

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture

JEDNOTNÉ PRACOVNÍ POSTUPY

ANALÝZA PŮD II

Jiří Zbíral a kol.

Brno 2019

Copyright © ÚKZÚZ, Národní referenční laboratoř, Jiří Zbíral a kol., 2019.

Vydání čtvrté, rozšířené a přepracované.

Příručka neprošla jazykovou úpravou.

Kopírování publikace nebo její části je možné pouze s písemným souhlasem autorů a ředitele NRL ÚKZÚZ.

ÚKZÚZ ani autoři nepřebírají jakoukoliv odpovědnost za újmu nebo škodu způsobenou aplikací (správnou nebo chybnou) uvedených postupů.

OBSAH

ÚVOD	5
TECHNICKÉ POZNÁMKY	8
STANOVENÍ MIKROELEMENTŮ	10
EXTRAKČNÍ ROZTOK DTPA-TEA (LINDSAY - NORVELL)	11
PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA.....	12
ANALÝZA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA METODOU FAAS	14
ANALÝZA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA METODOU ICP-OES	17
EXTRAKCE PŮDY VODOU ZA VARU (PODLE BERGERA A TRUOGA).....	20
PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU VODOU ZA VARU	21
STANOVENÍ BORU SPEKTROFOTOMETRICKY AZOMETHINEM-H.....	22
STANOVENÍ BORU METODOU ICP-OES	26
STANOVENÍ MOLYBDENU VE VODNÝCH EXTRAKTECH METODOU AAS-ETA.....	28
EXTRAKČNÍ ROZTOK AO-OA	32
PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU AO-OA	33
STANOVENÍ MOLYBDENU METODOU EXTRAKČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE	34
STANOVENÍ MOLYBDENU V EXTRAKTU AO-OA METODOU AAS-ETA	38
STANOVENÍ DALŠÍCH STOPOVÝCH PRVKŮ	43
ROZKLAD SMĚSÍ MINERÁLNÍCH KYSELIN.....	46
ROZKLAD TAVENÍM S BORITANEM LITNÝM.....	49
ROZKLAD LUČAVKOU KRÁLOVSKOU	51
EXTRAKCE PŮD 2M KYSELINOU DUSIČNOU	55
EXTRAKCE PŮD 1M ROZTOKEM DUSIČNANU AMONNÉHO.....	56
EXTRAKCE PŮD VYSOCE ČISTOU DEMINERALIZOVANOU VODOU	58
EXTRAKCE PŮD 0,43M KYSELINOU DUSIČNOU	60
STANOVENÍ MĚDI, ZINKU, NIKLU, KOBALTU, OLOVA A KADMIA METODOU FAAS	62
STANOVENÍ BERYLIA, CHROMU A HLINÍKU METODOU FAAS	66
STANOVENÍ VÁPNIKU A HOŘČÍKU METODOU FAAS.....	70
STANOVENÍ ŽELEZA A MANGANU METODOU FAAS.....	73
STANOVENÍ SODÍKU A DRASLÍKU METODOU FAAS.....	76
STANOVENÍ ARSENU, ANTIMONU A SELENU METODOU HG-AAS.....	78
STANOVENÍ RTUTI NA PŘÍSTROI AMA-254	83
STANOVENÍ RTUTI METODOU CV AAS	86
STANOVENÍ ARSENU, ANTIMONU A SELENU METODOU AAS-ETA.....	88
ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU ICP-OES.....	92
ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU AAS-ETA.....	99
ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU ICP-MS.....	105
STANOVENÍ FLUORU IONTOVĚ SELEKTIVNÍ ELEKTRODOU	110
STANOVENÍ ORGANICKÝCH CIZORODÝCH LÁTEK.....	113
STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH).....	115
STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) METODOU HPLC	116
STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) METODOU GC-MS(/MS)	122
STANOVENÍ POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) METODOU GC-MS/MS.....	133

OBSAH

STANOVENÍ ORGANOCHLOROVÝCH PESTICIDŮ (OCP) METODOU GC-MS/MS.....	146
STANOVENÍ POLYBROMOVANÝCH DIFENYLETHERŮ (PBDE) METODOU GC-MS/MS.....	159
STANOVENÍ ADSORBOVATELNÝCH A CELKOVÝCH ORGANICKY VÁZANÝCH HALOGENŮ (AOX A TOX)	170
STANOVENÍ EXTRAHOVATELNÝCH ORGANICKY VÁZANÝCH HALOGENŮ (EOX).....	175
STANOVENÍ OBSAHU UHLOVODÍKŮ C ₁₀ – C ₄₀ METODOU GC/FID	179
STANOVENÍ OBSAHU PERFLUOROALKYLOVÝCH SLOUČENIN (PFAS) METODOU LC-MS/MS	184
POUŽITÉ ZKRATKY	189
MOŽNÉ ZDROJE KONTAMINACE	193
PŘÍPRAVA VODY PRO ANALYTICKÉ ÚČELY	195
FILTRAČNÍ PAPIŘY.....	199
MANIPULACE SE ZVLÁŠTĚ NEBEZPEČNÝMI KYSELINAMI	203
KRITERIA HODNOCENÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ.....	205
PROGRAMY ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI (MEZILABORATORNÍ POROVNÁVACÍ ZKOUŠKY).....	209

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Úvod	Vydání	4
		Revize	0

ÚVOD

Tato metodická příručka je určena pro laboratoře analyzující půdy a příbuzné materiály a je součástí souboru Jednotných pracovních postupů ÚKZÚZ. Oproti předchozímu vydání z roku 2011 byla příručka podstatně přepracována. Byly vynechány některé zastaralé nebo nepoužívané postupy a nově byly zahrnuty některé moderní metody a metody, které požaduje nová legislativa (především Vyhláška č. 153/2016 Sb., O stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy). Většina uvedených metod a postupů se buď rutinně využívá nebo byla alespoň ověřena na jednotlivých pracovištích ústavu. Celá řada zde uvedených metod je normována jak na mezinárodní (ISO), tak evropské (EN) úrovni a u jednotlivých postupů bylo k těmto normám přihlédnuto a často byly doplněny o poznatky z jejich praktické aplikace. V současné době probíhá zpracování evropských norem, které jsou určeny kromě půd i pro kaly a upravený bioodpad (zpracovává technický výbor CEN/TC 444).

První díl metodických postupů pro analýzy půd a příbuzných materiálů, vydaný v přepracovaném vydání v roce 2016, je věnován přípravě vzorků pro analýzu, stanovení základních půdních parametrů (pH, vodivost, obsah uhličitánů, úprava půdních vzorků), stanovení základních živin (K, P, Mg, Ca) v různých extraktech. Dále obsahuje metody stanovení kationtové výměnné kapacity a fyzikálních vlastností půd.

V tomto druhém dílu je zpracováno stanovení nutričně významných mikroelementů, cizorodých anorganických látek a organických polutantů. Na rozdíl od předchozího vydání není zahrnuto stanovení kyanidů, které se v laboratořích analyzujících půdy prakticky neprovádí. Pro zájemce o toto stanovení jsou dostupné normy ISO/TR 19588, ISO 17380 a ISO 11262.

Stanovení uhlíku, dusíku a síry, mikrobiologických vlastností půd a ekotoxikologické metody jsou uvedeny ve třetím díle Jednotných pracovních postupů – Analýza půd.

V samostatných publikacích uvedených v základní citované literatuře byly zpracovány některé teoretické základy týkající se extrakce půd a porovnání významných extrakčních postupů (7) stejně jako postupy pro stanovení mikroelementů a vybraných rizikových prvků v extraktu Mehlich 3 (8).

Pro zajištění externí kontroly kvality pořádá NRL ÚKZÚZ mezilaboratorní porovnávací zkoušky, které zahrnují i některá stanovení uvedená v této příručce. Stručný popis MPZ ÚKZÚZ je uveden v závěru této knihy a je také dostupný na internetových stránkách ústavu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Úvod	Vydání	4
		Revize	0

Doplňky a změny JPP ÚKZÚZ jsou publikovány prostřednictvím Bulletinu NRL, kde je také zveřejněna většina závěrečných zpráv vývojových úkolů (www.ukzuz.cz).

Platnost třetího vydání JPP Analýza půd II končí dnem počátku platnosti tohoto nového vydání.

Literatura

Zde jsou uvedeny pouze základní knižní literární prameny, které byly použity při sestavení této příručky. V jednotlivých kapitolách jsou pak uvedeny významné odkazy, které se týkají pouze příslušné kapitoly.

1. V.G.J. Houba, J.J. van der Lee, I. Novozamsky, I. Walinga: Soil Analysis Procedures. Soil and Plant Analysis, part 5. Syllabus, Department of Soil Science and Plant Nutrition, Wageningen Agricultural University, 1989.
2. Malcolm E. Sumner (ed). Handbook of Soil Science. CRC Press LLC, 2000.
3. J. Benton Jones, Jr.: Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, U.S.A. 2000.
4. K.I. Peveril, L.A. Sparrow, D.J. Reuter: Soil Analysis, an interpretation manual. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 1999.
5. ANONYM. Soil Analysis Handbook of Reference Methods. CRC Press LLC, 2000.
6. G. Hoffmann: Methodenbuch. Band I. Die Untersuchung von Böden. VDLUFA-Verlag, Darmstadt. Vierte Auflage, 1997.
7. J. Zbíral a kol: Porovnání extrakčních postupů pro stanovení základních živin v půdách ČR. ÚKZÚZ Brno, 2001.
8. J. Zbíral, M. Smatanová a kol.: Agrochemické zkoušení zemědělských půd. Nové výzvy a nové možnosti. ÚKZÚZ Brno, 2019. ISBN 978-80-7401-168-9.
9. B. J. Alloway (ed.). Heavy Metals in Soils. Second edition. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996.
10. A. Kabata-Pendias, H. Pendias: Trace metals in Soils and Plants. Third edition. CRC Press, Boca Raton, 2001.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Úvod	Vydání	4
		Revize	0

11. G. E. Rayment, D. J. Lyons: Soil Chemical Methods – Australasia. CSIRO Publishing, Collingwood, Australia, 2011.
12. K. A. Smith, M. S. Cresser (eds.): Soil and Environmental Analysis – Modern Instrumental Techniques. 3. ed., Marcel Dekker, Inc., 2004.
13. Rattan Lal. Encyclopedia of Soil Science. Marcel Dekker, Inc. New York, 2002.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Technické poznámky	Vydání	4
		Revize	0

TECHNICKÉ POZNÁMKY

Pro zlepšení čitelnosti textu a pro celkovou přehlednost postupů byl vytvořen souhrn následujících předpokladů, které nejsou uváděny v konkrétních pracovních postupech.

1. Všechny laboratorní postupy uvedené v této příručce předpokládají dodržování zásad vyplývajících z aplikace správné laboratorní praxe resp. normy ČSN EN ISO/IEC 17025 a provozního řádu laboratoří.
2. Používá se běžně dostupné přístrojové vybavení a laboratorní sklo (vařiče, vodní a pískové lázně, chemické a odměrné sklo, atd.). Použití zvláštního vybavení je výslovně uvedeno u popisu metody.
3. Chemikálie jsou čistoty pro analýzu nebo vyšší, pokud není uvedeno jinak.
4. Nádoby se před použitím řádně vyčistí s ohledem na typ analýzy. Speciální požadavky na vyčištění skla jsou uvedeny u konkrétního postupu.
5. Pod pojmem voda se rozumí voda demineralizovaná (deionizovaná nebo destilovaná s vodivostí $< 5 \mu\text{S/cm}$), pokud není uvedeno jinak. Jakost vody pro analytické účely definuje ČSN EN ISO 3696 z roku 1994. Pokud je uvedeno pouze, že se doplní po značku, rozumí se, že se doplňuje po značku demineralizovanou vodou resp. používaným rozpouštědlem.
6. Přístroje používané pro stanovení se nastavují a optimalizují v souladu s požadavky a doporučeními výrobce.
7. Klasické pipety mohou být v mnoha případech nahrazeny jednoobjemovými nebo nastavitelnými ručními pipetami, vhodnými dávkovači nebo dilutorem. V tomto případě je nezbytné pravidelně ověřovat správnost funkce těchto zařízení.
8. Uvedené navážky chemikálií a objemy připravovaných roztoků je možné měnit podle aktuální potřeby laboratoře pouze při zachování shodných metrologických podmínek. Snížení navážky půdy a současné snížení objemu extrakčního činidla se zpravidla nedoporučuje. Důvodem je zvýšení variability nehomogenitou standardně upravené půdy. Využití jiné třepačky resp. jiné frekvence třepání může být kritické především při použití slabých extrakčních činidel. Tento vliv je vždy třeba ověřit pro celý rozsah půdních typů a stanovovaných koncentrací. Každou úpravu oproti jednotnému postupu je nutné uvádět v protokolu o zkoušce.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Technické poznámky	Vydání	4
		Revize	0

9. Při ředění vzorků, standardních roztoků a činidel se doporučuje, aby zředovací poměr byl maximálně padesát.
10. Při přípravě standardních roztoků se přednostně používají jednoobjemové kalibrované pipety. Dělené kalibrované pipety se mohou použít pouze v nezbytných případech.
11. Obsah nádob se po přidavku jednotlivých roztoků vždy promíchá. Pečlivé promíchání je nezbytné především po doplnění odměrných baněk po značku nebo po konečném nadávkování všech činidel před dalším zpracováním.
12. Při veškeré práci se dodržují obecné zásady pro bezpečnou práci v laboratořích (ČSN 018003). Při práci s půdními vzorky (zvláště vzorky odebranými z kontaminovaných ploch) je třeba zabránit přímému kontaktu pracovníka se vzorkem. Je vhodné použít inertní rukavice a respirátor. Během manipulace se vzorkem se účinným větráním a odsáváním především ve fázi přípravy vzorků zajistí, aby nedocházelo ke kontaminaci laboratoře.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Stanovení mikroelementů	Vydání	4
		Revize	0

STANOVENÍ MIKROELEMENTŮ

Pojmem mikroelementy se zde rozumějí ty stopové prvky, které jsou významné z hlediska výživy rostlin, případně zvířat a člověka. Jedná se především o měď, zinek, mangan, železo, bor a molybden. V této kapitole jsou popsány postupy, kterými se stanovuje obsah těchto prvků pro potřeby výživy rostlin, tedy jako přístupné nebo využitelné obsahy. V prvním díle metodik pro analýzy půd bylo uvedeno při popisu některých univerzálních extrakčních postupů, že tyto extrakty je možné využít nejen pro stanovení základních živin, ale i pro stanovení některých mikroelementů. Jedná se především o extrakční roztok podle Mehlicha 3, postup 30065.1 a 30074.1, které jsou uvedeny v prvním dílu JPP Analýza půd a v revidované podobě na www.ukzuz.cz nebo v přehledné publikaci o metodě Mehlich 3 (5).

Metoda DTPA-TEA pro stanovení mědi, zinku, manganu a železa, extrakce horkou vodou podle Bergera a Truoga pro stanovení boru a extrakce podle Grigga pro stanovení molybdeny byly využity pro komplexní inventarizaci obsahu mikroelementů v půdách ČR.

Tlak na snižování nákladů na analýzy vede ke stále snaze maximálně využít univerzální extrakční roztoky a rozšiřovat jejich použitelnost. Jde především o využití metody Mehlich 3 pro stanovení mědi, zinku, železa, manganu i boru. Výsledky vývojových úkolů, které tyto problémy řeší, jsou publikovány v Bulletinu NRL ÚKZÚZ (dostupné na www.ukzuz.cz v sekci věnované NRL).

Literatura

1. J. Zbíral, P. Němec, 2009. Comparison of some soil extractants for determination of boron. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 40(1), 96-105.
2. J. Zbíral a kol.: Analýza půd I., ÚKZÚZ Brno, 2016.
3. J. Zbíral, P. Němec, 1998. Porovnání některých metod pro stanovení mědi, zinku, manganu a železa v půdách. Comparison of some methods for determination of copper, zinc, manganese and iron in soils. Rostl. Výr., 44 (10), 443-447.
4. Zbíral, J., 2016. Determination of plant-available micronutrients by the Mehlich 3 soil extractant – a proposal of critical values. Plant Soil Environ. Vol. 62, No. 11: 527–531. doi: 10.17221/564/2016-PSE
5. Jiří Zbíral, Michaela Smatanová a kol.: Agrochemické zkoušení zemědělských půd – Nové výzvy a možnosti. ÚKZÚZ Brno, 2019. ISBN 978-80-7401-168-9.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Extrakční roztok DTPA – TEA (Lindsay – Norvell)	Revize	0

EXTRAKČNÍ ROZTOK DTPA-TEA (LINDSAY - NORVELL)

Uvedený extrakční postup byl vyvinut pro stanovení mědi, zinku, manganu a železa. Mírně alkalická reakce extrakčního činidla a přítomnost iontů vápníku omezuje rozpouštění karbonátů a tím se snižuje i extrakce okludovaných mikroelementů, které jsou pro rostliny nepřístupné. DTPA je výborným chelatačním činidlem i v mírně alkalickém prostředí a oproti jiným činidlům je DTPA zvláště vhodná pro stanovení přístupného manganu a železa.

Postupně byla použitelnost tohoto extrakčního roztoku rozšiřována na různé půdně klimatické oblasti a prvky. V normě ISO 14870 je použití tohoto extrakčního roztoku rozšířeno i o stanovení olova, kadmia, niklu a chromu. Extrakce je ukončena dříve než se dosáhne rovnovážného stavu, a proto je nezbytné velmi pečlivě dodržovat předepsané podmínky, především teplotu a dobu extrakce. Jakákoliv změna podmínek při extrakci může vést ke značným rozdílům ve výsledcích. Významnou roli má i intenzita protřepávání, použití horizontální nebo rotační třepačky, geometrie extrakčních nádobek atd. Podrobné ověření všech faktorů je shrnuto v citované literatuře.

Literatura

1. M. Studený, J. Kylarová, J. Zbíral: Stanovení mědi, zinku, manganu a železa v DTPA výluhu půdy. *Agrochémia* 27, 7-1987, 217-218.
2. W.L. Lindsay, W.A. Norvell: Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42, 421-428. 1978.
3. ISO 14870. Extraction of cadmium, chromium, copper, iron, manganese, nickel, lead and zinc by DTPA. International Organization for Standardization, 2001.
4. P.N. Soltanpour, A. Khan, W.L. Lindsay: Factors affecting DTPA-extractable Zn, Fe, Mn and Cu. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 7: 797-821. 1976.
5. J. Zbíral, P. Němec: Porovnání některých metod pro stanovení mědi, zinku, manganu a železa v půdách. Comparison of some methods for determination of copper, zinc, manganese and iron in soils. *Rostl. Výr.*, 44 (10), 1998, 443-447.
6. Kulikov, E.: Determination of elemental nutrients in DTPA extracted soil using the Agilent 5110 SVDV ICP-OES. Agilent Technologies, Inc. 2016.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30280.1 Příprava půdního extraktu DTPA - TEA	Revize	0

PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA

1. Rozsah použití

Postup je vhodný pro všechny půdní vzorky upravené podle postupu 30010.1. Kromě nutričně významných mikroelementů – Cu, Zn, Mn, Fe a případně Co – je metoda použitelná i pro stanovení některých půdních kontaminantů – Cd, Pb, Ni a Cr.

2. Princip

Extrakce probíhá při pH 7,3, teplotě 20 °C a při poměru (půda : extrakční roztok) = (1 : 2) (m/V) za přesně definovaných podmínek extrakce. Půda se extrahuje roztokem, který obsahuje 0,1 mol/l triethanolaminu, 0,01 mol/l chloridu vápenatého a 0,005 mol/l DTPA.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka s amplitudou (30 ± 3) ot/min, umístěná v prostředí o teplotě (20 ± 2) °C.
2. Dávkovací zařízení na $(20 \pm 0,1)$ ml nebo kalibrovaná pipeta 20 ml.
3. Filtrační papíry kvantitativní, husté (např. Filtrak 389 nebo ekvivalentní).

4. Chemikálie

1. Kyselina chlorovodíková, HCl, zředěná, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

Příprava: 85 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ($\rho = 1,18 \text{ g/cm}^3$) se opatrně přidá do asi 500 ml demineralizované vody a po vytemperování se objem upraví na 1000 ml.

2. Extrakční roztok DTPA-TEA.

Příprava: 14,92 g triethanolaminu $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$, 1,967 g kyseliny diethylentriaminopentaoctové (DTPA, Chelaton 5, Titriplex V) $[\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}]$ a 1,47 g dihydrátu chloridu vápenatého $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se postupně rozpustí asi ve 200 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem upraví demineralizovanou vodou asi na 900 ml a roztokem kyseliny chlorovodíkové (1) se upraví pH roztoku na $(7,30 \pm 0,05)$. Po úpravě pH se objem doplní na 1000 ml demineralizovanou vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30280.1 Příprava půdního extraktu DTPA - TEA	Revize	0

5. Pracovní postup

Do nádobek o objemu 100 ml a o průměru asi 45 mm se naváží ($10 \pm 0,01$) g upraveného vzorku a přidá se ($20 \pm 0,2$) ml extrakčního roztoku (2). Uzavřené nádobky se upevní na rotační třepačku a extrakce probíhá 120 min při (30 ± 3) ot/min. Teplota v průběhu extrakce musí být v rozmezí (20 ± 2) °C. Ihned po ukončení extrakce se suspenze filtruje přes suchý filtr do vhodných uzavíratelných nádobek. První podíl filtrátu se odstraní. Extrakt se uchovává v uzavřených nádobkách v chladu a temnu nejdéle 48 h. V každé serii vzorků se zařazují nejméně dva slepé pokusy.

