

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

STANOVENÍ P, Ca, Mg, K A Na METODOU ICP-OES

1 Účel a rozsah

Postup je určen pro stanovení fosforu, vápníku, hořčíku, draslíku a sodíku v mineralizátech vzorků rostlinného materiálu připravených podle postupů č. 40020.1 Mineralizace směsí kyseliny sírové, peroxidu vodíku a selenu, 40022.1 Mineralizace kyselinou sírovou (katalytické působení selenu a mědi), 40024.1 Mineralizace podle Kjeldahla s použitím selenu a kyseliny salicylové, 40030.1 Mineralizace kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku a 40032.1 Mineralizace v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem. Je možné použít i mineralizaci podle postupu č. 40034.1 Mineralizace na suché cestě, ale takto připravené mineralizáty je nezbytné před měřením naředit.

Poznámky

- Tento postup byl ověřen pro navážku 1 g vzorku převedeného po mineralizaci do 100 ml objemu roztoku. Mineralizáty vzorků se měří po desetinásobném ředění. Při použití jiného postupu mineralizace je třeba mineralizát vzorku vhodně naředit při zachování shodné matrice vzorků a kalibračních standardů.*

2 Princip

Aerosol vzorku se proudem argonu přivádí do argon-argonového plazmatu, ve kterém vlivem vysoké teploty dojde k termické excitaci a ionizaci prvků. Při jejich přechodu do stavů s nižší energií dochází k vyzáření charakteristických kvant, která odpovídají záření o určité vlnové délce. Koncentrace prvku ve vzorku se stanoví měřením intenzity záření na vhodné linii stanovovaného prvku, získaná data se vyhodnotí metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- Kyseliny pro modelování matrice standardních roztoků podle použitého mineralizačního resp. extrakčního postupu.
- Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
- Základní standardní roztoky jednotlivých prvků Ca, K, Mg, Na a P o koncentraci 1000 mg/l (např. Analytika s.r.o. Praha).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

4 Pomocný pracovní roztok Na.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku Na (3) a obsah baňky se doplní vodou (5) po značku.

5 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený pneumatickým zmlžovačem a zvlhčovačem argonu.
- 2 Dilutor nebo vhodná dávkovací pipeta pro ředění mineralizátů vzorků.

Poznámky

- 2 *Zvlhčovač argonu není pro měření nezbytný, ale významně snižuje zanášení nebulizéru.*

5 Postup

Při měření se obvykle vychází z podmínek doporučených výrobcem přístroje. Pro každý přístroj je třeba optimalizovat zejména průtoky jednotlivých plynů, výkon plazmy, vlnové délky, optimální výšku pozorování, odečet pozadí apod. Všechny tyto parametry mohou významným způsobem ovlivnit míru možných interferencí. Pro daný přístroj s určitým geometrickým uspořádáním plazmatu a určitým rozlišením monochromátoru je nezbytné také ověřit správnost stanovení analýzou referenčních materiálů, případně mineralizátů vzorků z mezilaboratorních porovnávacích zkoušek. Podmínky měření uvedené v tabulkách 1 a 2 jsou příklady nastavení ICP-OES spektrometru pro dva typy simultánních přístrojů s radiálním uspořádáním plazmatu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

Tabulka 1. Podmínky měření pro přístroj iCAP 6300 Thermo s radiálním uspořádáním plazmatu – příklad nastavení.

Typ zmlžovače	Meinhard
Tlak Ar na zmlžovači	0,12 MPa
Průtok přídavného Ar	0,5 l/min
Průtok chladicího Ar	12 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	50 ot/min
Promývací čas vzorku	20 s
Integrace signálu v UV oblasti	5 s
Integrace signálu ve VIS oblasti	5 s
Výkon plazmy	1150 W
Hadička pro vzorek	Tygon orange/white
Hadička pro odpad	Tygon white/white

Tabulka 2. Podmínky měření pro přístroj Spectro Arcos SOP s radiálním uspořádáním plazmatu – příklad nastavení.

Nebuliser	Cross flow
Nebuliser flow Ar	0,8 l/min
Cooling gas Ar	14,0 l/min
Add flow Ar	0,3 l/min
Auxiliary gas Ar	1,0 l/min
Plasma power	1350 W

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

5.1 Vlnové délky a korekce pozadí

Spektrometr snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar s měřením pozadí v jejich okolí.

Výběr pixelů pro odečet signálu lze softwarově měnit, stejně jako polohu pro odečet pozadí, která se řídí možnými interferencemi ve spektru vzorku a především samotným vzhledem píku analytu a jeho okolí. Pro každý prvek je potřeba upravit polohu pixelů pro odečet analytu a pozadí jak pro kalibrační standardy, tak pro reálné vzorky.

Teprve po nastavení odečtu pixelů se provede kalibrace a mohou se měřit reálné vzorky. Odečet pozadí musí být zvolen tak, aby spektrální čára analytu byla co nejméně ovlivněna čarami jiných prvků a aby byla zároveň dostatečně účinně provedena korekce pozadí. Vybrané vlnové délky pro měření prvků uvádí tabulka 3.

