

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40140.1 – Stanovení molybdenu metodou ETA-AAS	Revize	0

STANOVENÍ MOLYBDENU METODOU ETA-AAS

1 Účel a rozsah

Postup je vhodný pro stanovení molybdenu v mineralizátech rostlinných materiálů zpracovaných podle postupu 40034.1 Mineralizace na suché cestě, případně podle postupů 40030.1 Mineralizace kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku nebo 40032.1 Mineralizace v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem.

Poznámky

- 1 *Uvedený postup je určen pro mineralizáty s výslednou maticí 2M kyselinou dusičnou. Při použití jiné matrice je třeba především zajistit dodržení pH při extrakci v rozmezí 3,5 – 6,5. Při nižším pH není extrakce molybdenu kvantitativní.*

2 Princip

Molybden tvoří s 8-hydroxychinolinem komplex, který se z roztoku mineralizátu rostlinného materiálu po úpravě pH extrahuje chloroformem. Obsah molybdenu v extraktu se stanovuje atomovou absorpční spektrofotometrií s elektrotermickou atomizací s použitím korekce nespecifické absorpce.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Roztok 8-hydroxychinolinu v chloroformu.
Příprava: 11,03 g 8-hydroxychinolinu se rozpustí asi ve 100 ml chloroformu a po převedení do 250ml odměrné baňky se doplní chloroformem po značku. Roztok se uchovává v tmavé lahvi při 5 °C.
- 2 Citronanový tlumivý roztok.
Příprava: 52,5 g monohydrátu kyseliny citronové se rozpustí asi ve 250 ml vody (9) a převede do 1000ml odměrné baňky. Do téže baňky se převede 200 ml roztoku hydroxidu sodného (3) a obsah baňky se doplní po značku vodou (9). pH roztoku je 3,9.
- 3 Roztok hydroxidu sodného pro přípravu tlumivého roztoku.
Příprava: 20 g hydroxidu sodného se rozpustí ve 200 ml vody (9).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40140.1 – Stanovení molybdenu metodou ETA-AAS	Revize	0

- 4 Kyselina dusičná zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 4 \text{ mol/l}$.

Příprava: 284 ml koncentrované kyseliny dusičné se opatrně přidává k asi 500 ml vody (9). Roztok se převede do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování se doplní po značku.

- 5 Pomocné činidlo chlorid železitý-dvojsodná sůl kyseliny etylendiaminotetraoctové.

Příprava: 14,52 g hexahydrátu chloridu železitého se rozpustí asi ve 100 ml vody (9) a převede do 500ml odměrné baňky. Do této odměrné baňky se přidá roztok 18,62 g dvojsodné soli kyseliny etylendiaminotetraoctové v asi 350 ml vody (9) a baňka se doplní po značku.

Protože chlorid železitý je zpravidla znečištěn stopami molybdenu, je třeba takto získaný roztok ještě přechistit následujícím způsobem: (200 – 250) ml pomocného činidla se převede do 500ml dělicí nálevky, přidá se asi 25 ml roztoku benzoinoximu v chloroformu (6) a intenzivně se extrahuje asi 5 min. Stopy molybdenu přejdou do organické fáze, která se oddělí a s vodnou fází se přechistění opakuje ještě jednou s dalším přídatkem 25 ml roztoku benzoinoximu (6). Přechistěný roztok je třeba chránit před světlem.

- 6 Roztok benzoinoximu, $c = 0,1 \text{ \%, m/V}$.

Příprava: 0,1 g benzoinoximu (kupron) se rozpustí ve 100 ml chloroformu.

- 7 Roztok hydroxidu sodného, $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ mol/l}$.

Příprava: 40 g hydroxidu sodného se rozpustí ve 100 ml vody (9).

- 8 Argon nebo dusík čistoty nejméně 4,8 .

- 9 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).

- 10 Základní standardní roztok molybdenu o koncentraci 1000 mg/l. Je vhodné použít komerčně dodávaný roztok od ověřeného výrobce.

- 11 Pracovní standardní roztok molybdenu o koncentraci 1 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 1000 μl základního standardního roztoku molybdenu (10) a baňka se doplní vodou (9) po značku. Z takto připraveného roztoku se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml, přidá se 50 ml zředěné kyseliny dusičné (4) a baňka se doplní vodou (9) po značku.

4 **Přístroje a pomůcky**

- 1 Atomový absorpční spektrofotometr, který umožňuje korekci na nescifickou absorpci s elektrotermickým atomizátorem.
- 2 Pyrolytické grafitové kyvety.
- 3 Horizontální třepačka, 140 kmitů/min, amplituda 4 cm.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40140.1 – Stanovení molybdenu metodou ETA-AAS	Revize	0

- 4 Dilutor nebo vhodná dávkovací pipeta.
- 5 Odstředivka, 3500 ot/min.
- 6 Analytické váhy, přesnost 0,001 g.

5 Postup

5.1 Příprava roztoků pro kalibrační křivku

Do 50ml odměrných baněk se dávkuje (0; 5; 10) ml pracovního standardní roztoku (11) a 25 ml roztoku kyseliny dusičné (4). Baňky se doplní po značku vodou (9). Výsledná koncentrace kyseliny dusičné v roztocích je 2 mol/l. Koncentrace molybdenu v roztocích je (0; 0,1; 0,2) mg/l.