Poznámky

- Extrakční roztok je stálý asi 3 měsíce. Každý týden je třeba kontrolovat jeho pH, protože i malá změna pH může podstatně ovlivnit extrakci železa a manganu.*
- Použití gumových zátek je nepřijatelné (kontaminace především zinkem). Je vhodné použít plastové zátky z nebarevných plastů.*
- Teplota extrakčního roztoku před extrakcí musí být upravena na (20 ± 2) °C.*
- Na filtr se slévá pouze tekutý podíl nad usazeninou. Doba filtrace je asi 1 h a objem filtrátu je asi (8 – 12) ml. Je vhodné filtrát jímát do zkumavek o objemu 15 ml. Místo filtrace se může odstředít 10 min při minimálně $rcf = 3000$ g.*
- Vzhledem k relativně velkému extrakčnímu poměru (malý objem extrakčního roztoku vzhledem k navážce půdy) může být u půd s vysokým podílem organické hmoty obtížné získat dostatečný objem extraktu pro následnou analýzu.*
- Před použitím nové šarže chemikálií nebo filtračních papírů je nezbytné nejprve ověřit jejich čistotu.*
- Pro dokonalé oddělení pevné fáze se doporučuje filtrace přes membránový filtr o velikosti pórů $0,45 \mu m$.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30281.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou FAAS	Revize	0

ANALÝZA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA METODOU FAAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro půdní extrakty podle 30280.1 a je platný pro všechny varianty extrakce. V extraktu se stanovuje obsah Cu, Zn, Mn, Fe a případně Co, Pb, Cd, Cr, Ni.

2. Princip

Obsah mědi, zinku, manganu, železa a případně kobaltu, olova, kadmia, chromu a niklu se stanoví metodou plamenové atomové absorpční spektrofotometrie.

Poznámky

1. *Pro stanovení olova a kadmia je možné zvýšit citlivost stanovení použitím křemenného koncentrátoru atomů (ACT, STAT apod.).*
2. *Pro stanovení kobaltu, olova, kadmia, niklu a v některých případech i chromu je často nutné použít citlivější metodu stanovení (ETA-AAS, ICP-MS).*
3. *V této kapitole je uvedeno pouze stanovení mědi, zinku, železa a manganu, které je nejběžnější. Při požadavku na stanovení kobaltu, olova, kadmia, chromu a niklu je třeba ověřit koncentrační rozsah jednotlivých prvků v extraktech a podle něj připravit kalibrační křivky.*
4. *Zpravidla se používají komerčně dodávané základní standardní roztoky.*

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s příslušnými výbojkami a s možností korekce nespecifické absorpce.

4. Chemikálie

1. Zásobní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml.
2. Extrakční roztok DTPA-TEA použitý pro extrakci vzorků (30280.1).
3. Acetylen čistý pro FAAS.
4. Vzduch tlakový pro FAAS.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30281.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou FAAS	Revize	0

Pracovní postup

Kalibrační standardní roztoky: Ze zásobních standardních roztoků jednotlivých prvků o koncentraci 1000 mg/l (1) - **S1** se desetinásobným zředěním extrakčním roztokem (2) připraví pracovní standardní roztoky o koncentraci 100 mg/l - **S2** a dalším desetinásobným zředěním roztoku S2 extrakčním roztokem (2) se pro měď a zinek připraví pracovní standardní roztoky o koncentraci 10 mg/l - **S3**. Přípravu kalibračních standardních roztoků pro měď a zinek uvádí tabulka 1 a pro mangan a železo tabulka 2.

Tabulka 1. Příprava kalibračních standardních roztoků pro měď a zinek.

Poř. č. kal. roztoku	1 ^A	2	3 ^B	4	5	6	7 ^C
Pracovní standardní roztok	–	S3	S2	S2	S2	S2	S1
Objem odm. baňky (ml)	250	100	250	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	5	5	5	10	20	5
Koncentrace (mg/l)	0,00	0,50	2,00	5,00	10,00	20,00	50,00

Tabulka 2. Příprava kalibračních standardních roztoků pro železo a mangan.

Poř. č. kal. roztoku	1 ^A	2	3	4 ^B	5	6
Pracovní standardní roztok	–	S2	S2	S1	S1	S1
Objem odm. baňky (ml)	250	100	100	500	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	10	20	25	10	15
Koncentrace (mg/l)	0,0	10,0	20,0	50,0	100,0	150,0

Legenda: A – nulový bod kalibrační křivky (používá se při rekalibraci); B – rekalibrační standardní roztok; C – tento kalibrační roztok se připravuje pouze pro zinek.

Kalibrační křivky: Pro stanovení mědi a zinku se použije kalibrační křivka (0,00; 0,50; 2,00; 5,00; 10,00) mg/l. Přístroj se rekalibruje na kalibrační roztok 0,00 mg/l a 2,00 mg/l. Při měření mědi je šterbina hořáku v optické ose přístroje. Stanovení zinku je velmi citlivé a hořák je třeba natočit tak, aby absorbance rekalibračního standardu byla

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30281.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou FAAS	Revize	0

přibližně 0,2 (natočení asi na 15° vzhledem k optické ose přístroje). Pro měření vyšších obsahů těchto prvků se použijí vyšší koncentrace kalibračních standardních roztoků uvedených v tabulce 1. Hořák se v tomto případě natočí podle potřeby tak, aby hodnota absorpce byla maximálně 1,2 až 1,6.

Pro stanovení manganu a železa se použije kalibrační křivka (0,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0) mg/l a pro vyšší obsahy i kalibrační standardní roztok 150 mg/l. Přístroj se rekalibruje na kalibrační roztok 0,0 mg/l a 50,0 mg/l.

Podmínky měření: Měď a zinek se měří na hlavních rezonančních liniích těchto prvků – Cu 324,8 nm; Zn 213,9 nm – v mírně oxidačním plameni acetylen-vzduch. Při stanovení zinku je nezbytné použít korektor nespecifické absorpce.

Pro měření manganu a železa se využívají méně citlivé absorpční linie – Mn 403,1 nm; Fe 372,0 nm a využívá se stechiometrický plamen acetylen-vzduch.

Ostatní parametry se nastavují v souladu s návodem k použití přístroje. Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů.

Poznámky

5. *Extrakty, které přesahují rozsah kalibrační křivky, se ředí extrakčním roztokem.*

5. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

- T obsah prvku ve vzorku naváženého k extrakci (mg/kg),
X změřená koncentrace prvku v extraktu (mg/l),
m navážka vzorku pro extrakci (g),
V objem extrakčního činidla pro extrakci (ml),

Pro uvedený postup: $T = X \times 2$

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30282.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou ICP-OES	Revize	0

ANALÝZA PŮDNÍHO EXTRAKTU DTPA-TEA METODOU ICP-OES

1. Rozsah použití

Postup je určen pro půdní extrakty podle 30280.1 a je platný pro všechny varianty extrakce.

2. Princip

Aerosol vzorku se proudem argonu přivede 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. Měřením intenzity záření na vhodné linii stanovovaného prvku se po odečtení emise pozadí stanoví koncentrace tohoto prvku ve vzorku metodou kalibrační křivky.

3. Přístroje a pomůcky

- Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem.

Poznámky

- Zmlžovač se může zanášet díky poměrně vysokému obsahu rozpuštěných látek v půdních extraktech, proto je vhodné omezit toto zanášení použitím zvlhčovače argonu, který se k přístrojům ICP-OES běžně dodává..*

4. Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková, HCl, zředěná, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

Příprava: 85 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ($\rho = 1,18 \text{ g/cm}^3$) se opatrně přidá do asi 500 ml demineralizované vody a po vytemperování se objem upraví na 1000 ml.

- Extrakční roztok DTPA-TEA o dvojnásobné koncentraci pro modelování matrice standardních roztoků.

Příprava: 14,92 g triethanolaminu $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$, 1,967 g kyseliny diethylentriaminopentaové (DTPA, Chelaton 5, Titriplex V) $[\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}]$ a 1,47 g dihydrátu chloridu vápenatého $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se postupně rozpustí asi ve 100 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem upraví demineralizovanou vodou asi na 450 ml a roztokem kyseliny chlorovodíkové (1) se upraví pH roztoku na $(7,30 \pm 0,05)$. Po úpravě pH se objem doplní na 500 ml demineralizovanou vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30282.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou ICP-OES	Revize	0

3. Extrakční roztok DTPA - TEA připravený podle postupu 30280.1.
4. Argon, čistota 4.2 nebo vyšší.
5. Zásobní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml.

Poznámky

2. *Zpravidla se používají komerčně dodávané základní standardní roztoky.*

5. Pracovní postup

Podmínky měření a nastavení přístroje se upraví podle konkrétního přístroje a podle pokynů výrobce.

Příklad podmínek měření: průtok zmlžovačem 0,55 l/min, přídavný plyn 0,5 l/min, otáčky pumpy 130 ot/min (2,40 ml/min), hadička Tygon-orange, promývací čas 30 s, integrace ve viditelné oblasti 5 s, v UV oblasti 20 s. Výkon 1 650 W.

Vlnové délky: Stanovení se provádí při vlnových délkách Fe – 259,940 nm; Mn – 257,610 nm; Zn – 213,856 nm a Cu – 324,750 nm.

Standardní roztoky

Připravují se směsné standardní roztoky. Přehled kalibračních roztoků a koncentrací pro jednotlivé prvky uvádí tabulka 1.

STDDTPAH: Do 250ml odměrné baňky se pipetuje 2,5 ml základního standardního roztoku mědi (1 mg/ml), 5 ml základního standardního roztoku zinku (1 mg/ml), 50 ml základního standardního roztoku železa (1 mg/ml) a 50 ml základního standardního roztoku manganu. Do baňky se dále přidá 125 ml extrakčního roztoku o dvojnásobné koncentraci (2) a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou.

DTPA4, DTPA3, DTPA2: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (50; 20; 10) ml standardního roztoku STDDTPAH a baňky se doplní po značku extrakčním roztokem (3).

DTPA1: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml standardního roztoku DTPA4 a baňka se doplní po značku extrakčním roztokem (3).

STDDTPAL: Nulový bod kalibrační křivky. Používá se extrakční roztok (3).

Kalibrace a měření: Vzorky se měří po kalibraci přístroje na body uvedené v tabulce 2 přímo v extraktech bez další úpravy.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30282.1 Analýza půdního extraktu DTPA – TEA metodou ICP-OES	Revize	0

Tabulka 1. Směsné standardní roztoky (mg/l) pro kalibraci.

	Fe	Mn	Cu	Zn
STDDTPAH	200	200	10	20
DTPA4	100	100	5	10
DTPA3	40	40	2	4
DTPA2	20	20	1	2
DTPA1	10	10	0.5	1
STDDTPAL	0	0	0	0

3. *Jednotlivé přístroje se od sebe mohou významně lišit, a proto je třeba postup měření optimalizovat pro konkrétní přístroj. Jde zejména o určení polohy odečtu nespecifického signálu a ověření rušivých vlivů způsobených poměrně vysokou koncentrací vápníku a dalších prvků v měřených roztocích.*

6. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

T obsah prvku ve vzorku naváženého k extrakci (mg/kg),

X změřená koncentrace prvku v extraktu (mg/l),

m navážka vzorku pro extrakci (g),

V objem extrakčního činidla pro extrakci (ml).

Pro uvedený postup: $T = X \times 2$

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Extrakce půdy vodou za varu (podle Bergera a Truoga)	Revize	0

EXTRAKCE PŮDY VODOU ZA VARU (PODLE BERGERA A TRUOGA)

Tento extrakční postup byl vyvinut pro stanovení boru a je prakticky celosvětově využíván především vzhledem k jeho dobré korelaci s příjmem boru rostlinami. Pro stanovení boru současně s ostatními prvky se využívají tzv. univerzální extrakční roztoky (Mehlich 3, AB-DTPA, CAT, případně modifikovaný postup DTPA). V literatuře se uvádí poměrně značné množství variant extrakčního postupu, které se liší především dobou extrakce, teplotou vody při extrakci, způsobem potlačení pění a koncovým stanovením. Postup uvedený v této příručce byl podrobně ověřen a rutinně využíván několik let v rámci průzkumu půd ČR na obsah mikroelementů. Pro koncové stanovení boru jsou uvedeny dva postupy, které jsou, pokud jde o výsledky stanovení, prakticky shodné.

Stanovení molybdenu v extraktu vodou za varu je analyticky náročné, ale z hlediska interpretace výsledků je tento extrakční postup podstatně vhodnější než běžně používaný extrakční roztok podle Grigga. Podrobnější diskuse je obsažena v citované literatuře.

Literatura

1. K.C. Berger, E. Truog: Boron deficiencies as revealed by plant and soil tests. J. Am. Soc. Agron. 32, 1940, 297-301.
2. Anonym: Soil Analysis. Handbook of reference methods. (chapter 8). CRC Press Boca Raton, 1999.
3. J. Zbírál: Determination of Molybdenum in Hot-Water Soil Extracts. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23 (7-8), 817-825, 1992.
4. L.M. Shuman, et al: Comparison of Mehlich-1 and Mehlich-3 Extractable Soil Boron with Hot-Water Extractable Boron. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23 (1-2), 1-14, 1992.
5. J. Zbírál, P. Němec: Comparison of some soil extractants for determination of boron. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 40(1), 96-105, 2009.
6. Zbírál, J., 2016. Determination of plant-available micronutrients by the Mehlich 3 soil extractant – a proposal of critical values. Plant Soil Environ. Vol. 62, No. 11: 527–531. doi: 10.17221/564/2016-PSE.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30290.1 Příprava půdního extraktu vodou za varu	Revize	0

PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU VODOU ZA VARU

1. Rozsah použití

Postup je vhodný pro všechny půdy upravené podle 30010.1 a je určen především pro stanovení boru a případně molybdenu.

2. Princip

Vzorek půdy se extrahuje definovaným způsobem vodou za varu. Extrakt se použije pro další analýzu.

3. Přístroje a pomůcky

1. Křemenné Erlenmeyerovy baňky se zábrusem a zpětným chladičem.
2. Vaříč nebo topná deska.
3. Kvantitativní filtr hustý s hydrofobním okrajem

4. Chemikálie

1. Demineralizovaná voda s ověřeným zanedbatelným obsahem stanovovaných prvků.

Poznámky

1. *Pokud se vzorky špatně filtrují, je možné přidat několik kapek 10% roztoku heptahydrátu síranu hořečnatého, který způsobí sbalení koloidních částic suspenze a usnadňuje filtraci.*
2. *V některých laboratořích, kde se tento postup rutinně využívá, nahradili drahé křemenné baňky aparaturou sestavenou z vyšších plechovek (varná nádoba i chladič). Aparatura vypadá sice nevzhledně, ale je velmi dobře použitelná díky dobré tepelné vodivosti, nulové kontaminaci borem a nerozbitnosti.*

5. Pracovní postup

Do 200ml Erlenmeyerovy baňky se naváží ($10 \pm 0,01$) g upraveného vzorku. Přidá se ($50 \pm 0,2$) ml horké demineralizované vody (1). Baňka se uzavře zpětným chladičem a extrahuje se 5 min od začátku varu. Ještě horká suspenze se filtruje přes hustý kvantitativní filtr s hydrofobním okrajem. Stejným způsobem se v každé sérii zpracovávají alespoň tři slepé pokusy.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30291.1 Stanovení boru spektrofotometricky azomethinem-H	Revize	0

STANOVENÍ BORU SPEKTROFOTOMETRICKY AZOMETHINEM-H

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro extrakty půd podle 30290.1.

2. Princip

Bor reaguje s azomethinem-H (4-hydroxy-5(salicylidenamino)-2,7 naftalen disulfonová kyselina) za vzniku oranžovo-žlutého komplexu při pH 4 až 5. Zbarvené organické látky se odstraní oxidací manganistanem. Rušící ionty jsou maskovány přidavkem komplexujícího činidla (EDTA). Rušivý vliv barevného komplexu Fe^{3+} - EDTA a nadbytek manganistanu se odstraní přidavkem kyseliny askorbové.

3. Přístroje a pomůcky

1. Ruční dávkovač nebo vhodný dilutor.
2. Dávkovací pipeta.
3. pH-metr se sadou nastavovacích pufrů.
4. Spektrofotometr pro měření ve viditelné oblasti světla s 10mm kyvetami.
5. Vodní lázeň.

4. Chemikálie

1. Roztok azomethinu-H.

Příprava: Do 150ml kádinky se naváží 4,500 g azomethinu-H a do druhé 150ml kádinky se naváží 10,0 g kyseliny askorbové. Po rozpuštění v asi 80 ml demineralizované vody se oba roztoky kvantitativně převedou do 500ml odměrné baňky a baňka se doplní po značku. Roztok je možné uchovávat v chladu a temnu až dva týdny.

2. Tlumivý a maskovací roztok.

Příprava: Do 1500ml kádinky se odměří asi 100 ml demineralizované vody a za chlazení a míchání se přidává 377 ml koncentrované kyseliny octové a následně 470 ml vodného roztoku amoniaku. Ještě před vychladnutím roztoku se přidá 10,0 g EDTA (dvojsodná sůl kyseliny ethylendiaminotetraoctové). Hodnota pH se upraví koncentrovanou kyselinou sírovou na $(5,2 \pm 0,2)$ a objem se doplní na 1000 ml. Spotřeba koncentrované kyseliny sírové je asi 50 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30291.1 Stanovení boru spektrofotometricky azomethinem-H	Revize	0

3. Reakční činidlo.

Příprava: Potřebné množství činidla se připraví smísením roztoku azomethinu H (1) a tlumivého a maskovacího činidla (2) v poměru (1 + 1) (V/V). Činidlo se připravuje těsně před použitím.

4. Roztok kyseliny sírové $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 3 \text{ mol/l}$.

Příprava: Do 1000ml kádinky se odměří asi 600 ml demineralizované vody a za stálého míchání a chlazení se přidá 160 ml koncentrované kyseliny sírové ($\rho = 1,84 \text{ g/cm}^3$). Po vytemperování se doplní na objem 1000 ml.

5. Roztok manganistanu draselného $c(\text{KMnO}_4) = 0,04 \text{ mol/l}$.

Příprava: 6,40 g manganistanu draselného se rozpustí v asi 200 ml demineralizované vody a objem roztoku se upraví na 1000 ml.

6. Oxidační činidlo:

Příprava: Roztok kyseliny sírové (4) a roztok manganistanu draselného (5) se smíchají v poměru (1 + 1) (V/V). Roztok se připravuje těsně před použitím.

7. Kyselina askorbová, 10% roztok (m/V).

Příprava: 10 g kyseliny askorbové se rozpustí v asi 75 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem upraví na 100 ml.

8. Základní roztok boru, $c(\text{B}) = 100 \text{ mg/l}$.

Příprava: 0,5715 g kyseliny borité H_3BO_3 se rozpustí v asi 150 ml demineralizované vody. Roztok se kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování se baňka doplní po značku. Je možné použít komerčně dodávaný roztok o této koncentraci.

9. Pracovní standardní roztok boru S1 a S2.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml základního roztoku boru (8) a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou. Koncentrace boru v pracovním standardním roztoku S1 je 10 mg/l. Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml roztoku S1 a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou. Koncentrace boru v pracovním standardním roztoku S2 je 1 mg/l.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30291.1 Stanovení boru spektrofotometricky azomethinem-H	Revize	0

Poznámky

1. Pokud dojde k vysrážení EDTA z roztoku, dekantuje se čirý roztok a zbylá sraženina se rozpustí v malém množství horké demineralizované vody. Po vytemperování roztoku na laboratorní teplotu se přidá k původnímu roztoku. Malá změna objemu nemá vliv na další postup. K vyloučení EDTA z roztoku dochází, když pH roztoku překročí hodnotu 5,2.
2. Místo kyseliny octové a vodného roztoku amoniaku je možné použít 500 g octanu amonného.

5. Pracovní postup

Kalibrační křivka: Do 100ml odměrných baněk se podle tabulky 1 pipetují pracovní standardní roztoky S1 a S2 a baňky se doplní po značku demineralizovanou vodou. Kalibrační křivka se pro měření připravuje způsobem shodným s úpravou extraktu. Pro každý bod kalibrační křivky se provedou dvě paralelní stanovení.