**Tabulka 3. Vybrané vlnové délky pro měření sledovaných prvků na ICP-OES
(I – atomová čára prvku, II – iontová čára prvku).**

Prvek	Vlnová délka (nm)	
	I.	II.
Vápník	422,673	183,801
Draslík	766,491	
	769,896	
Hořčík	285,213	279,553
Sodík	589,592	
Fosfor	177,495	
	178,287	
	214,914	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

5.2 Standardní roztoky a kalibrace

Pro všechny prvky stanovované tímto postupem (fosfor, vápník, hořčík, draslík a sodík) se připraví směsné kalibrační standardní roztoky. Jejich přehled uvádí tabulka 4. Uvedený postup je platný pro metodu mineralizace vzorků rostlinného materiálu na mokré cestě směsí kyseliny sírové, peroxidu vodíku a selenu (postup přípravy kyselin pro modelování matrice je uveden v mineralizačním postupu č. 40020.1).

Příprava směsných kalibračních standardních roztoků

MASTDHIGH: Do 200ml odměrné baňky se pipetuje postupně po 20 ml základních standardních roztoků Ca a K o koncentraci 1000 mg/l (3). Dále se pipetuje postupně po 10 ml základních standardních roztoků Mg a P o koncentraci 1000 mg/l (3). Do téže odměrné baňky se nakonec pipetuje 20 ml pomocného standardního roztoku Na (4). Dále se přidá potřebné množství příslušné kyseliny pro modelování matrice vzorků (10 ml 10 × ředěné mineralizační směsi kyseliny sírové a selenu) a baňka se doplní vodou (5) po značku.

MASTD2, MASTD1: Do dvou 100ml odměrných baněk se pipetuje 50 ml a 20 ml standardního roztoku MASTDHIGH. Dále se přidá potřebné množství příslušné kyseliny pro modelování matrice vzorků (5 ml 10 × ředěné mineralizační směsi kyseliny sírové a selenu) a baňka se doplní vodou (5) po značku.

MASTDLOW (nulový bod kalibrační křivky): Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 5 ml 10 × ředěné mineralizační směsi kyseliny sírové a selenu pro modelování matrice vzorků a baňka se doplní vodou (5) po značku.

Tabulka 4. Směsné kalibrační standardní roztoky (mg/l).

Prvek	MASTDHIGH	MASTD2	MASTD1	MASTDLOW
Ca	100,0	50,0	20,0	0
K	100,0	50,0	20,0	0
Mg	50,0	25,0	10,0	0
Na	10,0	5,0	2,0	0
P	50,0	25,0	10,0	0

Poznámky

- 3 Pro přípravu kalibračních roztoků lze použít i jiné komerčně dodávané směsné kalibrační standardy a rozsah kalibračních křivek přizpůsobit měřeným parametrům a očekávaným obsahům analytů.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

5.3 Příprava vzorků

V tabulce 4 jsou uvedeny koncentrace kalibračních standardů pro P, Ca, Mg, K a Na. Vzorky se měří po předchozím desetinásobném zředění mineralizátu resp. extraktu vzorku. Pro větší série měřených vzorků se doporučuje ředění vzorku s použitím dilutoru. Do zkumavek o vhodném objemu se za pomoci dilutoru (případně vhodných dávkovacích pipet) dává 0,5 ml mineralizátu vzorku a 4,5 ml vody (5). Po důkladném promíchání jsou vzorky připraveny k měření.

5.4 Postup měření

Vzorky se měří za podmínek stabilizovaných teplotních poměrů spektrometru, tj. podle doporučení výrobce asi hodinu po zapálení plazmy a dostatečném propláchnutí optické dráhy argonem. Měření vychází z optimalizované metody a dále se postupuje podle návodu k použití přístroje a dle doporučení výrobce.

5.5 Kalibrační křivky

Průběh kalibračních křivek pro Ca, Mg, K, Na a P je téměř vždy lineární. Při stanovení sodíku a draslíku je někdy průběh křivek komplikovaný a je lépe kalibrační body proložit křivkou druhého řádu.

Poznámky

- 4 V mineralizátech je možné stanovit i mangan, železo, hliník, bor, měď a zinek. Tyto prvky je možné stanovit současně s měřením prvků uvedených v tomto postupu po doplnění kalibračních roztoků o tyto prvky.
- 5 Při použití postupu č. 40032.1 se vychází z navážky přibližně (0,25 – 0,3) g vzorku, který se po mineralizaci převede do 25ml odměrné baňky. Při použití mikrovlnné mineralizace vzorků se obvykle používají minerální kyseliny o vysoké čistotě, připravené např. podvarovou destilací, vzhledem k možnosti využít měření mikroelementů v tomtéž mineralizátu.

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Koncentrace analytu v roztoku zkušební vzorku a v roztoku slepého pokusu vypočítá vyhodnocovací program přístroje z kalibrační rovnice. Výsledný obsah prvku ve vzorku se vypočte podle vztahu

$$X = (C_V - C_B) \times V \times F \times 0,1/m$$

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40090.1 – Stanovení P, Ca, Mg, K a Na metodou ICP-OES	Revize	0

kde

- X obsah prvku vyjádřený v %,
 C_V koncentrace příslušného prvku v extraktu v mg/l odečtená z kalibračního grafu,
 C_B koncentrace příslušného prvku v mg/l v roztoku slepého pokusu,
m hmotnost navážky vzorku v g,
F faktor ředění,
V celkový objem filtrátu nebo extraktu v l.

7 Literatura

- 1 Sommer L. a kolektiv: Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech. (Academia Praha 1992).
- 2 Zbiral J.: Analýza mineralizátů rostlin na přístroji JY-24. Část I. (Závěrečná zpráva vývojového úkolu. SKZÚZ Brno. 1994).
- 3 Thermo Electron Corporation: Návod k obsluze spektrometru iCAP 6300 a aplikační literatura k přístroji.
- 4 Černohorský, T., Jandera, P.: Atomová spektroskopie, Univerzita Pardubice, 1997.