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 MilliQ vann. Gir matriks på 16 % HNO<sub>3</sub>.

| BIOVIT/NMBU                              |                                         |                        |          |                       |                                               | ARB         |
|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------------------------------|-------------|
| Utarbeidet av<br>Elin Follaug<br>Johnsen | Godkjent<br>Hanne<br>Kolsrud<br>Hustoft | Gjelder fra<br>08 2018 | Revisjon | Erstatter<br>01.02.02 | Dokumentnavn<br>Arb 1071 Krom<br>og ytterbium | Side<br>2/5 |

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 autosampler)
17. Fyll på vaskeløsning om nødvendig
18. Åpne **MPExpert** (ikon – desktop)
19. Åpne fanen **PUMP** – trykk «normal»
20. Stram tubinger på selve instrumentet (letterer når pumpa går)
21. **Plasma** – «plasma on» (hører start opp, sjekk i vindu at plasma er tent)
22. **Autosampler** – dobbeltklikk på posisjon for vann (milliQ) (**NB: skru av kork**)
23. **Pumpe** – «fast»
24. **Instrument** – oversikt over instrumentet (her kan det purges hvis plasma ikke tennes 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)
33. Autosampler – rinse

#### 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. Dobbeltklikk: 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)

| BIOVIT/NMBU                              |                                         |                        |          |                       |                                               | ARB         |
|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------------------------------|-------------|
| Utarbeidet av<br>Elin Follaug<br>Johnsen | Godkjent<br>Hanne<br>Kolsrud<br>Hustoft | Gjelder fra<br>08 2018 | Revisjon | Erstatter<br>01.02.02 | Dokumentnavn<br>Arb 1071 Krom<br>og ytterbium | Side<br>3/5 |

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.

### 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 fortynninger.

### 8. Diverse tips:

| BIOVIT/NMBU                              |                                         |                        |          |                       |                                               | ARB         |
|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------------------------------|-------------|
| Utarbeidet av<br>Elin Follaug<br>Johnsen | Godkjent<br>Hanne<br>Kolsrud<br>Hustoft | Gjelder fra<br>08 2018 | Revisjon | Erstatter<br>01.02.02 | Dokumentnavn<br>Arb 1071 Krom<br>og ytterbium | Side<br>4/5 |

- Hvis du kommer borti probearmen på autosampler må den restartes (av/på knapp) på instrumentet.
- Hvis det er mye dråper i spraykammer må dette vaskes. Det kan legges i kongevann o/n.
- Standards: om kaliberingskurven 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)

## 9. Referanser:

(1) Austreng, E. Storebakken, T., Thomassen, M. Refstie, S., Tomassen, Y., 2000, *Aquaculture*, 188, 65-78.

(2) Reis, P., Valente, L., Almeida, M., 2008, *Food Chemistry*, 108:3, 1094-1098.

---

| BIOVIT/NMBU                              |                                         |                        |          |                       |                                               | ARB         |
|------------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|----------|-----------------------|-----------------------------------------------|-------------|
| Utarbeidet av<br>Elin Follaug<br>Johnsen | Godkjent<br>Hanne<br>Kolsrud<br>Hustoft | Gjelder fra<br>08 2018 | Revisjon | Erstatter<br>01.02.02 | Dokumentnavn<br>Arb 1071 Krom<br>og ytterbium | Side<br>5/5 |