Tabulka 1. Příprava roztoků pro kalibrační křivku.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6
Pracovní standardní roztok	–	S2	S2	S2	S2	S1
Pipetovaný objem (ml)	–	10	15	20	30	5
Koncentrace (mg/l)	0,0	0,10	0,15	0,20	0,30	0,50

Postup měření: Do zkumavek z vhodného plastu nebo křemenného skla o objemu (6 – 15) ml se dávkuje 3 ml půdního extraktu, standardního roztoku nebo slepého pokusu a 0,25 ml oxidačního činidla (6). Zkumavky se po promíchání zahřívají na vroucí vodní lázni 10 min. Po ochlazení se přidá 0,25 ml roztoku kyseliny askorbové (7) a obsah zkumavek se pečlivě promíchá. Po úplném odbarvení se přidají 2 ml reakčního činidla (3). Po promíchání se roztoky nechají stát při laboratorní teplotě 120 min. Měří se při vlnové délce procházejícího světla 420 nm v kyvetě o optické délce 10 mm. Absorbanční nula přístroje se nastaví na demineralizovanou vodu. Z naměřených hodnot absorbancí se metodou kalibrační křivky určí koncentrace boru v extraktech.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30291.1 Stanovení boru spektrofotometricky azomethinem-H	Revize	0

Poznámky

3. *Odměrné a jiné laboratorní sklo musí být před použitím louženo ve zředěné kyselině dusičné, aby se co nejvíce omezilo uvolňování boru do připravovaných roztoků.*
4. *Samotné činidlo také absorbuje při vlnové délce 420 nm a signál nulového bodu kalibrační křivky se odečítá. Nastavením přístrojové nuly na demineralizovanou vodu je možné kontrolovat absorbanci nulového bodu kalibrační křivky, která je pro danou šarži chemikálii poměrně stálá. Její nárůst znamená buď kontaminaci borem nebo částečný rozklad činidla.*
5. *Každá chemikálie i připravené roztoky musejí být testovány na obsah boru.*
6. *Extrakt půdy musí být zcela čirý.*

6. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

- T obsah prvku ve vzorku naváženého k extrakci (mg/kg),
X změřená koncentrace prvku v extraktu (mg/l),
m navážka vzorku pro extrakci (g),
V objem extrakčního činidla pro extrakci (ml).

Pro uvedený postup: $T = X \times 5$

Literatura

1. B. Wolf: Improvement of the Azomethine-H method for the determination of boron. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 5 (1974) 39-44.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30292.1 Stanovení boru metodou ICP-OES	Revize	0

STANOVENÍ BORU METODOU ICP-OES

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro extrakty půd podle 30290.1.

2. Princip

Aerosol extraktu se proudem argonu přivede do argon-argonového plazmatu, ve kterém vlivem vysoké teploty dojde k termické excitaci a ionizaci atomů. Při jejich přechodu do stavů s nižší energií dochází k vyzařování charakteristických kvant, která odpovídají záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity záření na vhodné linii boru se stanoví koncentrace tohoto prvku v extraktu metodou kalibrační křivky.

3. Přístroje a pomůcky

1. Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem.

4. Chemikálie

1. Základní roztok boru, $c(B) = 100 \text{ mg/l}$.

Příprava: 0,5715 g kyseliny borité H_3BO_3 se rozpustí v asi 150 ml demineralizované vody. Roztok se kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování se baňka doplní po značku. Je možné použít komerčně dodávaný roztok o této koncentraci.

2. Pracovní standardní roztok boru S1 a S2.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml základního roztoku boru (1) a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou. Koncentrace boru v pracovním standardním roztoku S1 je 10 mg/l. Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml roztoku S1 a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou. Koncentrace boru v pracovním standardním roztoku S2 je 1 mg/l.

3. Argon, čistota 4.2 nebo vyšší.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30292.1 Stanovení boru metodou ICP-OES	Revize	0

5. Pracovní postup

Příklad nastavení podmínek měření: přístroj se nastaví podle pokynů výrobce. Vlnová délka 249,773 nm.

Kalibrace a měření: Do 100ml odměrných baněk se podle tabulky 1 pipetují pracovní standardní roztoky S1 a S2 a baňky se doplní po značku demineralizovanou vodou. Průběh kalibrační křivky je lineární a její rozsah je dostatečný pro analyzované půdní extrakty.

Tabulka 1. Příprava roztoků pro kalibrační křivku.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	4	6	7
Označení standardu	STDLOW	BOR1	BOR2	BOR3	STDBH
Pracovní standardní roztok	-	S2	S2	S1	S1
Pipetovaný objem (ml)	-	10	25	5	10
Koncentrace (mg/l)	0,0	0,10	0,25	0,50	1,00

Poznámky

- Měření pouze jednoho prvku metodou ICP-OES je zpravidla ekonomicky málo výhodné, ale vzhledem k náročnosti spektrofotometrického postupu na chemikálie a pracovní čas je stanovení boru tímto postupem vhodné.*
- Vybraná čára pro stanovení boru je ze zkoumaných čar nejcitlivější a je vhodná i pro jiné půdní extrakty, ve kterých je zpravidla vyšší spektrální rušení než v extraktech vodou za varu. Tato čára je i při měření roztoků s komplikovanou maticí nejméně spektrálně rušena.*

6. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

T obsah prvku ve vzorku naváženého k extrakci (mg/kg),

X změřená koncentrace prvku v extraktu (mg/l),

m navážka vzorku pro extrakci (g),

V objem extrakčního činidla pro extrakci (ml).

Pro uvedený postup: $T = X \times 5$.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30293.1 Stanovení molybdenu ve vodných extraktech metodou AAS-ETA	Vydání	4
		Revize	0

STANOVENÍ MOLYBDENU VE VODNÝCH EXTRAKTECH METODOU AAS-ETA

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro extrakty půd podle 30290.

2. Princip

Molybden tvoří při pH 1,6 až 5,6 s 8-hydroxychinolinem komplex $\text{MoO}_2(\text{C}_9\text{H}_6\text{ON})_2$. Tento komplex se extrahuje chloroformem. Při extrakci dojde současně k odstranění nejzávažnějších rušivých prvků a k zakoncentrování molybdenu. V chloroformovém extraktu se potom stanoví koncentrace molybdenu atomovou absorpční spektrofotometrií s elektrotermickou atomizací.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s elektrotermickým atomizátorem.
2. Pyrolytické grafitové kyvety.
3. Horizontální třepačka.
4. Laboratorní odstředivka.
5. Plastové 50ml nádoby pro extrakci do chloroformu.

Poznámky

1. *Pro extrakci do chloroformu se nejlépe osvědčily plastové nádoby s kapátkovým a šroubovým uzávěrem.*

4. Chemikálie

1. Extrakční činidlo.

Příprava: 11,0 g 8-hydroxychinolinu $\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}$ se rozpustí v asi 100 ml chloroformu, převede do 250ml odměrné baňky a doplní po značku chloroformem.

2. Octanový tlumivý roztok, $c = 1 \text{ mol/l}$.

Příprava: 61 ml koncentrované kyseliny octové CH_3COOH se přidá do asi 500 ml vody v 1000ml odměrné baňce a po vytemperování se baňka doplní

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30293.1 Stanovení molybdenu ve vodných extraktech metodou AAS-ETA	Revize	0

po značku. 40 g hydroxidu sodného NaOH se rozpustí ve 400 ml demineralizované vody a převede do 1000ml odměrné baňky. Po vytemperování se odměrná baňka doplní po značku demineralizovanou vodou. V 2000ml kádince se k 1000 ml roztoku kyseliny octové přidá 200 ml roztoku hydroxidu sodného a pH se upraví na $(3,90 \pm 0,2)$.

- Hydroxid sodný, NaOH, 2% roztok (m/V).

Příprava: 2,0 g hydroxidu sodného se rozpustí v asi 25 ml demineralizované vody a objem roztoku se upraví na 100 ml.

- Zásobní standardní roztok molybdenu, $c(\text{Mo}) = 1 \text{ mg/ml}$.

Příprava: 1,5000 g oxidu molybdenového MoO_3 se rozpustí v 50 ml roztoku hydroxidu sodného (3), převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku demineralizovanou vodou. Je možné použít komerční standardní roztok o této koncentraci.

- Pracovní standardní roztoky molybdenu SP a S1.

Příprava: 5 ml zásobního standardního roztoku molybdenu (4) se pipetuje do 500ml odměrné baňky a po vytemperování se objem baňky doplní po značku demineralizovanou vodou (SP). Koncentrace molybdenu v tomto roztoku je 10 mg/l. Z tohoto pomocného pracovního roztoku molybdenu se do 500ml odměrné baňky pipetuje 5 ml a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou (S1). Koncentrace molybdenu v pracovním roztoku je 0,10 mg/l.

- Argon čistoty 4.8 nebo vyšší.

5. Pracovní postup

Kalibrační standardní roztoky: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (0,0; 5,0; 10,0) ml pracovního standardního roztoku S1 (5) a baňky se doplní po značku demineralizovanou vodou. Připravené kalibrační standardní roztoky obsahují molybden o koncentraci (0,0; 5,0; 10,0) $\mu\text{g/l}$. Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.

Extrakce molybdenu: Do 50ml plastové nádoby s kapátkovým a šroubovým uzávěrem se postupně pipetuje 10 ml půdního extraktu, slepého pokusu nebo kalibračního standardního roztoku, 2 ml octanového tlumivého roztoku (2) a 2 ml extrakčního činidla (1). Po uzavření se nádoby umístí na horizontální třepačku a při amplitudě 4 cm a frekvenci (140 – 165) kyvů/min se extrahuje 10 min. Po extrakci se nádoby umístí do laboratorní odstředivky a při 3500 ot/min se asi za 1 min oddělí organická a vodná fáze. Nádoby

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30293.1 Stanovení molybdenu ve vodných extraktech metodou AAS-ETA	Revize	0

se opatrně otočí a těžší organická fáze se za využití kapátkového uzávěru převede do 2ml plastových zkumavek, které se pevně uzavřou. Extrakty mohou být skladovány v chladničce po dobu jednoho týdne.

Přístrojové podmínky: Stanovení probíhá na hlavní rezonanční linii molybdenu 313,3 nm vymezené šterbinou o spektrální šířce 0,5 nm s využitím deuteriové korekce nespecifické absorpce. Inertní ochranný plyn argon. Integruje se plocha signálu po dobu 2 s od začátku atomizačního kroku. Dávkuje se 20 µl extraktu do pyrolytické grafitové kyvety bez platformy (atomizace ze stěny kyvety). Příklad teplotního programu elektrotermického atomizátoru je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1. Příklad teplotního programu měření.

Krok	Teplota (°C)	Čas (s)	Průtok ochranného plynu (l/min)	Odečet signálu
1	70	5	3,0	
2	70	20	3,0	
3	120	5	3,0	
4	500	25	3,0	
5	800	5	3,0	
6	800	5	3,0	
7	2500	0,9	0	ANO
8	2500	2	0	ANO
9	2600	1	3,0	

Poznámky

2. Zmenšením objemu extrakčního činidla je možné zvýšit citlivost stanovení, ale za cenu nárůstu chyby stanovení. Jako optimální byl zvolen objem extrakčního činidla 2 ml, jak z hlediska požadované citlivosti, tak i z hlediska dostatečné přesnosti a správnosti stanovení.
3. Ze standardních roztoků i vzorků je molybden extrahován zpravidla již asi po 2 min. Zvolená extrakce v jednom podílu činidla je dostatečná. V prvním podílu činidla se extrahuje více než 80 % celkového obsahu molybdenu, ve druhém podílu pak asi 15 % a ve třetím mezi 2 % až 5 % celkového obsahu.
4. Závislost integrálu plochy absorpance na koncentraci molybdenu je lineární zpravidla až do obsahu odpovídajícímu 50 µg Mo na kg půdy (standard 10 µg/l). Na nové kyvetě je

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30293.1 Stanovení molybdenu ve vodných extraktech metodou AAS-ETA	Revize	0

citlivost vyšší a linearita se snižuje. Mez stanovitelnosti je závislá na stavu pyrolytického povrchu kyvety a pohybuje se mezi (0,5 – 1,5) µg Mo/kg půdy. Obsah molybdenu v extraktech půd vodou za varu je v rozmezí (2 – 150) µg Mo/kg půdy.

5. *Extrakty vzorků, které překročily rozsah kalibrační křivky, se mohou podle potřeby ředit extrakčním roztokem (1).*
6. *Použití korektoru nespecifické absorpce není nezbytné, ale je vhodné, protože změny v kvalitě povrchu grafitové kyvety se projevují i na úrovni nespecifického signálu.*
7. *Je třeba zahájit teplotní program ihned po nadávkování chloroformového extraktu do kyvety. Při delším styku chloroformu s grafitovým povrchem dochází ke tvorbě lamelárních sloučenin a výsledkem může být znehodnocení kyvety. Tento jev se projeví enormním nárůstem nespecifické absorpce.*
8. *Při práci s chloroformem se zachovávají všechny zásady bezpečnosti a ochrany zdraví při práci a požadavky na ochranu životního prostředí.*
9. *Místo argonu je možné jako stínící plyn použít i dusík o čistotě 4.8 nebo vyšší.*

6. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

- T obsah prvku ve vzorku (mg/kg),
X změřená koncentrace prvku v půdním extraktu (mg/l),
m navážka vzorku pro extrakci půdy (g),
V objem extrakčního činidla pro extrakci půdy (ml).

Pro uvedený postup: $T = X \times 5$

Literatura

1. J. Zbíral: Determination of Molybdenum in Hot-Water Soil Extracts. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23 (7-8), 817-825 (1992).
2. J. Zbíral: Vliv půdní kyselosti a obsahu přístupného železa na obsah přístupného molybdenu v půdách. Agrochémia (AGROB) 32, 12 - 1992, 298-299.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Extrakční roztok AO-OA	Vydání	4
		Revize	0

EXTRAKČNÍ ROZTOK AO-OA

Extrakční roztok AO-OA je roztok oxalátu amonného a kyseliny oxalové. Tento extrakční postup původně vyvinul Tamm pro stanovení aktivních forem železa a hliníku, významných pro fixaci fosforu. Později ho Grigg doporučil i pro stanovení rostlinám přístupného molybdenu. Protože korelace mezi příjmem molybdenu rostlinami a jeho obsahem v AO-OA extraktu nebyla uspokojivá, bylo navrženo využití tzv. molybdenového čísla, které zahrnuje kromě stanoveného obsahu molybdenu i hodnotu pH, která zásadním způsobem ovlivňuje příjem molybdenu rostlinami. Molybdenové číslo se rovná součtu výměnného pH/KCl a desetinásobku stanoveného obsahu molybdenu po extrakci AO-OA v mg/kg. I když pozdější studie prokázaly, že ani zavedení molybdenového čísla neřeší problém velmi špatné korelace s příjmem molybdenu rostlinami, je zde tento extrakční roztok a postup uveden především proto, že komplexní průzkum půd ČR na obsah mikroelementů probíhal právě tímto způsobem s vyjádřením výsledků ve formě molybdenového čísla. Tato kapitola uvádí pouze stanovení molybdenu v extraktu AO-OA dvěma rozdílnými analytickými postupy. Pro praktické využití ve výživě rostlin je podstatně vhodnější využití extrakce půdy vodou za horka. Podrobnější diskuse je obsažena v citované literatuře.

Literatura

1. O. Tamm: Eine Methode zur Bestimmung der anorganischen Komponenten des Gelkomplexes im Böden. Mddr.St.Skogsfor. 19, 387-404, 1922.
2. J.Z. Grigg: Determination of available Mo of soils. N. Zealand J. Sci. Technol. A34, 404-412, 1953.
3. J. Zbiral: Determination of Molybdenum in Hot-Water Soil Extracts. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23(7-8), 817-825 (1992)
4. K. Mueller, E. Wurth, D. Witter, K. Ebeling, W. Bergmann: Die Molybdänversorgung der Thüringer Böden und Einfluss einer Molybdändüngung auf Ertrag, Rohrprotein und Mineralstoffgehalt von Luzerne. Albrecht-Thaer-Arch., 8, 353, 1964.
5. J. Zbiral: Stanovení molybdenu ve výluzích půd. Agrochémia (AGROB) 2, 29 (1), 19-22, 1989.
6. J. Zbiral: Vliv půdní kyselosti a obsahu přístupného železa na obsah přístupného molybdenu v půdách. Agrochémia (AGROB) 32, 12 - 1992, 298-299.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30300.1 Příprava půdního extraktu AO - OA	Revize	0

PŘÍPRAVA PŮDNÍHO EXTRAKTU AO-OA

1. Rozsah použití

Postup je vhodný pro všechny půdy upravené podle 30010.1 a je určen především pro stanovení aktivních forem železa a hliníku a pro stanovení molybdenu.

2. Princip

Vzorek půdy se extrahuje definovaným způsobem extrakčním roztokem 0,1M kyseliny oxalové a 0,2M oxalátu amonného při pH 3,30. Extrakt se použije pro další analýzu.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka.

4. Chemikálie

1. Extrakční roztok AO-OA.

Příprava: 12,605 g dihydrátu kyseliny oxalové $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a 24,90 g monohydrátu oxalátu amonného $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v asi 800 ml horké demineralizované vody. Po ochlazení se pH roztoku upraví na hodnotu $(3,3 \pm 0,05)$ přidávkou roztoku kyseliny oxalové nebo vodným roztokem amoniaku. Po úpravě pH se objem roztoku upraví demineralizovanou vodou na 1000 ml.

5. Pracovní postup

Do 500ml Stohmanovy baňky se naváží $(25,0 \pm 0,1)$ g upraveného vzorku půdy, přidá se $(250 \pm 2,5)$ ml extrakčního roztoku (1) a extrahuje se na rotační třepačce 12 h při (40 ± 10) ot/min. Po extrakci se suspenze filtruje přes hustý filtr a čirý extrakt se použije pro další analýzu.

Poznámky

1. Při stanovení molybdenu metodou ETA-AAS je vhodné postup upravit a extrahovat 10,0 g půdy 100 ml extrakčního roztoku.
2. Extrakční postup je možné upravit tak, že obsah baněk se protřepává 1 h, potom se nechá stát přes noc a před filtrací se znovu 1 h protřepává.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30301.1 Stanovení molybdenu metodou extrakční spektrofotometrie	Revize	0

STANOVENÍ MOLYBDENU METODOU EXTRAČNÍ SPEKTROFOTOMETRIE

1. Rozsah použití

Postup je určen pro extrakty půdy AO-OA podle 30300.1. Postup je možné modifikovat i pro stanovení molybdenu v jiných půdních extraktech resp. mineralizátech.

2. Princip

Šestimocný molybden reaguje v kyselém prostředí za přítomnosti redukčního činidla s thiokyanatanem za vzniku oranžově zbarveného komplexního thiokyanatanového aniontu pětímocného molybdenu, který se stanoví spektrofotometricky po extrakci do isoamylalkoholu.

3. Přístroje a pomůcky

1. Muflová pec s regulací teploty (100 – 500) °C.
2. Spektrofotometr s kyvetami o optické délce 10 mm, 20 mm a 50 mm.

4. Chemikálie

1. Zásobní standardní roztok molybdenu, $c(\text{Mo}) = 1 \text{ mg/ml}$.

Příprava: 1,5000 g oxidu molybdenového MoO_3 se rozpustí v 50 ml roztoku hydroxidu sodného (10), převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku demineralizovanou vodou. Je možné použít komerční standardní roztok o této koncentraci.

2. Pracovní standardní roztoky molybdenu SP a S1.

Příprava: 5 ml zásobního standardního roztoku molybdenu (1) se pipetuje do 500ml odměrné baňky a po vytemperování se objem baňky doplní po značku demineralizovanou vodou (SP). Koncentrace molybdenu v tomto roztoku je 10 mg/l. Z tohoto pomocného pracovního roztoku molybdenu se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou (S1). Koncentrace molybdenu v tomto pracovním roztoku je 1,0 mg/l.

3. Kyselina chlorovodíková, HCl , 36%, $c(\text{HCl}) = 11,7 \text{ mol/l}$, $\rho = 1,18 \text{ g/cm}^3$.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30301.1 Stanovení molybdenu metodou extrakční spektrofotometrie	Revize	0

4. Kyselina chlorovodíková, HCl, zředěná, $c(\text{HCl}) = 6 \text{ mol/l}$.
Příprava: 515 ml kyseliny chlorovodíkové (3) se zředí na celkový objem 1000 ml.
5. Chlorid železitý, FeCl_3 , 5% roztok (m/V).
Příprava: 5 g hexahydrátu chloridu železitého $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v asi 80 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem doplní na 100 ml.
6. Dusičnan sodný, NaNO_3 , 40% roztok (m/V).
Příprava: 40 g dusičnanu sodného NaNO_3 se rozpustí v asi 60 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem doplní na 100 ml.
7. Fluorid sodný, NaF, 4% roztok (m/V).
Příprava: 4 g fluoridu sodného NaF se rozpustí v asi 75 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem doplní na 100 ml.
8. Thiokyanatan amonný, NH_4SCN , 10% roztok (m/V).
Příprava: 10 g thiokyanatanu amonného NH_4SCN se rozpustí v asi 75 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se objem doplní na 100 ml.
9. Chlorid cínatý, SnCl_2 , 10% roztok (m/V).
Příprava: 6,5 g kovového cínu se rozpustí ve 100 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (4). Roztok se připravuje vždy čerstvý.
10. Hydroxid sodný, NaOH, 2% roztok (m/V).
Příprava: 2,0 g hydroxidu sodného se rozpustí v asi 25 ml demineralizované vody, po vytemperování se objem roztoku upraví na 100 ml.
11. Isoamylalkohol (3-metyl-1-butanol), $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$.

5. Pracovní postup

Mineralizace extraktů: Půdní extrakty se před vlastním stanovením mineralizují na suché cestě. 100 ml půdního extraktu nebo jiný vhodný objem obsahující maximálně 30 μg molybdenu se pipetuje do porcelánové misky, ve které se na vodní lázni odpaří do sucha. Odparek se potom žihá v muflové peci při teplotě 500 °C. Po ukončení mineralizace se k ochlazenému mineralizátu přidá 15 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (4), obsah se zahřívá na vodní lázni a potom se přefiltruje do 250ml dělicí nálevky.

Filtr se promývá horkou okyselenou vodou (do 100 ml vody se přidá několik kapek

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30301.1 Stanovení molybdenu metodou extrakční spektrofotometrie	Revize	0

koncentrované HCl) a objem filtrátu se doplní na (100 ± 5) ml. V každé sérii se stejným způsobem zpracovávají nejméně dva slepé pokusy.