5.2 Extrakce vzorků a standardních roztoků

Do vhodných uzavíratelných plastových nádobek (objem 50 ml až 150 ml) se postupně dávkuje 1 ml mineralizátu, roztoku kalibrační křivky nebo slepého pokusu, dále se přidá 1 ml vody (9), 360 µl roztoku hydroxidu sodného (7), 8 ml tlumivého roztoku (2), 2 ml pomocného činidla (5) a 5 ml roztoku 8-hydroxychinolinu v chloroformu (1). V pevně uzavřených nádobkách se vzorky, standardy a slepé pokusy extrahují 60 min na horizontální třepačce při asi 140 kmitech/min a amplitudě 4 cm. Po ukončení extrakce a oddělení fází (t.j. asi po 5 min) se spodní organická fáze převede (např. pomocí injekční stříkačky s pevnou kapilárou nebo jiným vhodným způsobem) do skleněných lékovek, které se ihned uzavřou. Provádějí se vždy dvě paralelní stanovení každého bodu kalibrační křivky, slepého pokusu i vzorku. Výsledky se vyhodnocují metodou kalibrační křivky.

Poznámky

- 2 *Bez přidavku chloridu železitého není extrakce molybdenu kvantitativní. Tento vliv byl experimentálně ověřen, ale jednoznačné vysvětlení chemismu dosud neexistuje.*
- 3 *Extrakty v lékovkách se uchovávají v chladu nejdéle 4 dny.*
- 4 *Pokud nedojde k oddělení fází působením gravitace, je třeba použít odstředivku. Pro dokonalé oddělení fází stačí obvykle odstředování 3 min při 3500 ot/min.*
- 5 *Protože kapacita přidávaného tlumivého roztoku není pro potřebné vyrovnání pH na hodnotu vhodnou pro extrakci dostatečná, přidává se pro neutralizaci kyseliny dusičné roztok hydroxidu sodného (7).*

5.3 Příklad nastavení přístroje

Pro měření se používá rezonanční čára molybdenu 313,3 nm vymezená štěrbinou o optické šířce (0,30 – 0,5) nm, molybdenová výbojka s dutou katodou se žhaví proudem 10 mA. Doba integrace signálu je 2 s. Integruje se plocha signálu. Jako ochranný plyn se používá argon (8), lze však použít i dusík. Dávkuje se do předehřáté kyvety 85 °C (hot inject). Cyklus tepelného zpracování vzorku uvádí tabulka 1.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40140.1 – Stanovení molybdenu metodou ETA-AAS	Revize	0

Tabulka 1. Teplotní program grafitového atomizátoru (GTA-96, Varian).

Krok	Teplota (°C)	Čas (s)	Argon (l/min)	Signál
1	70	15	3	
2	120	5	3	
3	500	25	3	
4	800	5	3	
5	800	5	3	
6	2500	0,9	0	ANO
7	2500	2	0	ANO
8	2600	1	3	

Poznámky

- 6 *Na začátku a na konci měření je třeba změřit signál bez nadávkování (paměť kyvety). Při vysoké hodnotě paměti kyvety je třeba kyvetu vyměnit. Na začátku měření se také zjišťuje signál slepých pokusů.*
- 7 *Pro stanovení běžných obsahů molybdenu není zpravidla nutné pro konstrukci kalibrační křivky používat standard 0,2 mg/l.*
- 8 *Extrakce je kvantitativní nejméně do obsahu 20 mg molybdenu na 1000 g analytické sušiny rostlinného materiálu. Při vyšším obsahu molybdenu v mineralizátu než je rozsah kalibrační křivky je možné extrakt ředit chloroformem.*
- 9 *Kvalita povrchu grafitových kyvet se v průběhu měření mění. Je tedy třeba často rekalibrovat. Velmi vhodný je způsob měření, kdy se měří dva vzorky, rekalibrační standard, opět dva vzorky, atd. Tím se dosáhne toho, že každý vzorek je měřený buď těsně před nebo těsně po rekalibračním standardu. Tento postup zaručí maximální spolehlivost výsledků i na kyvetách horší kvality. Při použití velmi kvalitních kyvet je možné množství vzorků měřených mezi jednotlivými rekalibracemi až ztrojnásobit.*
- 10 *Proces tepelného zpracování v kyvetě je třeba zahájit ihned po nadávkování. To platí především pro přístroje, které neumožňují nástřik do předem vyhřáté grafitové pece. Při delším kontaktu chloroformu se stěnou grafitové kyvety dochází pravděpodobně tvorbou lamelárních sloučenin k celkovému narušení kyvety a často k jejímu úplnému znehodnocení.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – analýza rostlinného materiálu	Vydání	3
	40140.1 – Stanovení molybdenu metodou ETA-AAS	Revize	0

- 11 *Údaje uvedené pro nastavení přístroje jsou pouze orientační a platí pro přístroj SpectrAA 300 s kyvetou GTA-96. Při použití jiných přístrojů je nastavení závislé na doporučení výrobce a je třeba celý postup ověřit.*

6 Literatura

- 1 Zbíral, J. 1992. Determination of Molybdenum in Hot-Water Soil Extracts. Influence of pH and Available Iron on the Molybdenum Content. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 23(7-8), 817-825.