Kalibrační křivka: Do dělicích nálevek se při očekávaném obsahu molybdenu do 5 µg pipetuje (0; 1,00; 2,00; 5,00) ml pracovního standardního roztoku S1 (2) (1 ml odpovídá 1 µg Mo). Při očekávaném obsahu molybdenu v rozmezí (5 – 30) µg se pipetuje (0; 5,00; 10,00; 20,00; 30,00) ml pracovního standardního roztoku S1 (2). Přidá se 15 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (4), 200 µl roztoku chloridu železitého (5) a objem se upraví na (100 ± 5) ml. Každý bod kalibrační křivky se zpracovává v nejméně dvou paralelních stanoveních.

Tvorba komplexu a extrakce: K obsahu dělicí nálevky s převedeným vzorkem, slepým pokusem nebo kalibračním roztokem se přidají 2 ml roztoku dusičnanu sodného (6), 20 ml roztoku fluoridu sodného (7) a 10 ml roztoku thiokyanatanu amonného (8). Obsah dělicí nálevky se protřepe a nechá se 5 min stát. Potom se přidají 4 ml roztoku chloridu cínatého (9) a po pečlivém protřepání se nechá opět 5 min stát. Po této době se přidá 15 ml isoamylalkoholu (11) a obsah dělicí nálevky se intenzivně protřepává 1 min. Po rozdělení fází se vodná fáze (spodní) odpustí a k organické fázi se přidá 6 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3) a 4 ml roztoku chloridu cínatého (9). Obsah dělicí nálevky se doplní na (100 ± 5) ml demineralizovanou vodou a důkladně se 1 min protřepává. Po oddělení fází se vodná fáze odpustí a organická fáze se filtruje přes suchý filtr do zkumavky, která se ihned pevně uzavře.

Měření: Extrakty se měří při vlnové délce procházejícího světla 465 nm. Přístrojová nula se nastaví na použitý isoamylalkohol. Pro měření se použijí kyvety o optické délce 50 mm pro obsahy do 5 µg Mo. Pro vyšší obsahy se použijí kyvety o optické délce (10 – 20) mm.

Poznámky

3. *Stanovení je velmi citlivé na kvalitu použitých chemikálií, zejména fluoridu amonného a thiokyanatanu amonného. Všechny chemikálie je nutné před použitím kontrolovat na obsah molybdenu.*
4. *Při stanovení v půdách a příbuzných materiálech s nízkým obsahem železa je nutné přidávat roztok chloridu železitého nejen ke kalibračním standardním roztokům, ale i ke vzorkům.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30301.1 Stanovení molybdenu metodou extrakční spektrofotometrie	Revize	0

6. Výpočet

$$T = X / (m \times V_A/V_E)$$

T obsah prvku ve vzorku (mg/kg),

X obsah molybdenu stanovený v objemu extraktu použitém k analýze (μg),

m navážka vzorku pro extrakci půdy (g),

V_E objem extrakčního činidla pro extrakci půdy (ml),

V_A pipetovaný objem půdního extraktu pro stanovení (ml),

Pro uvedený postup (V_E = 250 ml a V_A = 100 ml, m = 25 g): T = X / 10

Literatura

1. M. Malát: Extrakční spektrofotometrie kovů a nekovů. SNTL Praha 1988, str. 204-210.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30302.1 Stanovení molybdenu v extraktu AO-OA metodou AAS-ETA	Revize	0

STANOVENÍ MOLYBDENU V EXTRAKTU AO-OA METODOU AAS-ETA

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro extrakty půd připravené podle postupu 30300.1.

2. Princip

Molybden tvoří s 8-hydroxychinolinem komplex $\text{MoO}_2(\text{C}_9\text{H}_6\text{ON})_2$ při pH 1,6 až 5,6. Tento komplex se extrahuje chloroformem. Pro urychlení tvorby komplexu se přidává nadbytek Fe(III) a pro odstranění rušení se přidává EDTA. Při extrakci dojde současně k odstranění nejzávažnějších rušivých prvků a k zakoncentrování molybdenu. V chloroformovém extraktu se potom stanoví koncentrace molybdenu atomovou absorpční spektrofotometrií s elektrotermickou atomizací.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s elektrotermickým atomizátorem.
2. Pyrolytické grafitové kyvety.
3. Horizontální třepačka.
4. Laboratorní odstředivka.
5. Plastové nádoby o objemu (50 – 75) ml pro extrakci do chloroformu nebo plastové injekční stříkačky o objemu 20 ml.

Poznámky

1. *Pro extrakci do chloroformu se nejlépe osvědčily plastové nádoby s kapátkovým a šroubovým uzávěrem. Nejrychlejší práce však je s jednorázovými plastovými injekčními stříkačkami.*

4. Chemikálie

1. Extrakční činidlo.

Příprava: 11,0 g 8-hydroxychinolinu $\text{C}_9\text{H}_7\text{ON}$ se rozpustí v asi 100 ml chloroformu, převede do 250ml odměrné baňky a doplní po značku chloroformem.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30302.1 Stanovení molybdenu v extraktu AO-OA metodou AAS-ETA	Revize	0

2. Směsné činidlo Fe - EDTA.

Příprava: 14,52 g hexahydrátu chloridu železitého se rozpustí asi ve 100 ml demineralizované vody a převede do 500ml odměrné baňky. Přidá se roztok 18,62 g dvojsodné soli kyseliny etylendiaminotetraoctové v asi 350 ml demineralizované vody a doplní se po značku. Protože chlorid železitý je zpravidla znečištěn stopami molybdenu, je třeba takto získaný roztok ještě přechistit takto: (200 – 250) ml směsného roztoku se převede do děličky o objemu 500 ml, přidá se asi 25 ml roztoku α -benzoinoximu v chloroformu (3) a třepe se asi 5 min. Po dokonalém oddělení fází se pro další práci použije takto přechistěná vodná fáze.

3. 0,1% roztok α -benzoinoximu v chloroformu, (m/V).

Příprava: 0,1 g α -benzoinoximu $C_{14}H_{13}NO_2$ se rozpustí ve 100 ml chloroformu.

4. Hydroxid sodný, NaOH, 2% roztok (m/V).

Příprava: 2,0 g hydroxidu sodného NaOH se rozpustí v asi 25 ml demineralizované vody, po vytemperování se objem roztoku upraví na 100 ml.

5. Zásobní standardní roztok molybdenu, $c(Mo) = 1 \text{ mg/ml}$.

Příprava: 1,5000 g oxidu molybdenového MoO_3 se rozpustí v 50 ml roztoku hydroxidu sodného (4), převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku demineralizovanou vodou. Je vhodné použít komerční standardní roztok o této koncentraci.

6. Pracovní standardní roztoky molybdenu SP a S1.

Příprava: 5 ml zásobního standardního roztoku molybdenu (5) se pipetuje do 500ml odměrné baňky a po vytemperování se objem baňky doplní po značku demineralizovanou vodou (SP). Koncentrace molybdenu v tomto roztoku je 10 mg/l. Z tohoto pomocného pracovního roztoku molybdenu se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml a baňka se doplní po značku extrakčním roztokem (7) (S1). Koncentrace tohoto pracovního roztoku je 1,00 mg/l.

7. Extrakční roztok AO-OA.

Příprava: 12,605 g dihydrátu kyseliny oxalové $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ a 24,90 g monohydrátu oxalátu amonného $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ se rozpustí v asi 800 ml horké demineralizované vody. Po ochlazení se pH roztoku upraví na hodnotu $(3,3 \pm 0,05)$ přidávkem roztoku kyseliny oxalové nebo vodným roztokem amoniaku. Po úpravě pH se objem roztoku upraví demineralizovanou vodou na 1000 ml.

8. Argon čistoty 4.8 nebo vyšší.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30302.1 Stanovení molybdenu v extraktu AO-OA metodou AAS-ETA	Revize	0

Poznámky

- Na přečištění 200 ml až 250 ml směsného činidla (2) se může také použít 25 ml roztoku 8-hydroxychinolinu (1). Tento postup je poněkud méně účinný a extrakci je třeba pro některé šarže použitého chloridu železitého i vícekrát opakovat.
- Místo argonu je možné jako ochranný plyn použít i dusík shodné čistoty.

5. Pracovní postup

Kalibrační standardní roztoky: Do odměrných baněk o objemu 100 ml a 250 ml se pipetuje 5 ml pracovního standardního roztoku molybdenu S1 (6) a baňky se doplní po značku extrakčním roztokem (7). Jako nulový bod kalibrační křivky se použije extrakční roztok AO-OA (7). Připravené kalibrační standardní roztoky obsahují molybden o koncentraci (0,0; 20,0; 50,0) µg/l. Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.

Extrakce molybdenu, varianta A: Do 20ml injekční stříkačky se dává pomocí stupnice stříkačky od značky 3 ml nejprve 10 ml extraktu vzorku, slepého pokusu nebo kalibračního standardního roztoku. Potom se dávkuje 2 ml směsného činidla Fe - EDTA (2) a 5 ml extrakčního činidla (1). Po uzavření špiček injekčních stříkaček kloboučky se extrahuje 60 min na horizontální třepačce při amplitudě 4 cm a přibližně 140 kmitech za minutu. Po ukončení extrakce se nechají stříkačky ve vertikální poloze a po rozdělení fází se čirá organická (těžší) fáze převede do lékovek o objemu max. 5 ml. Lékovky se ihned pevně uzavřou a před měřením se uchovávají v chladu a temnu nejdéle 5 dnů.

Poznámky

- 3 ml vzduchu v injekční stříkačce zajistí podstatně lepší protřepávání fází. Stříkačky se na třepačce upevňují v horizontální poloze.
- V některých případech nedojde k oddělení fází. Potom je třeba stanovení opakovat podle varianty B a po extrakci odstředovat asi 2 min při 3500 ot/min.
- Místo lékovek se mohou použít plastové nádobky o objemu 2 ml uzavřené plastovou zátkou.
- Extrakty vzorků, které překročily rozsah kalibrační křivky, se mohou podle potřeby ředit extrakčním činidlem (1).
- Použití korektoru nespecifické absorpce není nezbytné, ale je vhodné, protože změny v kvalitě povrchu grafitové kyvety se projevují i na úrovni nespecifického signálu.
- Teplotní program je třeba zahájit ihned po nadávkování chloroformového extraktu

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30302.1 Stanovení molybdenu v extraktu AO-OA metodou AAS-ETA	Revize	0

do kyvety. Při delším styku chloroformu s grafitovým povrchem může dojít ke znehodnocení kyvety. Tento jev se projeví enormním nárůstem nespecifické absorpce.

10. *Při práci s chloroformem je třeba dbát na dodržování zásad bezpečnosti a ochrany zdraví při práci a na ochranu životního prostředí.*
11. *Na začátku a na konci měření se stanoví paměť kyvety několikanásobným opakováním měřicího cyklu bez nadávkování do kyvety. Příliš vysoká paměť kyvety je indikací k její výměně. Přístroj se nastavuje na kalibrační standardní roztok 20 µg/l. Při analýze vzorků o vyšším obsahu molybdenu se přístroj nastavuje na kalibrační standardní roztok 50 µg/l.*

Extrakce molybdenu, varianta B: Do vhodné plastové nádoby (nejlépe s kapátkovým a šroubovým uzávěrem) o objemu (50 – 80) ml se postupně pipetuje 10 ml půdního extraktu, slepého pokusu nebo kalibračního standardního roztoku, 2 ml směsného činidla Fe - EDTA (2) a 5 ml extrakčního činidla (1). Po uzavření se nádoby umístí na horizontální třepačku a při amplitudě 4 cm a frekvenci 140 kyvů/min se extrahuje 60 min. Po extrakci se organická fáze převede do lékovek. Pokud nedojde k oddělení fází, nádoby se umístí do laboratorní odstředivky a při 3500 ot/min se asi za (1 – 2) min oddělí organická a vodná fáze.

Přístrojové podmínky: Stanovení probíhá na hlavní rezonanční linii molybdenu 313,3 nm vymezené šterbinou o spektrální šířce 0,5 nm s využitím deuteriové korekce nespecifické absorpce. Integruje se plocha signálu od začátku atomizačního kroku. Dávkuje se 20 µl extraktu do kyvety pokryté pyrolytickým grafitem. Příklad teplotního programu elektrotermického atomizátoru uvádí tabulka 1. Každý extrakt se měří nejméně dvakrát.

Tabulka 1. Teplotní program měření.

Krok	Teplota (°C)	Čas (s)	Průtok plynu (l/min)	Odečet signálu
1	70	5	3,0	
2	70	20	3,0	
3	120	5	3,0	
4	500	25	3,0	
5	800	5	3,0	
6	800	5	3,0	
7	2500	0,9	0	ANO
8	2500	2	0	ANO
9	2600	1	3,0	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30302.1 Stanovení molybdenu v extraktu AO-OA metodou AAS-ETA	Revize	0

6. Výpočet

Vyhodnocení výsledků: Průměrná absorbance slepého pokusu se odečte od všech naměřených hodnot standardů i vzorků. Kalibrační přímka se proloží mezi nulovým bodem kalibrační křivky a bodem o koncentraci molybdenu 20 µg/l. Pro obsahy molybdenu v rozmezí (20 – 50) µg/l se kalibrační přímka proloží mezi těmito kalibračními body. Při překročení rozsahu kalibrační křivky je možné chloroformový extrakt ředit extrakčním činidlem (1) nebo naředit půdní extrakt extrakčním roztokem AO-OA (7) a stanovení opakovat.

Výpočet:

$$T = X \times 10$$

T obsah prvku ve vzorku (mg/kg),

X stanovený obsah molybdenu odečtený z kalibračního grafu (µg/l).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Stanovení dalších stopových prvků	Revize	0

STANOVENÍ DALŠÍCH STOPOVÝCH PRVKŮ

Tato kapitola popisuje stanovení rizikových prvků a případně dalších prvků, které je možné zařadit mezi mikroelementy, ale i mezi rizikové prvky. Za rizikové prvky v zemědělských půdách se podle platné legislativy považují As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Tl, Mo, Ni, Pb, Zn, V a Be. Často se pro ně používá označení těžké kovy nebo potenciálně nebezpečné prvky. Většina dále uvedených postupů umožňuje i stanovení dalších významných kontaminantů životního prostředí - Ag, Sn, Sb, Se, Ba, Bi apod.

Stanovení skutečných celkových obsahů těchto prvků v půdách se provádí jen výjimečně. Rozklad půd probíhá zpravidla v oxidačním prostředí, kdy dojde k mineralizaci organických látek, silikáty se odstraňují odkouřením s kyselinou fluorovodíkovou a fluoridy se převedou do roztoku kyselinou boritou. Nové postupy se snaží nahradit kyselinu fluorovodíkovou kyselinou tetrafluoroboritou. Tento obecný postup má řadu variant a probíhá buď v uzavřeném nebo otevřeném systému, s ohřevem klasickým nebo mikrovlnným, s použitím kyseliny chloristé nebo s jejím vyloučením. Používá se také tavení a rozklad taveniny v kyselinách po předchozí mineralizaci organických látek na suché cestě. Při rozkladu tavením je limitující zpravidla nízká navážka vzorku, která vyžaduje jeho dokonalou homogenizaci a velmi jemné pomletí. Tato další úprava vzorku však bývá často zdrojem závažných kontaminací. Podrobná diskuse těchto problémů je v uvedena v citované literatuře. Kromě destruktivních metod se pro stanovení celkových obsahů používají některé instrumentální metody, které využívají stanovení v pevném vzorku jako např. rentgenová fluorescenční analýza, laserová ablace s následným stanovením metodou ICP-MS resp. ICP-OES, LIBS, neutronová aktivační analýza apod. Tyto metody umožňují analýzu vzorku v původním stavu, ale zpravidla je nutná pečlivá úprava vzorku před vlastní analýzou, především velmi jemné mletí a homogenizace.

Stanovení uzančnic celkových obsahů rizikových prvků (tzv. pseudototálních obsahů) je z hlediska provedení méně pracné a přitom je dobrým ukazatelem kontaminace půdy. Celosvětovým standardem pro určení celkového obsahu prvků v půdě je extrakce lučavkou královskou, i když pro celou řadu prvků nedává skutečné celkové obsahy. Tomuto extrakčnímu postupu je věnována větší pozornost, protože i v platných normách existuje několik možných variant.

V ČR je v legislativě pro stanovení rizikových prvků uvedena extrakce lučavkou královskou za varu doplněná o stanovení v extraktu 1M dusičnanu amonného.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Stanovení dalších stopových prvků	Revize	0

Pro odhad přechodu rizikových prvků v půdě do potravního řetězce, do spodních vod apod. se doporučuje stanovení jejich mobilní resp. snadno mobilizovatelné frakce. Tyto postupy jsou použitelné pro široké spektrum půd a příbuzných materiálů. Je zde však několik omezení. Především koncentrace stanovovaných prvků v extraktu je nízká a stanovení vyžaduje použití citlivých analytických metod (ETA-AAS, ICP-MS). Použité chemikálie musejí být vysoce čisté (často vyšší čistoty než p.a., v každém případě je nezbytné čistotu před použitím testovat), protože zvláště při vyšší koncentraci extrakčního činidla (1M dusičnan amonný) může být obsah některých prvků v chemikáliích stejný i vyšší než obsah extrahovaný z půdy. Dalším problémem může být omezená doba skladování vzorků, protože vlivem změn – především postupných změn kvality organické hmoty – dochází i při skladování suchého vzorku ke změnám v extrahovatelnosti některých prvků. V rámci mezinárodní standardizace je nejpropracovanější postup extrakce půd roztokem roztokem dusičnanu amonného (ISO 19730). V současné době se považuje za perspektivní standardizovaná metoda extrakce půd roztokem 0,43M kyseliny dusičné. Extrakce půd 2M kyselinou dusičnou za laboratorní teploty byla zahrnuta do legislativy ČR. Jde o velmi vhodný a expeditivní způsob indikace kontaminace půd, který plní funkci screeningové metody. Z hlediska extrakční účinnosti a extrahované frakce je tato metoda bližší extrakci podle Lindsaye a Norvella.

Protože koncové stanovení je pro celou řadu různých rozkladů a extrakcí shodné, je tato část publikace členěna tak, že nejprve jsou popsány postupy rozkladu a extrakce půd a následně jsou pro všechny tyto postupy popsány postupy koncového analytického stanovení.

Literatura

1. B. J. Alloway (ed.). Heavy Metals in Soils. Second edition. Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1996.
2. V.G.J. Houba: Soil Extraction Procedures. Extraction with 0,01M CaCl₂. Soil and Plant Analysis, part 5A, Wageningen Agricultural University, 1994.
3. I. Novozámský, Th.M. Lexmond, V.G.J. Houba: A Single Extraction Procedure of Soil for Evaluation of Uptake of Some Heavy Metals by Plants. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 51, 47-58, 1993.
4. ISO 19730:2008. Soil quality – Extraction of trace elements in soils using ammonium nitrate solution.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Stanovení dalších stopových prvků	Vydání	4
		Revize	0

5. P. Musil, J. Zbírál, V. Kanický: Comparison of Decomposition and Leaching Procedures for Monitoring of Trace Elements in Agricultural Soils. Scripta Fac. Sci. Univ. Masaryk. Brun. 27-28 (1997-1998), Chemistry, p. 83-91.
6. prEN pracovní dokument: Soil, treated biowaste, sludge and waste - Digestion of aqua regia soluble fractions of elements. CEN, TC 444, 2018.
7. J. Zbírál: Effect of grinding on soil extraction by aqua regia, 2M nitric acid, and Mehlich 3. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 37(15-20), 2289- 2297, 2006.
8. A. Kabata-Pendias, H. Pendias: Trace metals in Soils and Plants. Third edition. CRC Press, Boca Raton, 2001.
9. ISO 17586:2016. Soil quality – Extraction of samples using dilute nitric acid.
10. ISO 18227:2014. Soil quality -- Determination of elemental composition by X-ray fluorescence.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	1
	30312.1 Rozklad směsí minerálních kyselin	Revize	0

ROZKLAD SMĚSÍ MINERÁLNÍCH KYSELIN

1. Rozsah použití

Postup je určen pro upravené vzorky minerálních půd, kalů, odpadů a upraveného bioodpadu. Je určen pro stanovení celkových obsahů Al, Sb, As, Ba, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Hg, Mo, Ni, P, K, Se, Ag, Na, Sr, S, Te, Tl, Sn, Ti, V a Zn a případně dalších prvků.

2. Princip

Jemně pomletý vzorek se rozkládá směsí minerálních kyselin buď v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem nebo v polouzavřeném systému v rozkladném bloku (HotBlock®, Environmental Express, U.S.A.). Po úpravě objem a oddělení filtrací nebo odstředěním se jednotlivé prvky stanoví vhodnou metodou. Oxidy, karbonáty, organické látky a celá řada dalších sloučenin se rozkládají kyselinou dusičnou. Křemičitany se rozloží působením kyseliny fluorovodíkové nebo kyseliny tetrafluoroborité. Použití kyseliny tetrafluoroborité místo kyseliny fluorovodíkové je vhodnější vzhledem k bezpečnostním rizikům spojeným s manipulací s kyselinou fluorovodíkovou.

Poznámky

1. *Postup využívá koncentrované minerální kyseliny za zvýšené teploty a případně zvýšeného tlaku. Tyto činnosti smí vykonávat pouze vyškolený personál a je nezbytné zachovávat všechna pravidla bezpečné práce. Kyselina fluorovodíková je velmi nebezpečná a může způsobit vážné poškození pokožky a sliznic. Toto poškození může být zjevné až po několika hodinách; po této době pak již může být léčení obtížné. Pracovník musí být patřičně vyškolen a musí používat vhodné ochranné pomůcky. Pracovní prostředí musí být způsobilé pro manipulaci s touto nebezpečnou kyselinou. Manipulace se zlášť nebezpečnými kyselinami je podrobněji popsána v dodatku 5.*

3. Přístroje a pomůcky

1. Mikrovlnné tlakové mineralizační zařízení umožňující kontrolu teploty vybavené vhodnými nádobkami o dostatečném objemu (zpravidla 100 ml) pro práci při tlaku do 3000 kPa. Nádobky musí být vybavené bezpečnostním uzávěrem. Je třeba použít zařízení s přesností měření teploty v nádobkách $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a s možností udržet teplotu v rozmezí $(175 \pm 5)\text{ }^{\circ}\text{C}$.
2. Pipety pro dávkování koncentrovaných kyselin s přesností $\pm 0,1\text{ ml}$. Pro dávkování kyseliny fluorovodíkové z vhodného plastu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	1
	30312.1 Rozklad směsí minerálních kyselin	Revize	0

3. Planetový nebo jiný vhodný mlýnek s mléčnými elementy z achátu, slinutého korundu nebo oxidu zirkoničitého.
4. Rozkladný blok s kontrolou teploty (105 ± 5) °C (grafitový s teflonovým povrchem např. HotBlock®, Environmental Express, U.S.A.) s plastovými rozkladnými nádobkami z vhodného plastu s uzávěrem. Je možné použít jednorázové nádoby graduované na 50 ml s certifikátem čistoty, které dodává výrobce zařízení.

4. Chemikálie

1. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, (65 – 70) % (m/m), $c \cong 14,4$ mol/l.
2. Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná, (35 – 37) % (m/m), $c \cong 11,7$ mol/l.
3. Kyselina tetrafluoroboritá, HBF_4 , koncentrovaná, (38 – 48) % (m/m), $c \cong 6,0$ mol/l.
4. Kyselina fluorovodíková, HF , koncentrovaná, (40 – 45) % (m/m), $c \cong 22,4$ mol/l.
5. Voda přečištěná pro účely stopové analýzy tak, aby obsah stanovovaných složek byl pod mezí detekce použité metody.
6. Kyselina boritá, roztok 4 % (m/m): 40 g pevné kyseliny borité se rozpustí ve vodě (5) a doplní na objem 1000 ml.

5. Pracovní postup

Úprava vzorku: Vzorek půdy se před stanovením pomele na vhodném zařízení, které zamezí kontaminaci sledovanými prvky tak, aby velikost částic byla menší než 250 μm . Vzorky jiných materiálů se upravují v souladu s platnými normami, např. EN 16179 nebo EN 15002.

Rozklad vzorku v rozkladném bloku: přibližně $(0,2 - 0,5) \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ upraveného vzorku se přesně naváží a převede do rozkladné nádoby, ovlhčí se podle potřeby několika kapkami vody (5), přidá se $(6,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny chlorovodíkové (2), $(2,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny dusičné (1) a $(4,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny tetrafluoroborité (3). Nádobky se ponechají při laboratorní teplotě až do doby, kdy ustane vývin plynů. Nádobky se jemně uzavrou a umístí se do rozkladného bloku a zvolna se zvyšuje teplota až na $(105 \pm 5) ^\circ\text{C}$. Na této teplotě se směs udržuje dalších 120 min.

Po ochlazení se mineralizační nádoby doplní po značku a promíchají. Pokud mineralizát obsahuje nerozpuštěné částice, je třeba před měřením ještě filtrovat nebo odstředit.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	1
	30312.1 Rozklad směsí minerálních kyselin	Revize	0

Pokud se používají negraduované tuby převede se celý objem mineralizační nádoby do odměrné baňky, doplní po značku a po promíchání se podle potřeby filtruje nebo odstředí.

Rozklad vzorku v mikrovlnném rozkladném zařízení: přibližně $(0,2 - 0,5) \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ upraveného vzorku se přesně naváží a převede do rozkladné nádoby, ovlhčí se podle potřeby několika kapkami vody (5), přidá se $(6,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny chlorovodíkové (2), $(2,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny dusičné (1) a $(4,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny tetrafluoroborité (3) nebo $(2,0 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny fluorovodíkové (4). Nádoby se ponechají při laboratorní teplotě až do doby, kdy ustane vývin plynů. Dále se postupuje v souladu s pokyny výrobce zařízení. Nádoby se uzavrou a vloží do přístroje. Rozklad probíhá postupným zvyšováním teploty rychlostí $(10 - 15) ^\circ\text{C}/\text{min}$ až se dosáhne teploty $(175 \pm 5) ^\circ\text{C}$ při které se dokončí rozklad pro dobu $(10 \pm 1) \text{ min}$. Po ochlazení se nádoby otevrou v dobře táhnoucí digestoři a obsah se kvantitativně převede do odměrné baňky vhodného objemu, doplní se po značku vodou (5) a po promíchání se podle potřeby filtruje nebo odstředí.

Varianta s využitím kyseliny tetrafluoroborité místo kyseliny fluorovodíkové je vhodnější vzhledem k bezpečnostním rizikům spojeným s manipulací s kyselinou fluorovodíkovou.

Poznámky

2. *Při mikrovlnném ohřevu může dojít k náhlému rozkladu vzorku spojenému s výrazným nárůstem tlaku v nádobce, který způsobí otevření bezpečnostního ventilu. V tomto případě je nutné počítat s možným únikem analytu.*
3. *Množství vzorku k analýze závisí na obsahu organické hmoty. Maximální množství uhlíku ve vzorku by nemělo překročit 0,15 g, pokud objem kyseliny dusičné a chlorovodíkové je 8 ml. Pokud je obsah uhlíku vyšší, je třeba na každý 0,1 g uhlíku nad 0,15 g přidat před rozkladem 1 ml kyseliny dusičné.*

Literatura

1. prEN - přípravný dokument. 2018. Soil, treated biowaste, sludge and waste – Digestion with hydrochloric (HCl), nitric (HNO₃) and tetrafluoroboric (HBF₄) or hydrofluoric (HF) acid mixtur efor subsequent determination of elements. 2018.
2. ČSN EN 13656: Charakterizace odpadů - Mikrovlnný rozklad směsí kyselin fluorovodíkové (HF), dusičné (HNO₃) a chlorovodíkové (HCl) k následnému stanovení prvků. 2003.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30320.1 Rozklad tavením s boritanem litným	Revize	0

ROZKLAD TAVENÍM S BORITANEM LITNÝM

1. Rozsah použití

Postup je určen pro celkový rozklad půd a pro následné stanovení Na, K, Mg, Ca, Ti, Mn, Fe, Al, Si a případně dalších prvků, u kterých za podmínek rozkladu nedochází ke ztrátám a jejich koncentrace je dostatečná pro analytické stanovení.

2. Princip

Ze suchého a jemně pomletého vzorku se nejprve odstraní přítomné organické látky, aby se zamezilo redukci na kovy. Vzorek se potom taví se směsí tetraboritanu lithného a boritanu lithného a tavenina se rozpustí ve zředěné kyselině dusičné.

Poznámky

- Odstranění organické hmoty žháním za uvedených podmínek nezpůsobuje ztráty stanovovaných prvků, ale v případě přítomnosti organokovových sloučenin je třeba použít rozklad organické hmoty pouze kyselinou dusičnou.*

3. Přístroje a pomůcky

- Zařízení vhodné pro přípravu taveniny. Je možné použít indukční píčku, muflovou pec nebo plynový kahan.
- Laboratorní mlýnek pro bezkontaminační mletí. Např. planetový nebo jiný vhodný mlýnek s mlecími elementy z achátu, slinutého korundu nebo oxidu zirkoničitého.
- Kelímky o objemu 30 ml. Přednostně kelímky ze slitiny platiny a zlata (95 : 5) nebo ze skelného uhlíku.
- Pec, která je schopná dosáhnout teploty $(450 \pm 25) ^\circ\text{C}$ do 1 h.
- Magnetická míchačka s teflonovým míchadlem.

4. Chemikálie

- Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
- Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 0,5 \text{ mol/l}$.

Příprava: 32 ml koncentrované dusičné (1) se zředí vodou (3) na objem 1000 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30320.1 Rozklad tavením s boritanem litným	Revize	0

3. Voda přečištěná pro účely stopové analýzy tak, aby obsah stanovovaných složek byl pod mezí detekce použité metody.
4. Tetraboritan lithný $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$.
5. Boritan litný LiBO_2 .

5. Pracovní postup

Úprava vzorku: Vzorek upravený podle 30010.1 (jemnozem I) se pomele na mlýnku tak, aby beze zbytku prošel sítím o délce oka 0,250 mm. Hmotnost pomletého vzorku nemá být menší než 20 g.

Spalování organických látek na suché cestě: 200 mg upraveného vzorku se naváží přímo do kelímků, vloží do pece a nechá se zahřívat za zvyšování teploty na 450 °C v průběhu 1 h. Na této teplotě se udržuje další 3 h.

Tavení a rozpouštění: Po odstranění organických látek se k ochlazenému vzorku přidá (200 ± 2) mg tetraboritanu lithného (4) a (800 ± 5) mg boritanu lithného (5). Směs se pečlivě promíchá plastovou špachtlí a nechá se zahřívat na teplotu mezi 1000 °C a 1100 °C do roztavení boritanů a úplného rozpuštění vzorku. Potřebná doba je asi (10 – 30) min. V případě neznámých vzorků je zpravidla třeba alespoň jednou taveninou opatrně zakroužit, aby se ověřila úplnost rozpuštění. Tavenina se ještě před ztuhnutím opatrně kvantitativně převede do kádinky obsahující 200 ml zředěné kyseliny dusičné (2) a za pomoci teflonového míchadla se rozpustí. 20 min až 30 min je zpravidla dostatečná doba pro úplné rozpuštění taveniny. Roztok se potom převede do odměrné baňky na 250 ml, 500 ml nebo 1000 ml podle potřebného koncentračního rozsahu pro měření. Pro vymývání kádinky a doplnění odměrné baňky po značku se použije zředěná kyselina dusičná (2). Pokud se objeví zákal, je třeba tavení opakovat s menší navázkou vzorku. Roztok je stálý nejdéle 3 dny. Po této době může docházet k hydrolyze nebo polymeraci s následným vysrážením.

Poznámky

S horkými kelímkami se manipuluje kleštěmi s platinovými hroty, v ochranných rukavicích a s bezpečnostním obličejovým štítem. Tavenina smáčí některé kovy a jejich slitiny, proto je třeba používat uvedené typy kelímků, aby se minizovaly ztráty taveniny a kontaminace následně analyzovaných vzorků. Pokud se přesto použijí jiné kelímky, je třeba je loužit v kyselině, kde se rozpouští tavenina. V tomto případě je však nezbytné zajistit, aby nedošlo ke kontaminaci z nečistot na vnějších stěnách kelímku.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30350.2 Rozklad lučavkou královskou	Revize	0

ROZKLAD LUČAVKOU KRÁLOVSKOU

1. Rozsah použití

Postup je určen pro vzorky minerálních a organických půd, kalů, sedimentů a hornin upravených podle postupu 30010.1. V mineralizátu je možné stanovit obsah Li, Be, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Y, Mo, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, prvků vzácných zemin, Tl, Pb, Bi, Th, U a případně dalších prvků, pro které uživatel prověří vhodnost tohoto extrakčního postupu. Postup není určen pro stanovení C, N a halogenů. Stanovení není vhodné pro materiál obsahující více než 20 % C. Pokud je tento obsah vyšší, je třeba zvýšit množství přidávané kyseliny dusičné nebo snížit navážku.

Poznámky

- Účinnost rozkladu lučavkou královskou je různá pro různé prvky a liší se i pro stejný prvek v závislosti na matrici. Často se používá rozklad půd lučavkou královskou v různých variantách. Tyto varianty se liší především v navázce půdy, množství přidávaných kyselin, zahřívání se zpětným chladičem nebo bez něj. Postup je dostatečně robustní, a tak jsou výsledky zpravidla shodné.*
- Vzorky jiných materiálů (odlišných od půd) se upravují např. podle EN 16179, ISO 11464, EN 15002.*

2. Princip

Upravený vzorek se rozkládá směsí kyseliny chlorovodíkové a kyseliny dusičné za zvýšené teploty po dobu 2 hod.

3. Přístroje a pomůcky

- Postup A: Mineralizační blok vícemístný pro umístění mineralizačních tub s programátorem teploty, topné hnízdo nebo topná deska. Nádoby musejí umožnit umístění zpětného chladiče a musejí mít objem rovný minimálně pětinásobku objemu lučavky královské. Pokud je stanovován bor, je třeba použít křemenné rozkladné nádoby, v ostatních případech postačuje borosilikátové sklo.
- Postup B: Rozkladný blok s kontrolou teploty (grafitový s teflonovým povrchem např. HotBlock®, Environmental Express, U.S.A.) s plastovými rozkladnými

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30350.2 Rozklad lučavkou královskou	Vydání	4
		Revize	0

nádobkami z vhodného plastu s uzávěrem. Je možné použít jednorázové nádoby graduované na 50 ml s certifikátem čistoty, které dodává výrobce zařízení.

- Pipety pro dávkování koncentrovaných kyselin s přesností $\pm 0,1$ ml.

Poznámky

- Při analýze vzorků s vyšším obsahem organických látek (např. čistírenských kalů) dochází k výraznému pění. Pro takové vzorky je vhodné použít blok s dolní topnou deskou a navíc s topnými prstenci umístěnými kolem střední části mineralizačních tub. (např. Mezos, Hradec Králové). Pěna vzorku takto nepřekročí přehřátý prostor prstenců.*
- Norma ISO 11466 vyžaduje v případě požadavku na stanovení rtuti použití kondenzoru. Podle našich srovnávacích výsledků i výsledků jiných laboratoří nedochází při účinném chlazení k úniku rtuti a použití kondenzoru není nutné.*
- Mineralizační tuby musejí mít dostatečně velký průměr, aby umožnily co nejlepší smáčení vzorku směsí kyselin.*
- Podle normy ISO 11466 je nutné vzorek pomlet na velikost částic pod 150 μm . Podle porovnávací studie v uvedené literatuře není tento krok nezbytný, naopak může zhoršit kontakt kyselin se vzorkem především při použití mineralizačních tub. Proto se doporučuje používat standardně upravené vzorky na 2 mm prosev.*
- Vzorky je třeba uchovávat tak, aby nemohlo dojít ke ztrátám (např. penetrací Hg přes stěny polyetylenových nádob) nebo kontaminaci. Je třeba kontrolovat čistotu skla, chemikálií a filtračních papírů. Při mletí nebo deaglomeraci vzorků je třeba zamezit kontaminaci z mlecích elementů a ztrátám těkavých složek vlivem lokálního přehřátí vzorku.*

4. Chemikálie

- Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65% (m/m), $c = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
- Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná, 36% (m/m), $c = 11,7 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/cm}^3$.
- n-dodekan ($\text{C}_{12}\text{H}_{26}$) nebo oktanol ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$) pro omezení pění.

5. Pracovní postup

Postup A.

Do varné baňky nebo mineralizační tuby se přesně naváží asi $(2 - 5) \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ vzorku. Suché vzorky se rovnoměrně ovlhčí přídavkem asi $(0,5 - 1) \text{ ml}$ vody a za jemného

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30350.2 Rozklad lučavkou královskou	Revize	0

promíchávání se přidá 21 ml kyseliny chlorovodíkové (2) a následně 7 ml kyseliny dusičné (1). Kyseliny se přidávají tak, aby se omezilo pění (je-li to nutné, pak po kapkách). Množství použité lučavky královské postačí na rozložení 0,5 g organického uhlíku. Pokud je obsah organického uhlíku v rozkládaném vzorku vyšší, je třeba před zahájením rozkladu přidat na každých 0,1 g organického uhlíku nad 0,5 g jeden ml kyseliny dusičné (1). Podle potřeby se přidá několik kapek n-dodekanu resp. oktanolu (3). Na baňku se nasadí chladič a směs se ponechá stát při laboratorní teplotě dokud neustane intenzivní reakce. Potom se ihned pozvolna zahřívá k varu. Mírný var se udržuje 2 h tak, aby kondenzace probíhala v první třetině chladiče. Potom se obsah baňky převede do 100ml odměrné baňky. a doplní se po značku vodou. Po pečlivém promíchání se převede část čistého mineralizátu do uzavíratelných plastových nádobek. Pokud je nutné oddělení pevných částic, tak se provede filtrací nebo odstředěním.

Poznámky

8. *V laboratořích ÚKZÚZ se zpravidla používá navážka 5 g pro půdy a 2 g pro čistírenské kaly a vzorky s vyšším obsahem organické hmoty a karbonátů. Po rozkladu je možné celý objem mineralizátu filtrovat a zbytek na filtru pečlivě promýt.*
9. *Pokud se kyseliny přidávají odděleně a jsou rozkládány vzorky s vyšším obsahem uhličitání, je potom vlastní složení směsi nejisté. V těchto případech je exaktnější připravit nejprve lučavku královskou a potom ji přidat ke vzorku, ale problém tohoto typu se na výsledcích stanovení prakticky neprojeví.*
10. *Vzorky je možné po přidání kyseliny dusičné ponechat při laboratorní teplotě přes noc, potom přidat kyselinu chlorovodíkovou a dokončit mineralizaci.*
11. *Pro stanovení boru je třeba použít křemenné nebo teflonové chemické nádobí.*

Postup B: rozklad vzorku v rozkladném bloku:

Přibližně $(1 - 3) \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ upraveného vzorku se přesně naváží a převede do rozkladné graduované polypropylenové nádoby. Suché vzorky se rovnoměrně ovlhčí $(0,2 - 0,5) \text{ ml}$ vody a přidá se $(6 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny chlorovodíkové (2) a následně $(2 \pm 0,1) \text{ ml}$ kyseliny dusičné (1). Kyseliny se přidávají tak, aby se omezilo pění (je-li to nutné, pak po kapkách). Množství použité lučavky královské postačí na rozložení 0,15 g organického uhlíku. Pokud je obsah organického uhlíku v rozkládaném vzorku vyšší, je třeba buď snížit navážku vzorku nebo před zahájením rozkladu přidat na každých 0,1 g organického uhlíku nad 0,15 g jeden ml kyseliny dusičné (1). Podle potřeby se přidá několik kapek n-dodekanu resp. oktanolu (3).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30350.2 Rozklad lučavkou královskou	Revize	0

Směs se ponechá stát při laboratorní teplotě pouze po dobu, dokud neustane intenzivní reakce. Potom se nádoby uzavřou víčky (neutahují se) umístí se do rozkladného bloku a pozvolna se zahřívá k bodu varu. Mírný var se udržuje 2 h. Potom se nádoby doplní po značku 50 ml vodou a pečlivě se promíchají. Čirý roztok je možné použít pro měření. Pokud je nutné oddělení pevných částic, tak se provede filtrací nebo odstředěním.

Poznámky

12. *Vzorek je možné navažovat přímo do polypropylenových mineralizačních nádobek.*
13. *Před stanovením P, K, Ca, Mg, Na, Al, Fe a Mn je se extrakt desetinásobně naředí.*
14. *Připravovaná evropská norma uvádí i postup s použitím uzavřených nádobek a s mikrovlnným ohřevem v zařízení s kontrolou teploty. Tento postup se v laboratořích ÚKZÚZ nepoužívá a proto zde není popsán. Zájemci o tento postup jej naleznou v citované evropské normě.*
15. *Bod varu lučavky královské je 108 °C.*

Literatura

1. G. Hoffmann et al: Methodenbuch, I. Die Untersuchung von Böden. 4. Auflage, VDLUFA 1991.
2. J. Pavlíčková, J. Zbíral, E. Čižmarová, V. Kubáň: Comparison of aqua regia and HNO₃ – H₂O₂ procedures for extraction of Tl and some other elements from soils. Anal. Bioanal. Chem., 376, 118 – 125, 2003.
3. J. Zbíral: Effect of grinding on soil extraction by aqua regia, 2M nitric acid, and Mehlich 3. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 37(15-20), 2289- 2297, 2006.
4. ISO 11466: Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia. International Organization for Standardization. 1995.
5. J. Zbíral: Porovnání stanovení rtuti metodou CV AAS a AMA-254 v extraktech půd lučavkou královskou. Bulletin laboratorního odboru 2001 V/1. ÚKZÚZ v Brně, 2001. ISSN 1212-5466. str. 21-27.
6. prEN pracovní dokument: Soil, treated biowaste, sludge and waste - Digestion of aqua regia soluble fractions of elements. CEN, TC 444, 2018.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30360.1 Extrakce půd 2M kyselinou dusičnou	Revize	0

EXTRAKCE PŮD 2M KYSELINOU DUSIČNOU

1. Rozsah použití

Postup je určen pro vzorky půd a případně kalů, sedimentů a příbuzných materiálů po úpravě podle postupu 30010.1. V mineralizátu je možné stanovit Li, Be, Na, Mg, Al, P, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Cs, Ba, prvky vzácných zemin, Tl, Pb, Bi. Postup není určen pro stanovení C a N. V extraktu se běžně stanovuje obsah As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V a Zn.

2. Princip

Upravený vzorek se extrahuje 2M kyselinou dusičnou za laboratorní teploty.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka.
2. Filtrační papír MN 619G nebo ekvivalentní.

4. Chemikálie

1. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65% (m/m), $c = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
2. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 2 \text{ mol/l}$.

Příprava: 139 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) se zředí vodou na výsledný objem 1000 ml.

5. Pracovní postup

Do uzavíratelné nádoby o objemu 250 ml se naváží $(10,00 \pm 0,002) \text{ g}$ vzorku, přidá se $(100 \pm 0,2) \text{ ml}$ zředěné kyseliny dusičné (2). Po důkladném ručním protřepání se suspenze nechá stát 16 h (přes noc) při laboratorní teplotě $(20 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Po této době se opět ručně protřepe tak, aby se rozrušil sediment a vznikla suspenze. Potom se extrahuje ještě 60 min na rotační třepačce při $(50 \pm 5) \text{ ot/min}$. Suspenze se filtruje přes filtrační papír do čisté a suché plastové nádoby o objemu $(75 - 100) \text{ ml}$. Filtruje se celý objem extraktu, prvních $(5 - 10) \text{ ml}$ filtrátu se nepoužije.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30600.1 Extrakce půd 1M roztokem dusičnanu amonného	Revize	0

EXTRAKCE PŮD 1M ROZTOKEM DUSIČNANU AMONNÉHO

1. Rozsah použití

Postup je použitelný pro všechny půdy upravené podle postupu 30010.1. Je určen pro stanovení mobilních frakcí některých prvků. Kromě As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Sb, Tl, U, V, Zn je postup použitelný i pro stanovení Ca, Mg, Na a K a případně dalších prvků.

2. Princip

Extrakce roztokem dusičnanu amonného probíhá při pH půdy. Po ustavení rovnováhy mezi půdou a extrakčním roztokem se stanovuje obsah jednotlivých prvků v extraktu vhodným analytickým postupem.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka umožňující extrakci při asi 20 ot/min.
2. Odstředivka.
3. Vhodné filtrační papíry nebo filtrační zařízení s membránovými filtry (0,45 µm).
4. Zařízení pro přípravu vysoce vysoce čisté demineralizované vody.

4. Chemikálie

1. Dusičnan amonný NH_4NO_3 , extrakční roztok, $c(\text{NH}_4\text{NO}_3) = 1 \text{ mol/l}$.

Příprava: 80,04 g dusičnanu amonného o známé a ověřené čistotě se rozpustí v asi 800 ml vysoce čisté demineralizované vody (3) a objem se upraví na 1000 ml. Nejvhodnější je použít komerčně dodávaný roztok.

2. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
3. Vysoce čistá demineralizovaná voda, měrný odpor minimálně 18,2 MΩ/cm.

Poznámky

1. Pro přípravu extrakčního roztoku je třeba použít vodu se zanedbatelným obsahem stanovených prvků. Chemické nádobí se musí pečlivě vyčistit loužením 1% HNO_3 po dobu 24 h a vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30600.1 Extrakce půd 1M roztokem dusičnanu amonného	Revize	0

5. Pracovní postup

V nádobce z vhodného plastu o objemu (100 – 150) ml se 20,00 g upraveného půdního vzorku extrahuje 50 ml extrakčního roztoku (1). Je možné použít navážku 10 g a 25 ml extrakčního roztoku. Extrakce probíhá 120 min na rotační třepačce při asi 20 ot./min a teplotě 20 °C. Suspenze se nechá 15 min sedimentovat a roztok se potom dekantuje přes membránový filtr do vhodné plastové nádoby, prvních 5 ml filtrátu se odstraní. Vzorek se uchovává v pečlivě vymyté, dobře uzavíratelné plastové nádobě. Aby se zamezilo ztrátám sorpcí na stěny nádoby, je třeba vzorek okyselit přidavkem koncentrované kyseliny dusičné (2) v množství 1 ml na 100 ml extraktu.

Poznámky

- Koncentrace jednotlivých prvků (μg/l) v tomto extraktu je asi: 10 – As; 1 – Be; 2 – Cd; 20 – Co; 4 – Cr; < 0,4 – Hg; 2000 – Mn; 10 – Mo; 8 – Pb; 10 – Sb; 10 – V; 100 – Cu; 100 – Ni; 100 – Zn.*
- Použití HG-AAS je bez problémů. Dusičnan amonný nemá na stanovení žádný vliv. Pokud se používá vsádková metoda, může dojít k pění, které se odstraní přidavkem silikonového oleje. Analýza plamenovou atomovou absorpční spektrofotometrií (FAAS) je zpravidla nepoužitelná pro příliš nízké obsahy prvků v extraktu. Použití ETA-AAS je pro analýzu vhodné, ale je třeba optimalizovat teplotní program, aby mohlo dojít k pomalému rozkladu dusičnanu amonného ($\text{NH}_4\text{NO}_3 \rightarrow \text{N}_2\text{O} + 2 \text{H}_2\text{O}$). Doporučuje se pomalé sušení při teplotě pod 120 °C a postupný ohřev na 280 °C. ICP-OES má v oblasti citlivosti stejné omezení jako FAAS. Pro stanovení je nejvhodnější metoda ICP-MS.*
- Při extrakci vzorků o vyšším obsahu organické hmoty je vhodné použít vzorek bez sušení, zvýšit navážku i objem extrakčního činidla na dvojnásobek a extrahovat s přidavkem skleněných kuliček (20 g kuliček o průměru 3 mm).*

Literatura

- ISO 19730:2008. Soil quality – Extraction of trace elements in soils using ammonium nitrate solution.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30615.1 Extrakce půd vysoce čistou demineralizovanou vodou	Revize	0

EXTRAKCE PŮD VYSOCE ČISTOU DEMINERALIZOVANOU VODOU

1. Rozsah použití

Postup je určen pro stanovení obsahu Be, V, Co, Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Mo, Sn, Sb, Tl, Pb v půdách upravených podle postupu 30010.1 a v obdobných materiálech.

2. Princip

Vysušený, upravený a zhomogenizovaný vzorek se extrahuje 24 h vysoce čistou demineralizovanou vodou.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka umožňující extrakci při asi 5 ot/min.
2. Centrifuga, 3000 ot/min.
3. Filtrační zařízení s membránovými filtry (0,45 µm).
4. Zařízení pro přípravu vysoce vysoce čisté demineralizované vody.
5. Podvarové destilační zařízení pro přípravu vysoce čistých minerálních kyselin.
6. Plastové a skleněné laboratorní nádobí.

4. Chemikálie

1. Vysoce čistá demineralizovaná voda, měrný odpor minimálně 18,2 MΩ/cm.
2. Kyselina dusičná, HNO₃, koncentrovaná, 65%, c = 14,4 mol/l, ρ(HNO₃) = 1,4 g/cm³, podvarově destilovaná.

Poznámky

1. *Vzhledem ke stanovení stopových koncentrací mikroprvků v připravených mineralizátech je důležité věnovat zvýšenou pozornost čistotě používané kyseliny a demineralizované vody.*

5. Pracovní postup

10,0 g upraveného půdního vzorku se extrahuje 100 ml vysoce čisté demineralizované vody (1) po dobu 24 h. Extrakce probíhá v uzavíratelných 250ml plastových nádobách na rotační třepačce při 5 ot/min. Po extrakci se vzorky odstředí na centrifuze 10 min. při 3000 ot/min.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30615.1 Extrakce půd vysoce čistou demineralizovanou vodou	Revize	0

Poté se extrakty filtrují přes 0,45µm membránový filtr. Membránové filtry se před filtrací propláchnou podvarově čištěnou kyselinou dusičnou (2), dále vysoce čistou demineralizovanou vodou (1) a následně částí extraktu. Přes takto upravený filtr poté se přefiltruje zbytek extraktu a na každých 10 ml extraktu se přidá 0,1 ml podvarově čištěné kyseliny dusičné (2). Extrakty se uchovávají při (4 – 8) °C v temnu.

Poznámky

2. *Plastové nádoby se louží v 5% podvarově čištěné kyselině dusičné nejméně 24 h. Poté se opláchnou vysoce čistou demineralizovanou vodou, vysuší a uchovají ve vzduchotěsných plastových boxech.*

Literatura

1. E. Niedobová, E. Obdržálková: Zpracování SOP pro přípravu slabých extrakčních činidel (vodný výluh, 1M NH₄NO₃) a měření vyextrahovaných prvků metodou ICP-MS. Bulletin NRL 1/2009, ÚKZÚZ. Brno. 2009.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30617.1 Extrakce půd 0,43M kyselinou dusičnou	Revize	0

EXTRAKCE PŮD 0,43M KYSELINOU DUSIČNOU

1. Rozsah použití

Postup je určen především pro stanovení mobilní frakce některých prvků. Je použitelný pro vzorky půd a příbuzných materiálů po úpravě podle postupu 30010.1. V mineralizátu je možné stanovit celou řadu prvků.

2. Princip

Upravený vzorek se extrahuje při laboratorní teplotě 0,43M kyselinou dusičnou při poměru (půda:extrakční roztok) = 1:10 (m/V) po dobu 4 hod.

3. Přístroje a pomůcky

1. Rotační třepačka s možností nastavení otáček na (25 ± 10) ot/min.
2. Filtrační papír MN 619G nebo ekvivalentní.
3. Membránové filtry 0,45 μm .
4. Volitelně centrifuga pro minimálně 1000 g.

Poznámky

1. Je možné použít i horizontální třepačku se (180 ± 20) kyvů/min.
2. Postup není použitelný pro půdy s obsahem sulfidů

4. Chemikálie

1. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65% (m/m), $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
2. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 0,43 \text{ mol/l}$.
Příprava: K 30 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) se přidá 700 ml vody a po ochlazení a převedení do odměrné baňky 1000 ml se doplní vodou po značku.
3. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 5 \text{ mol/l}$.
Příprava: K 30 ml vody se opatrně přidá 34,7 ml koncentrované kyseliny dusičné (1). Po ochlazení se objem doplní vodou na 100 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30617.1 Extrakce půd 0,43M kyselinou dusičnou	Revize	0

5. Pracovní postup

Do vhodné nádoby o objemu (150 – 250) ml se naváží (10,0 ± 0,1) g vzorku, přidá se (100 ± 0,2) ml zředěné kyseliny dusičné (3). Dále se přidá na každé procento CaCO₃ nad obsah 5 % 0,50 ml zředěné kyseliny dusičné (3). Po ukončení reakce se nádoby uzavřou a extrahuje se (240 ± 10) min při laboratorní teplotě a při (25 ± 10) ot/min. Ihned po extrakci se suspenze filtruje přes filtrační papír do čisté a suché nádoby o objemu (75 – 100) ml. Filtruje se celý objem extraktu, prvních (5 – 10) ml filtrátu se nepoužije. Filtrace se může nahradit centrifugací při nejméně 1000 g po dobu 10 min. Potřebné množství filtrátu pro analýzu se dále filtruje přes membránový filtr 0,45 µm. První podíl filtrátu se odstraní.

Poznámky

3. *Pokud vzorek obsahuje uhličitany, nádoby se uzavírají až po ukončení intenzivního vývinu plynů. Dále je třeba extrakci asi po 15 min přerušit, uvolnit nádoby, aby mohl uniknout oxid uhličitý a pokračovat v extrakci. V některých případech je třeba tento krok opakovat několikrát.*
4. *Extrakční roztok musí mít v průběhu extrakce pH v rozsahu 0,5 – 1,0. U půd s vysokým obsahem karbonátů je třeba tuto hodnotu kontrolovat. Pro půdy s obsahem karbonátů do 5 % je postup přímo použitelný.*

Literatura

1. ISO 17586:2016. Soil quality – Extraction of samples using dilute nitric acid.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30400.1 Stanovení mědi, zinku, niklu, kobaltu, olova a kadmia metodou FAAS	Revize	0

STANOVENÍ MĚDI, ZINKU, NIKLU, KOBALTU, OLOVA A KADMIA METODOU FAAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Koncentrace stanovovaných prvků se zjišťuje na základě charakteristické absorpce záření na rezonančních čarách těchto prvků v plameni acetylen–vzduch metodou kalibrační křivky.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s korektorem nespecifické absorpce a s dutokatodovými výbojkami pro stanovované prvky.

4. Chemikálie

1. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.
2. Acetylen čistý pro FAAS.
3. Vzduch tlakový pro FAAS.
4. Základní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml – S1.
5. Pracovní standardní roztoky S2 o koncentraci 100 mg/l.
Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku S1 (4). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Připravuje se zvlášť pro každý prvek.
6. Pracovní standardní roztoky S3 o koncentraci 10 mg/l.
Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (5). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Připravuje se zvlášť pro každý prvek.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30400.1 Stanovení mědi, zinku, niklu, kobaltu, olova a kadmia metodou FAAS	Revize	0

Poznámky

1. *Postup přípravy kyselin pro modelování matrice kalibračních standardních roztoků je uveden u příslušného mineralizačního resp. extrakčního postupu.*
2. *Zpravidla se používají komerčně dodávané základní standardní roztoky.*

5. Pracovní postup

Postup měření: Měří se v oxidačním plameni acetylen–vzduch se šterbinovým hořákem o délce 10 cm umístěným v optické ose přístroje s využitím korekce nespecifické absorpce. V tabulce 1 jsou uvedeny nejvhodnější vlnové délky pro měření. Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů.

Tabulka 1. Přístrojové parametry.

Prvek	Cu	Zn	Ni	Co	Pb	Cd
Vlnová délka (nm)	324,8	213,9	232,0	240,7	217,0	228,8

Poznámky

3. *Uvedené přístrojové parametry jsou orientační. Je nezbytné postupovat podle příslušného návodu k použití přístroje.*
4. *Pro zvýšení citlivosti stanovení kadmia a olova je možné využít křemenný koncentrátor atomů. Při jeho použití je třeba prodloužit dobu pro ustálení signálu nejméně na 5 s. Životnost křemenných trubíc lze významně prodloužit, když se před použitím nejprve zmlžuje roztok o koncentraci 1000 mg/l lanthanu po dobu asi 10 min a tento postup se v průběhu používání trubice periodicky opakuje.*
5. *Při stanovení zinku je třeba natočit hořák vzhledem k optické ose přístroje tak, aby absorbance standardu 2 mg/l byla přibližně 0,2.*

Kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků S1 a pracovních standardních roztoků S2 a S3 se připraví kalibrační standardní roztoky pro konstrukci kalibračních křivek. Baňky se doplňují po značku roztokem modelujícím matici vzorků (podle mineralizačního postupu). Postup přípravy kalibračních standardních roztoků uvádějí tabulky 2 a 3.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30400.1 Stanovení mědi, zinku, niklu, kobaltu, olova a kadmia metodou FAAS	Revize	0

Tabulka 2. Kalibrační standardní roztoky pro měď a zinek.

Pořadové číslo kal. roztoku	1 ^A	2	3 ^A	4	5	6	7
Pracovní standardní roztok	–	S3	S2	S2	S2	S2	S1
Objem odměrné baňky (ml)	250	100	250	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	5	5	5	10	20	5
Koncentrace (mg/l)	0,00	0,50	2,00	5,00	10,00	20,00	50,00

^A roztoky používané pro rekalibraci přístroje v průběhu měření

Základní kalibrační křivka pro stanovení těchto prvků je do 10 mg/l. Při vyšších obsazích je třeba natočit hořák vzhledem k optické ose přístroje (v případě zinku až na 90 °) nebo zředit vzorky. Při stanovení nižších obsahů je možné připravit kalibrační roztok o koncentraci 0,2 mg/l a případně 1,0 mg/l.

Tabulka 3. Kalibrační standardní roztoky pro nikl, kobalt, olovo a kadmium.

Pořadové číslo kal. roztoku	1 ^A	2	3	4 ^A	5	6	7
Pracovní standardní roztok	–	S3	S3	S2	S2	S2	S2
Objem odměrné baňky (ml)	250	100	100	250	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	5	5	10	20
Koncentrace (mg/l)	0,00	0,50	1,00	2,00	5,00	10,00	20,00

^A roztoky používané pro rekalibraci přístroje

Pro kobalt a kadmium se připravují pouze kalibrační standardní roztoky 1 až 6. Kalibrační křivka se pro tyto dva prvky nastavuje do 2 mg/l. Vyšší body se využijí jen při překročení tohoto rozsahu. Pokud jsou obsahy kadmia nižší než nejnižší bod kalibrační křivky, využije se metoda s křemenným koncentrátorem s kalibrací (0; 0,1; 0,2; 0,5) mg/l. Koncentrace 0,1 mg/l resp 0,2 mg/l se připraví pipetováním 1 ml resp. 2 ml standardního roztoku S3 do 100ml odměrné baňky.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30400.1 Stanovení mědi, zinku, niklu, kobaltu, olova a kadmia metodou FAAS	Revize	0

Pro nikl a olovo se kalibrační křivka nastavuje do 5 mg/l, resp. 10 mg/l. Při vyšším zakřivení křivky pro nikl je možné přidat kalibrační bod 3,00 mg/l (30 ml standardního roztoku S3 se pipetuje do 100ml odměrné baňky). Pro obsahy olova pod 1 mg/l je vhodné využít metodu s křemenným koncentrátorem s kalibrací do 1,00 mg/l.

Literatura

1. ISO 11047. Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc - Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. International Organization for Standardization, 1998.
2. ČSN CEN/TS 16188: 2012. Kaly, upravený bioodpad a půdy – Stanovení prvků ve výluzích lučavkou královskou a kyselinou dusičnou – Metoda plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30410.1 Stanovení berylia, chromu a hliníku metodou FAAS	Revize	0

STANOVENÍ BERYLIA, CHROMU A HLINÍKU METODOU FAAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Koncentrace stanovovaných prvků se zjišťuje na základě charakteristické absorpce záření na vhodných čarách těchto prvků v plameni acetylen–oxid dusný metodou kalibrační křivky. Ionizační interference se odstraňují přidavkem nadbytku draslíku.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s korektorem nespecifické absorpce a s dutokatodovými výbojkami pro stanovované prvky vhodný pro použití plamene oxid dusný – acetylen.
2. Dilutor nebo dávkovací pipety o objemu 500 µl a 4500 µl.

4. Chemikálie

1. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.
2. Acetylen čistý pro FAAS.
3. Oxid dusný a vzduch tlakový pro FAAS.
4. Základní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml – S1.
5. Pracovní standardní roztoky S2 o koncentraci 100 mg/l.

Příprava: Ze základního standardního roztoku S1 (4) se do 100ml odměrných baněk pipetuje 10 ml. Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek.

6. Pracovní standardní roztoky S3 o koncentraci 10 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (5). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek. Nepřipravuje se pro hliník.

7. Pracovní standardní roztoky S4 o koncentraci 1 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30410.1 Stanovení berylia, chromu a hliníku metodou FAAS	Revize	0

roztoku S3 (6). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Přípravuje se pouze pro beryllium.

8. Ionizační pufr P1.

Příprava: 38,135 g chloridu draselného se rozpustí v asi 250 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a doplní po značku. Roztok obsahuje 20,0 g K/l.

9. Zředěný ionizační pufr P2.

Příprava: Připraví se desetinasobným zředěním ionizačního pufru P1 (8) demineralizovanou vodou.

Poznámky

1. *Postup přípravy kyselin pro modelování matrice kalibračních standardních roztoků je uveden u příslušného mineralizačního resp. extrakčního postupu.*
2. *Zpravidla se používají komerčně dodávané základní standardní roztoky.*

5. Pracovní postup

Postup měření: Měří se v redukčním plameni acetylen–vzduch se šterbinovým hořákem o délce 5 cm umístěným v optické ose přístroje s využitím korekce nespecifické absorpce. Výška červené zóny plamene je asi (15 – 20) mm. V tabulce 1 jsou uvedeny nejvhodnější vlnové délky pro měření. Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů.

Tabulka 1. Vlnové délky.

Prvek	Be	Cr	Al
Vlnová délka (nm)	234,9	357,9	309,3

Kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků S1 a pracovních standardních roztoků S2, S3 a S4 se připraví kalibrační standardní roztoky pro konstrukci kalibračních křivek. Baňky se doplňují po značku roztokem modelujícím matrici vzorků (podle mineralizačního postupu). Na každých 100 ml objemu standardního roztoku se dále přidává 10 ml ionizačního pufru P1 (8). Postup přípravy kalibračních standardních roztoků uvádějí tabulky 2., 3. a 4. Výsledná koncentrace draslíku v kalibračních standardních roztocích je 2000 mg/l.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30410.1 Stanovení berylia, chromu a hliníku metodou FAAS	Revize	0

Tabulka 2. Kalibrační standardní roztoky pro berylium.

Pořadové číslo kalibračního roztoku	1	2	3	4	5	6
Pracovní standardní roztok	–	S4	S4	S3	S3	S3
Objem odměrné baňky (ml)	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	10	20	5	10	20
Koncentrace (mg/l)	0,00	0,10	0,20	0,50	1,00	2,00

Tabulka 3. Kalibrační standardní roztoky pro chrom.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7
Prac. standardní roztok	–	S3	S3	S3	S2	S2	S2
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	20	5	10	20
Koncentrace (mg/l)	0.00	0.50	1.00	2.00	5.00	10.00	20.00

Tabulka 4. Kalibrační standardní roztoky pro hliník.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7	8
Prac. standardní roztok	–	S2	S2	S2	S1	S1	S1	S1
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100	50
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	20	5	10	15	10
Koncentrace (mg/l)	0	5	10	20	50	100	150	200

Pro chrom se kalibrační křivka nastavuje do 5 mg/l resp. 10 mg/l. Pro stanovení hliníku se podle obsahu kalibrační křivka nastaví buď do 20 mg/l nebo v rozmezí (20 – 200) mg/l.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30410.1 Stanovení berylia, chromu a hliníku metodou FAAS	Revize	0

Úprava vzorků: Pro stanovení berylia a chromu se mineralizáty a extrakty neupravují. V půdách a příbuzných materiálech je vždy dostatečně vysoká koncentrace snadno ionizujících prvků, které působí jako ionizační pufr. Při analýze mimořádných materiálů s nízkou koncentrací snadno ionizovatelných prvků je třeba ke vzorkům přidat ionizační pufr P1 (8) tak, aby výsledná koncentrace draslíku byla 2000 mg/l. Osvědčilo se ředění vzorku na dilutoru: 4500 µl vzorku a 500 µl ionizačního pufru P1 (8).

Pro stanovení hliníku je ve většině případů potřebné vzorek ředit. Pro ředění se využívá ionizační pufr P2 (9). Na dilutoru nebo ručními pipetami se dávkuje 500 µl vzorku a 4500 µl ionizačního pufru P2 (9). Měří se po pečlivém promíchání.

Poznámky

3. *Pro odstranění ionizačních interferencí postačuje již koncentrace draslíku nad 400 mg/l.*
4. *Použití plamene acetylen–vzduch je možné, ale interference se tímto postupem u některých vzorků pouze omezí, ale neodstraní. Teprve vyšší teplota plamene oxid dusný–acetylen zaručí odstranění chemických interferencí v plameni pro všechny vzorky a s využitím potlačení ionizace stanovovaných prvků dává správné výsledky.*

Literatura

1. ISO 11047. Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. International Organization for Standardization, 1998.
2. ČSN CEN/TS 16188: 2012. Kaly, upravený bioodpad a půdy – Stanovení prvků ve výluzech lučavkou královskou a kyselinou dusičnou – Metoda plamenové atomové absorpční spektrometrie (FAAS).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30420.1 Stanovení vápníku a hořčíku metodou FAAS	Revize	0

STANOVENÍ VÁPŇÍKU A HOŘČÍKU METODOU FAAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Koncentrace vápníku a hořčíku se stanovuje na základě charakteristické absorpce záření na rezonančních čarách těchto prvků v plameni acetylen–oxid dusný metodou kalibrační křivky. Vzorky se před měřením ředí dvacetkrát. Ionizační interference se odstraňují přidávkou nadbytku draslíku.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s dutokatodovými výbojkami pro vápník a hořčík vhodný pro použití plamene oxid dusný–acetylen.
2. Dilutor nebo dávkovací pipety o objemu 250 µl a 4750 µl.

4. Chemikálie

1. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.
2. Acetylen čistý pro FAAS.
3. Oxid dusný a vzduch tlakový pro FAAS.
4. Základní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml – S1.

5. Pracovní standardní roztoky S2 o koncentraci 100 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku S1 (4). Baňky se doplní vodou po značku. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek.

6. Pracovní standardní roztoky S3 o koncentraci 10 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (5). Baňky se doplní vodou po značku. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek.

7. Ionizační pufr P1.

Příprava: 38,135 g chloridu draselného se rozpustí v asi 250 ml demineralizované

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30420.1 Stanovení vápníku a hořčíku metodou FAAS	Revize	0

vody. Po rozpuštění se kvantitativně převede do 1000ml odměrné baňky a doplní po značku. Koncentrace roztoku je $c(K) = 20,0 \text{ g/l}$.

8. Zředěný ionizační pufr P2 se připraví desetinásobným zředěním ionizačního pufru P1 (8) demineralizovanou vodou. Koncentrace roztoku je $c(K) = 2,0 \text{ g/l}$.

Poznámky

1. *Postup přípravy kyselin pro modelování matrice kalibračních standardních roztoků je uveden u příslušného mineralizačního resp. extrakčního postupu.*
2. *Zpravidla se používají komerčně dodávané standardní roztoky.*

5. Pracovní postup

Postup měření: Měří se v redukčním plameni acetylen–oxid dusný se šterbinovým hořákem o délce 5 cm umístěným v optické ose přístroje s využitím korekce nespecifické absorpce. Výška červené zóny plamene je asi (15 – 20) mm. Vápník se měří při vlnové délce 422,7 nm; hořčík při vlnové délce 285,2 nm. Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů.

Kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků S1 a pracovních standardních roztoků S2 a S3 se připraví kalibrační standardní roztoky pro konstrukci kalibračních křivek. Na každých 100 ml objemu standardního roztoku se dále přidává 10 ml ionizačního pufru P1 (8) a takové množství kyselin použitých pro mineralizaci resp. extrakci, aby výsledná koncentrace odpovídala dvacetinásobnému zředění. (Např. pro extrakt půdy 2M HNO₃ se na 100 ml standardního roztoku přidává 5 ml 2M HNO₃ a 10 ml ionizačního pufru P1). Postup přípravy kalibračních standardních roztoků uvádějí tabulky 1.a 2. Výsledná koncentrace draslíku v kalibračních standardních roztocích je 2000 mg/l.

Tabulka 1. Kalibrační standardní roztoky pro vápník.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7
Prac. standardní roztok	–	S3	S2	S2	S2	S1	S1
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	20	5	10	20	5	10
Koncentrace (mg/l)	0,00	2,00	5,00	10,0	20,0	50,0	100

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30420.1 Stanovení vápníku a hořčíku metodou FAAS	Revize	0

Tabulka 2. Kalibrační standardní roztoky pro hořčík.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7
Prac. standardní roztok	–	S3	S2	S2	S2	S2	S2
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	20	5	10	15	20	30
Koncentrace (mg/l)	0,00	2,00	5,00	10,0	15,0	20,0	30,0

Úprava vzorků: Před stanovením se vzorky ředí dvacetkrát. Pro ředění se využívá ionizační pufr P2 (9). Na dilutoru nebo ručními pipetami se dává 250 µl vzorku a 4750 µl ionizačního pufru P2 (9) do zkumavek o objemu (6 – 10) ml. Měří se po pečlivém promíchání.

Pokud obsahy vápníku překročí rozsah kalibrační křivky, je možné ředit padesátkrát (100 µl vzorku a 4900 µl ionizačního pufru P2 (9)). Tato změna složení matrice vzorků není pro vlastní měření významná a je možné použít kalibrační křivku určenou pro dvacetinásobné ředění. Obdobně pro stanovení nízkých koncentrací hořčíku je možné využít desetinásobné ředění vzorků. Pro stanovení hořčíku se pro běžné vzorky využívá kalibrační křivka v rozsahu do 20 mg/l, nejvyšší bod se využívá pouze pro vyšší obsahy hořčíku. Pro nízké obsahy vápníku se využívá kalibrační křivka do 10 mg/l, pro vyšší pak v celém rozsahu s vynecháním dvou nejnižších bodů.

Poznámky

3. *Vápník a hořčík ionizují v plameni acetylen–oxid dusný podstatně více než např. chrom, proto je nezbytné přidávat ionizační pufr i ke vzorkům.*
4. *Je možné použít plamen acetylen–vzduch pro stanovení hořčíku při odstranění rušení přídavkem lanthanu o koncentraci 1mg/ml. Při stanovení vápníku se interference tímto postupem u některých vzorků pouze omezí, ale neodstraní. Teprve vyšší teplota plamene oxid dusný–acetylen zaručí odstranění chemických interferencí v plameni pro všechny vzorky a s využitím potlačení ionizace stanovených prvků dává pro vápník správné výsledky.*
5. *Podle citlivosti přístroje je možné natáčet hořák tak, aby bylo možné využít celý rozsah kalibrační křivky.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30430.1 Stanovení železa a manganu metodou FAAS	Revize	0

STANOVENÍ ŽELEZA A MANGANU METODOU FAAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Koncentrace stanovovaných prvků se zjišťuje na základě charakteristické absorpce záření na vhodných čarách těchto prvků v plameni acetylen–vzduch metodou kalibrační křivky.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s korektorem nespecifické absorpce a s dutokatodovými výbojkami pro stanovované prvky.
2. Dilutor nebo pipety pro ředění vzorků.

4. Chemikálie

1. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.
2. Acetylen čistý pro FAAS.
3. Vzduch tlakový pro FAAS.
4. Základní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml – S1.
5. Pracovní standardní roztoky S2 o koncentraci 100 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku S1 (4). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Připravuje se zvlášť pro každý prvek.

6. Pracovní standardní roztoky S3 o koncentraci 10 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (5). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Připravuje se zvlášť pro každý prvek.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30430.1 Stanovení železa a manganu metodou FAAS	Revize	0

Poznámky

1. *Postup přípravy kyselin pro modelování matrice kalibračních standardních roztoků je uveden u příslušného mineralizačního resp. extrakčního postupu.*
2. *Zpravidla se používají komerčně dodávané základní standardní roztoky.*

5. Pracovní postup

Postup měření: Měří se v oxidačním plameni acetylen–vzduch se šterbinovým hořákem o délce 10 cm umístěným v optické ose přístroje s využitím korekce nespecifické absorpce. V tabulce 1 jsou uvedeny nejvhodnější vlnové délky pro měření. Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů.

Tabulka 1. Vlnové délky.

Prvek	Fe	Mn
Vlnová délka (nm)	248,3; 372,0	279,5; 403,1

Kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků S1 a pracovních standardních roztoků S2 a S3 se připraví kalibrační standardní roztoky pro konstrukci kalibračních křivek. Baňky se doplňují po značku roztokem modelujícím matici vzorků (podle mineralizačního postupu). V případě železa, kde se vzorky před měřením ředí desetkrát, se i koncentrace těchto kyselin snižuje na desetinu. Postup přípravy uvádí tabulka 2.

Tabulka 2. Kalibrační standardní roztoky pro železo a mangan.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7	8
Prac. standardní roztok	–	S3	S3	S2	S2	S2	S1	S1
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100	50
Pipetovaný objem (ml)	–	10	20	5	10	20	5	10
Koncentrace (mg/l)	0	1,00	2,00	5,00	10,0	20,0	50,0	100

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30430.1 Stanovení železa a manganu metodou FAAS	Revize	0

Úprava vzorků: Pro stanovení manganu se měří přímo v mineralizátech resp. extraktech půd. Pro nízké obsahy manganu se využívá kalibrační křivka do 10 mg/l a vlnová délka 279,5 nm. Pro vyšší obsahy manganu se využívá kalibrační křivka v celém rozsahu s vynecháním dvou nejnižších bodů a vlnová délka pro měření je 403,1 nm.

Pro stanovení železa je třeba vzorek nejprve desetkrát ředit. Osvědčilo se ředění vzorku na dilutoru 500 µl vzorku a 4500 µl vody. Po naředění a pečlivém promíchání se stanovuje obsah železa při 372,0 nm na kalibrační křivku s vynecháním dvou nejnižších bodů. Stanovení při vlnové délce 248,3 nm se využije jen pro výjimečně nízké obsahy železa s kalibrací do 10 mg/l.

E 	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30440.1 Stanovení sodíku a draslíku metodou FAES	Revize	0

STANOVENÍ SODÍKU A DRASLÍKU METODOU FAES

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Koncentrace stanovovaných prvků se zjišťuje na základě charakteristické emise záření sodíku a draslíku v plameni acetylen–vzduch metodou kalibrační křivky.

3. Přístroje a pomůcky

1. Plamenový fotometr s filtry pro měření sodíku a draslíku nebo atomový absorpční spektrofotometr s možností měření atomové emise.

4. Chemikálie

1. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.

2. Acetylen čistý pro FAAS.

3. Vzduch tlakový pro FAAS.

4. Základní standardní roztoky stanovovaných prvků o koncentraci 1 mg/ml – S1.

5. Pracovní standardní roztoky S2 o koncentraci 100 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku S1 (4). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek.

6. Pracovní standardní roztoky S3 o koncentraci 10 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (5). Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků. Přípravuje se zvlášť pro každý prvek.

Poznámky

1. *Postup přípravy kyselin pro modelování matrice kalibračních standardních roztoků je uveden u příslušného mineralizačního resp. extrakčního postupu.*
2. *Zpravidla se používají komerčně dostupné standardní roztoky.*

E  ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30440.1 Stanovení sodíku a draslíku metodou FAES	Revize	0

5. Pracovní postup

Postup měření: Měří se v mírně oxidačním plameni acetylen–vzduch s hořákem určeným pro emisní měření (u přístrojů AAS je možné využít i šterbinový hořák vhodně natočený k optické ose přístroje). Integrace signálu 3 s po prodlevě (3 – 5) s je zpravidla dostatečná pro všechny typy přístrojů. Zesílení se nastavuje při zmlžování nejvyššího bodu kalibrační křivky. Emise draslíku se měří při 766,5 nm, emise sodíku při 589,0 nm.

Kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků S1 a pracovních standardních roztoků S2 a S3 se připraví kalibrační standardní roztoky pro konstrukci kalibračních křivek. Baňky se doplňují po značku roztokem modelujícím matici vzorků (podle mineralizačního postupu). Při stanovení sodíku se kalibruje běžně jen do koncentrace 10 mg/l. Vyšší obsahy sodíku jsou výjimečné a pro tyto případy se potom použije kalibrační křivka v celém uvedeném rozsahu Postup přípravy uvádějí tabulky 1 a 2.

Tabulka 1. Kalibrační standardní roztoky pro draslík.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7	8
Prac. standardní roztok	–	S2	S2	S2	S2	S1	S1	S1
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	250	100	250
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	20	30	10	5	15
Koncentrace (mg/l)	0	5,00	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0

Tabulka 2. Kalibrační standardní roztoky pro sodík.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7
Prac. standardní roztok	-	S3	S3	S2	S2	S2	S2
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	-	10	20	5	10	15	20
Koncentrace (mg/l)	0,00	1,00	2,00	5,00	10,0	15,0	20,0

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30450.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou HG-AAS	Revize	0

STANOVENÍ ARSENU, ANTIMONU A SELENU METODOU HG-AAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Ve zředěném roztoku vzorku se arsen a antimon redukují jodidem. Vyloučený jod se odstraní přidávkem kyseliny askorbové. Selen se redukuje přidávkem koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Upravený extrakt resp. mineralizát se potom dávkuje do aparatury na generování hydridů. Hydridy vzniklé reakcí s tetrahydridoboritanem se vedou proudem inertního plynu do vyhřívané rozkladné trubice, která je umístěna v optické ose přístroje. Zde dochází k jejich termickému rozkladu a atomy prvků způsobí absorpci charakteristického záření.

Poznámky

- Obsah arsenu (a v některých případech i antimonu) v mineralizátech a extraktech půd je zpravidla vysoký a vzorek je možné před měřením zředit. Ředění zároveň dostatečně sníží koncentraci oxidujících kyselin a tím usnadní následnou redukci. Tento postup byl ověřen pro extrakty půd lučavkou královskou a 2M kyselinou dusičnou.*
- Pro generování hydridů je možné využít vsádkovou metodu (pomalá, ale nejcitlivější), metodu kontinuální (dále popisovanou) nebo metodu FIA. Při použití jiného vybavení je nezbytné postupovat podle doporučení výrobce.*

3. Přístroje a pomůcky

- Atomový absorpční spektrofotometr s příslušnými dutokatodovými výbojkami příp. vysokointenzivními dutokatodovými výbojkami nebo bezelektrodovými výbojkami (EDL).
- Zařízení pro generování hydridů.
- Dávkovací pipety o vhodném objemu pro vícenásobné dávkování.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30450.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou HG-AAS	Revize	0

4. Chemikálie

1. Jodid draselný, KI, roztok, $c(\text{KI}) = 20 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

Příprava: 20,00 g jodidu draselného KI se rozpustí v 70 ml demineralizované vody, převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku. Roztok se uchovává v chladu a temnu.

2. Kyselina askorbová, $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, roztok, $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) = 10 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

Příprava: 10,00 g kyseliny askorbové $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ se rozpustí v demineralizované vodě a po převedení do 100ml odměrné baňky se doplní po značku. Roztok se uchovává v chladu a temnu.

3. Tetrahydridoboritan sodný, NaBH_4 , roztok, $c(\text{NaBH}_4) = 5 \text{ g}/\text{l}$.

Příprava: 5 g tetrahydridoboritanu sodného NaBH_4 se rozpustí v roztoku hydroxidu sodného (4) a po převedení do 1000ml odměrné baňky se doplní tímto roztokem po značku. Roztok se přechovává v polyetylenové nádobě v chladu a temnu.

4. Hydroxid sodný, NaOH , roztok, $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ g}/\text{l}$.

Příprava: 10 g NaOH se rozpustí v asi 100 ml demineralizované vody a doplní se v 1000ml odměrné baňce po značku demineralizovanou vodou.

5. Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná (36 – 38)% , $\rho(\text{HCl}) = 1,19 \text{ g}/\text{cm}^3$.

6. Kyseliny použité pro extrakci nebo mineralizaci vzorků pro modelování matrice při přípravě kalibračních standardních roztoků.

7. Základní standardní roztok arsenu, antimonu a selenu o koncentraci 1 mg/ml – S1.

8. Pracovní standardní roztok arsenu, antimonu a selenu S2 o koncentraci 100 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml základního standardního roztoku S1 (7). Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků.

9. Pracovní standardní roztok arsenu, antimonu a selenu S3 o koncentraci 10 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S2 (8). Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků.

10. Pracovní standardní roztok arsenu S4 o koncentraci 1 mg/l.

Příprava: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml pracovního standardního roztoku S3 (9). Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matrici vzorků.

11. Argon čistoty 4.8 případně dusík shodné čistoty.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30450.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou HG-AAS	Revize	0

Poznámky

3. *V průběhu tvorby hydridů mohou být redukovány i další prvky (Cu, Ni, Fe, Pb apod.) až do elementárního stavu a při vyšších koncentracích způsobovat významné rušení. V těchto případech je nezbytné použít metodu standardních přídavek. Pokud je koncentrace mědi v měřeném roztoku vyšší než 1 mg/l, dochází k významnému poklesu signálu selenu. Tento vliv je možné eliminovat přidávkou 0,5 ml vodného roztoku 1,10-fenantrolin monohydrátu o koncentraci 100 g/l.*

5. Pracovní postup

Kalibrační křivky: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje pracovní standardní roztok S3 (9) resp. S4 (10) podle tabulky 1. Baňky se doplní po značku roztokem modelujícím matici vzorků.

Pro stanovení **arsenu resp. antimonu** se do plastových nádobek o objemu (75 – 100) ml pipetují 2 ml z roztoků pro konstrukci kalibrační křivky, 10 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a z byrety se přidá 38 ml demineralizované vody. Každý kalibrační bod se připravuje ve dvou paralelních stanoveních. Po promíchání se přidá 1 ml roztoku jodidu draselného (1) a po 5 min se přidá 1 ml roztoku kyseliny askorbové (2). Po každém přidavku se obsah nádobek opatrně promíchá. Měří se po 120 min stání.

Vzorky: Do pečlivě vymytých a suchých plastových nádobek (75 ml) se dává 1 ml mineralizátu resp. extraktu půdy, 5 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a 19 ml vody. Přidá se 500 µl roztoku jodidu draselného (1) a po 5 min se přidá 500 µl roztoku kyseliny askorbové (2). Po každém přidavku se obsah promíchá. Stanovení probíhá po 120 min stání.

Pro **stanovení selenu** se celý objem odměrných baněk s kalibračními roztoky převede do uzavíratelných čistých a suchých plastových nádobek o objemu 200 ml, přidá se 50 ml kyseliny chlorovodíkové (5) a obsah se důkladně promíchá. Po promíchání jsou roztoky připraveny k měření.

Vzorky: Do uzavíratelných čistých a suchých plastových nádobek o objemu (75 – 100) ml se dává 20 ml extraktu resp. mineralizátu, přidá se 10 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (5) a po promíchání se měří.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30450.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou HG-AAS	Revize	0

Tabulka 1. Kalibrační standardní roztoky.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4	5	6	7	8
Prac. standardní roztok	–	S4	S4	S4	S4	S4	S3	S3
Objem odm. baňky (ml)	100	100	100	100	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	2	5	10	20	30	5	10
Koncentrace (µg/l)	0	20	50	100	200	300	500	1 000

Měření: Peristaltickou pumpou se dávkuje vzorek nebo roztok kalibrační křivky rychlostí (7 – 10) ml/min a roztok tetrahydridoboritanu sodného (3) rychlostí (1 – 2) ml/min. Jako nosný plyn se používá dusík nebo argon nastavený na průtok asi 90 ml/min.

Vlnové délky měření uvádí tabulka 2. Při měření je nastavena programová prodleva 30 s od začátku nasávání vzorku. Poté se signál integruje po dobu 10 s. Odečítá se integrovaná výška signálu a vyhodnocuje se metodou kalibrační křivky.

Tabulka 2. Vlnové délky.

Prvek	As	Sb	Se
Vlnová délka (nm)	193,7	217,6	196,0

Poznámky

4. Při překročení rozsahu kalibrační křivky je možné měřený vzorek naředit až desetkrát tak, aby výsledná koncentrace kyseliny v měřeném roztoku byla zachována. Při ještě vyšším obsahu stanovovaného prvku se celý postup opakuje se zředěným mineralizátem.
5. Zařízení pro generování hydridů i vlastní rozkladná trubice se musí periodicky čistit. Přítomnost některých organických látek nebo stopy některých kovů vedou k významnému poklesu citlivosti stanovení a k podstatnému zvýšení šumu. Pro čištění se osvědčila horká lučavka královská zředěná vodou v poměru (1 : 5) (V/V) s následným omytím demineralizovanou vodou.
6. Roztoky jsou po přidavku jodidu a kyseliny askorbové stálé až jeden týden při uchování v chladu a temnu v uzavřených nádobkách, přesto je ale vhodné měřit v den jejich přípravy.
7. Přípravují se vždy jednoprvkové směsné standardní roztoky. Kalibrační roztoky se připravují vždy čerstvé.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30450.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou HG-AAS	Revize	0

6. Výpočet

$$T = X \times V / (1000 \times m)$$

- T obsah prvku ve vzorku (mg/kg),
X změřený obsah prvku v mineralizátu (odečet z kalibrační křivky) (µg/l),
V objem, do kterého byl převeden vzorek po mineralizaci, resp. extrakci (ml),
m navážka vzorku (g).

Literatura

1. ISO 20280:2007. Soil quality - Determination of arsenic, antimony and selenium in aqua regia soil extracts with electrothermal or hydride-generation atomic absorption spectrometry.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30460.1 Stanovení rtuti na přístroji AMA - 254	Revize	0

STANOVENÍ RTUTI NA PŘÍSTROJI AMA-254

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro upravené vzorky půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů podle postupu 30010.1 a je použitelný i pro stanovení v extraktech a mineralizátech.

2. Princip

Přesná navážka (resp. přesný objem extraktu) vzorku se v proudu kyslíku postupně vysuší a rozloží programovatelným nárůstem teploty. Proud kyslíku vede spaliny spolu se rtutí přes katalyzátor, kde dojde k dokonalé oxidaci spalin a k odstranění nežádoucích složek. Rtuť se potom zachytí v amalgamátoru. Po kvantitativním zachycení rtuti se amalgamátor zahřeje a uvolněné páry rtuti se vedou do měřicího prostoru, kde se měří pokles intenzity záření rtuťové výbojky způsobený přítomností rtuti.

Poznámky

1. *Na katalyzátoru dojde k zachycení halogenů a oxidů dusíku a síry, které by způsobily degradaci funkce amalgamátoru.*

3. Přístroje a pomůcky

1. Analyzátor stopových množství rtuti AMA-254 nebo obdobný.
2. Ruční dávkovací mikropipeta.
3. Analytické váhy.

4. Chemikálie

1. Kyslík technický.
2. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
3. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 2 \text{ mol/l}$.

Příprava: 139 ml kyseliny dusičné (2) se zředí na celkový objem 1000 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30460.1 Stanovení rtuti na přístroji AMA - 254	Revize	0

5. Pracovní postup

Pracovní standardní roztoky: Ze základního standardního roztoku o koncentraci rtuti 1000 mg/l se postupným ředěním připraví pracovní standardní roztoky a roztoky pro konstrukci kalibrační křivky podle návodu k použití přístroje.

Poznámky

2. *Při běžném provozu se pouze kontroluje správnost kalibrace a vlastní kalibrace se opakuje jen při nevyhovujícím výsledku kontroly. Kalibrace je nutná vždy po výměně katalytické trubice nebo amalgamátoru a při změně průtoku kyslíku.*
3. *Správnost kalibrace se kontroluje zpravidla pouze pro první rozsah přístroje stanovením obsahu rtuti ve 100 µl standardního roztoku o obsahu rtuti 100 µg/l.*
4. *Stabilitu kalibračních roztoků je možné zvýšit přidavkem 1 ml 1% roztoku dichromanu draselného (m/V) na každých 100 ml kalibračního standardního roztoku.*

Postup měření: Navážka vzorku v rozsahu 20 mg až 150 mg ($\pm 0,1$ mg) v niklové lodičce se umístí do držáku přístroje a spustí se analytický cyklus. Při stanovení obsahu rtuti v mineralizátech se do lodičky pipetuje (25 – 100) µl mineralizátu.

Postup termického zpracování vzorku je volitelný. Skládá se ze tří kroků – sušení, rozklad, prodleva. Po těchto krocích probíhá vlastní měřicí cyklus. Při stanovení kapalných vzorků je doba sušení 70 s na každých 100 µl vzorku nebo standardu. Pro upravené půdní vzorky plně postačuje doba sušení 20 s. Doba rozkladu je pro běžné vzorky, mineralizáty i standardní roztoky 120 s a prodleva 60 s. Při stanovení vzorků kalů a případně vzorků s vysokým obsahem organických látek je třeba krok rozkladu prodloužit na (150 – 210) s a prodlevu na 90 s.

Přístroj umožňuje výstup výsledků přímo v mg/kg naváženého vzorku nebo mg/l dávkovaného kapalného vzorku.

Poznámky

5. *Při stanovení rtuti v extraktech lučavkou královskou je životnost lodičky asi 50 jednotlivých odpalů.*
6. *V průběhu prodlevy před začátkem měřicího cyklu dochází k odstranění spalin z měřicího prostoru. Při příliš krátké prodlevě by mohlo docházet k nespecifické absorpci.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30460.1 Stanovení rtuti na přístroji AMA - 254	Revize	0

7. *Pokud dojde u některých vzorků k deformaci signálu rtuti (dvojité píky, příliš roztažený pik apod.), je nutné upravit teplotní cyklus zpracování vzorku. Především prodloužit dobu rozkladu a čekání.*
8. *Přístroj umožňuje i měření v rozsahu vyšším o jeden a půl koncentračního řádu. Tato možnost se využívá především při analýze kalů, které mají vyšší obsah rtuti než běžné vzorky půd.*
9. *Pro zvýšení homogenity vzorku je vhodné rozetřít alespoň 2 g vzorku v achátové misce na jemnozemi 2 a navažovat z takto upraveného vzorku.*
10. *Pro většinu půd je rozdíl mezi skutečným celkovým obsahem rtuti stanoveným z navážky pevného vzorku a obsahem stanoveným v extraktu lučavkou královskou zanedbatelný.*

Literatura

1. AMA 254. Návod k použití přístroje. Altec Praha 1994.
2. J. Zbírál: Porovnání stanovení rtuti metodou CVAAS a AMA-254 v extraktech půd lučavkou královskou. Bulletin laboratorního odboru 2001 V/1. ÚKZÚZ v Brně, 2001. ISSN 1212-5466. str. 21–27.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30470.1 Stanovení rtuti metodou CV AAS	Revize	0

STANOVENÍ RTUTI METODOU CV AAS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro mineralizáty a extrakty půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

Poznámky

- Uvedený postup byl upraven pro stanovení v extraktech lučavkou královskou. Stanovení obsahu rtuti v jiných mineralizátech a extraktech je také možné.*
- Zde je popsán postup pro zařízení pro kontinuální generování hydridů, které se používá nejčastěji. Použití FIA resp. dávkové stanovení je možné. Postup se upraví podle doporučení výrobce.*

2. Princip

V aparatuře pro generování hydridů se redukují rtuťnaté kationty na kovovou rtuť chloridem cínatým. Uvolněná rtuť se v proudu inertního plynu vede do měřicího prostoru atomového absorpčního spektrofotometru, kde se měří pokles intenzity záření rtuťové výbojky způsobený přítomností rtuti.

3. Přístroje a pomůcky

- Atomový absorpční spektrofotometr se rtuťovou dutokatodovou výbojkou.
- Zařízení pro metodu studených par.

4. Chemikálie

- Chlorid cínatý, roztok, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $c = 100 \text{ g/l}$.
Příprava: 10 g dihydrátu chloridu cínatého $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve 30 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3), převede do 100ml odměrné baňky a doplní po značku vodou. Úroveň slepého stanovení se sníží probubláním tohoto roztoku argonem nebo dusíkem po dobu 30 min. Připravuje se v den použití.
- Argon čistoty 4.8 případně dusík shodné čistoty.
- Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná 37%, $c(\text{HCl}) \sim 12 \text{ mol/l}$, $\rho \sim 1,18 \text{ g/cm}^3$.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30470.1 Stanovení rtuti metodou CV AAS	Revize	0

5. Pracovní postup

Pracovní a kalibrační standardní roztoky: Ze základního standardního roztoku o koncentraci rtuti 1000 mg/l se postupným ředěním připraví pracovní standardní roztoky a roztoky pro konstrukci kalibrační křivky. Připravuje se nulový bod kalibrační křivky a nejméně čtyři standardní kalibrační roztoky v rozsahu daném analyzovanými vzorky. Nejčastěji v rozmezí koncentrací rtuti (0 – 20) µg/l, např. (0; 2; 5; 10; 20) µg/l. Matrice standardů i slepých pokusů musí být shodná s matricí vzorků. Tyto roztoky se připravují vždy čerstvě.

Nastavení přístroje a měření: Extrakty lučavkou královskou a blank se před analýzou 10 × ředí vodou. Naředěný vzorek, slepý pokus nebo standardní kalibrační roztok o shodné matrici se přivádějí jedním kanálem dvoucestné peristaltické pumpy do reakční spirály, kde se rtuťnaté ionty redukuje roztokem chloridu cínatého, přiváděného druhým kanálem peristaltické pumpy. Uvolněná elementární rtuť je unášena proudem inertního plynu do křemenné trubice umístěné v optické ose atomového absorpčního spektrofotometru, kde se měří charakteristická absorpce záření při vlnové délce 253,4 nm. Koncentrace rtuti v mineralizátu se zjišťuje metodou kalibrační křivky.

Poznámky

3. *Nastavení přístroje a dávkování jednotlivých roztoků při měření závisí na použitém typu přístroje a vždy se upravuje podle pokynů výrobce.*
4. *Všechny chemikálie musejí mít obsah rtuti pod mezí detekce metody.*
5. *Stabilitu kalibračních roztoků je možné zvýšit přidáním 1 ml 1% roztoku dichromanu draselného (m/V) na každých 100 ml kalibračního standardního roztoku.*
6. *Při použití chloridu cínatého se oproti tetrahydridoboritanu významně omezí rušení některými prvky (např. Cu).*
7. *Plynná rtuť může difundovat některými plasty a sloučeniny rtuti se také mohou adsorbovat na stěny použitého nádobí a transportních hadiček.*

Literatura

1. ISO 16772:2004. Soil quality – Determination of mercury in aqua regia soil extracts with cold-vapour atomic spectrometry or cold-vapour atomic fluorescence spectrometry.
2. CEN/TS 16175 – 1:2013. Sludge, treated biowaste and soil – Determination of mercury – Cold vapour atomic absorption spectrometry (CVAAS).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30490.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou AAS-ETA	Revize	0

STANOVENÍ ARSENU, ANTIMONU A SELENU METODOU AAS-ETA

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro mineralizáty a extrakty vzorků půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů.

2. Princip

Arsen, antimon a selen se v mineralizátech resp. extraktech stanovují metodou atomové absorpční spektrofotometrie s elektrotermickou atomizací. Vliv nespecifické absorpce je eliminován účinnou korekcí (např. s využitím Zeemanova jevu). Ztráty stanovovaných prvků těkáním jsou minimalizovány přidávkem modifikátoru matrice.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s dutokatodovými výbojkami a korektorem nespecifické absorpce (je možné a pro stanovení selenu velmi výhodné použít EDL lampy nebo lampy s vysokou intenzitou záření).
2. Elektrotermický atomizátor s kyvetami pokrytými vrstvou pyrolytického grafitu a stejně upravenou platformou.
3. Ruční dávkovací mikropipety nebo automatické dávkovací zařízení pro elektrotermický atomizátor.

4. Chemikálie

1. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$.
2. Kyselina chlorovodíková, HCl , koncentrovaná, 36%, $c(\text{HCl}) = 11,7 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/cm}^3$.
3. Lučavka královská pro přípravu standardních roztoků a ředěných vzorků.

Příprava: Do 200ml odměrné baňky se odměří asi 100 ml vody, přidá se 42 ml kyseliny chlorovodíkové (2) a 14 ml kyseliny dusičné (1). Po opatrném promíchání a vytemperování se obsah odměrné baňky doplní po značku vodou a znovu se promíchá.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30490.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou AAS-ETA	Revize	0

4. Lučavka královská, zředěná 1 + 49 (V/V).

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se odměří asi 500 ml vody, přidá se 20 ml lučavky královské (3) a po promíchání se doplní vodou po značku a opět se promíchá.

5. Modifikátor matrice.

Příprava: 0,3 g dusičnanu paladnatého a 0,36 g hexahydrátu dusičnanu hořečnatého se rozpustí v asi 50 ml zředěné kyseliny dusičné (1). Roztok se převede do 100ml odměrné baňky a po vytemperování se doplní po značku zředěnou kyselinou dusičnou (6).

6. Kyselina dusičná zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 0,5 \text{ mol/l}$.

Příprava: 35 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) se pipetuje do 1000ml odměrné baňky a po vytemperování se doplní po značku demineralizovanou vodou.

Poznámky

1. *Dále uvedený postup popisuje stanovení v extraktech lučavkou královskou. Při použití jiného postupu mineralizace resp. extrakce je třeba vždy upravit matici kalibračních standardních roztoků tak, aby byla shodná s měřenými vzorky a to i v případě ředění.*

5. Pracovní postup

Pracovní a kalibrační standardní roztoky: Ze základních standardních roztoků arsenu, antimonu resp. selenu se postupným zředěním připraví samostatné roztoky o koncentraci 1 mg/l. V každém kroku se na 100 ml roztoku přidávají 2 ml kyseliny dusičné (1). Přípravuje se nulový bod kalibrační křivky a nejméně tři standardní kalibrační roztoky v rozsahu daném analyzovanými vzorky. Pro doplňování odměrných baněk po značku se používá roztok kyselin modelující složení mineralizátů vzorků. Pro extrakty lučavkou královskou se doporučený následující postup:

Arsen: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje (0; 2,00; 4,00; 6,00) ml standardního roztoku o koncentraci 1 mg/l. Baňky se doplní po značku zředěnou lučavkou královskou (4). Roztoky odpovídají koncentraci arsenu (0; 20; 40; 60) $\mu\text{g/l}$.

Antimon: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje (0; 5,00; 10,00; 15,00) ml standardního roztoku o koncentraci 1 mg/l. Baňky se doplní po značku zředěnou lučavkou královskou (4). Roztoky odpovídají koncentraci antimonu (0; 50; 100; 150) $\mu\text{g/l}$.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30490.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou AAS-ETA	Revize	0

Selen: Do 100ml odměrné baňky se pipetuje (0; 2,00; 4,00; 6,00) ml standardního roztoku o koncentraci 1 mg/l. Baňky se doplní po značku zředěnou lučavkou královskou (4). Roztoky odpovídají koncentraci selenu (0; 20; 40; 60) µg/l.

Vzorky: 2 ml extraktu vzorku resp. slepého pokusu se pipetují do 100ml odměrné baňky a baňky se doplní po značku zředěnou lučavkou královskou (4).

Nastavení přístroje a měření: Přístroj se nastaví podle doporučení výrobce a jednotlivé kroky teplotního zpracování se optimalizují podle konkrétního typu atomizátoru a kyvety. Hodnoty uvedené v tabulce 1. jsou pouze orientační.

Do grafitové kyvety se dává nejprve (5 – 10) µl modifikátoru (5) a potom (10 – 40) µl vzorku, slepého pokusu nebo standardního kalibračního roztoku. Při atomizačním kroku se měří charakteristická absorpce záření. Odečítá se integrovaná plocha signálu případně jeho výška po korekci na nespecifickou absorpci. Výsledky se vyhodnocují metodou kalibrační křivky. Pro všechny prvky je vhodné použít atomizaci z platformy. Platforma i kyveta by měly být potaženy vrstvou pyrolytického grafitu (resp. mít obdobné vlastnosti). Pro zvýšení teploty zpopelnění a tím snížení nespecifické absorpce je potřebné použít paladium-hořčnatý modifikátor matrice.

Tabulka 1. Doporučený teplotní program měření.

	As	Sb	Se
Vlnová délka měření (nm)	193,7	217,6	196,0
Sušení (°C)	90/130	90/130	90/130
Zpopelnění (°C)	1150	1050	1200
Atomizace (°C)	2200	1900	2400
Čištění (°C)	2500	2500	2500

Poznámky

2. Při mineralizaci resp. extrakci je třeba zajistit, aby nedocházelo ke ztrátám stanovovaných prvků. Vhodnější jsou postupy s mineralizací v uzavřených tlakových nádobkách nebo pod zpětným chladičem.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30490.1 Stanovení arsenu, antimonu a selenu metodou AAS-ETA	Revize	0

3. *Běžná deuteriová korekce nespecifické absorpce je pro mineralizáty a extrakty půd a příbuzných materiálů zpravidla nepoužitelná. Doporučená je korekce s využitím Zeemanova jevu.*
4. *Časy a teploty jednotlivých kroků měřicího cyklu závisejí na použitém modifikátoru, přístroji, způsobu ohřevu a použití platformy.*
5. *Pro kalibraci a do jisté míry i pro ředění extraktů před měřením je vhodné využít možnosti podavače atomizátoru. Je třeba zvážit vliv chyby ředění na výsledek měření.*

Literatura

1. ISO 20280:2007. Soil quality – Determination of arsenic, antimony and selenium in aqua regia soil extracts with electrothermal or hydride-generation atomic absorption spectrometry.
2. CEN/TS 16172: 2013. Sludge, treated biowaste and soil – Determination of elements using – Graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU ICP-OES

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro mineralizáty a extrakty vzorků půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů. Vedle stopových prvků je možné po zředění stanovit i obsah makroelementů.

2. Princip

Aerosol vzorku se proudem argonu přivede 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 vyzařování charakteristických kvant, která odpovídají záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity záření na vhodné linii stanovovaného prvku se stanoví koncentrace tohoto prvku ve vzorku. Spektrální interference se omezí vhodným výběrem vlnových délek a použitím monochromátoru s vyšším rozlišením. Je možné použít i matematické postupy, které jsou součástí většiny programů pro ovládání přístroje a vyhodnocení výsledků. Ionizační interference způsobené značně odlišnou maticí vzorků a standardních roztoků, kterou nelze vzhledem k variabilitě složení vzorků modelovat, je možné korigovat přidávkou vnitřního standardu. Optimálním prvkem využívaným jako vnitřní standard pro extrakty půd je lutecium.

3. Přístroje a pomůcky

1. Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem.

4. Chemikálie

1. Kyseliny pro modelování matrice standardních roztoků (podle použitého mineralizačního resp. extrakčního postupu).
2. Argon, vstupní tlak 0,6 MPa, čistota 4.2 nebo vyšší.
3. Základní standardní roztoky jednotlivých prvků o koncentraci 1000 mg/l. Je možné využít jednoprvkové i víceprvkové komerčně dodávané základní standardní roztoky.
4. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 2 \text{ mol/l}$.
Příprava: 139 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) se zředí vodou na výsledný objem 1000 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

Poznámky

1. *Vzhledem k významným spektrálním i ionizačním interferencím je vždy nezbytné pro daný přístroj, dané geometrické uspořádání plazmatu a rozlišení monochromátoru ověřit stanovení analýzou referenčních materiálů.*
2. *Tato kapitola popisuje podmínky stanovení na simultánním přístroji s vysokým rozlišením. Uvedený výběr vlnových délek a podmínek měření je uveden jako možný příklad řešení problému. Celková optimalizace stanovení vyžaduje podrobné seznámení s možnostmi přístroje, především s variantními vlnovými délkami. Z tohoto hlediska se zdají být vhodnější přístroje s větším množstvím dostupných vlnových délek a s vysokým rozlišením. V mineralizátech a extraktech půd jsou interference způsobené přítomností snadno ionizovatelných prvků velmi významné a k přejímání podmínek stanovení pro jiné matrice (např. vody) je třeba přistupovat velmi opatrně. Přístroj musí umožňovat měření v UV oblasti spektra.*
3. *Vzhledem k vysokému vlivu matrice je vhodnější radiální uspořádání přístroje. Použití ultrasonického zmlžovače není zpravidla žádným přínosem, protože s sebou přináší současné velmi významné zvýšení intenzity záření pozadí i nárůst dalších interferencí.*
4. *Zpravidla se používají komerčně dodávané standardní roztoky.*
5. *V kalibračních standardních roztocích je třeba modelovat koncentraci použité kyseliny tak, aby byla shodná s jejich koncentrací v měřených vzorcích.*

5. Pracovní postup

Příklad podmínek měření: v tabulce 1 je uveden příklad nastavení základních přístrojových parametrů pro přístroj SpectroBlue (Spectro GmbH, Kleve, Německo).

Tabulka 1. Příklad nastavení přístroje

Parametr	Mikroelementy a rizikové prvky	Makroprvky
Výkon (W)	1650	1400
Plazmový plyn (l.min ⁻¹)	14,5	
Auxiliary plyn (l.min ⁻¹)	1,0	
Zmlžovač (l.min ⁻¹)	1,0	
Proplach (s)	40	
Měřicí mód	standardní	rychlý
Doba měření (s)	36	5

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

Poznámky

6. *Pro každý přístroj je třeba především optimalizovat výkon plazmatu a průtoky jednotlivých plynů.*
7. *Použití vyššího výkonu plazmy může omezit některé interference.*
8. *Pro měření některých mineralizátů resp. extraktů je vhodné použít zvlhčovač argonu, který zamezí zanášení zmlžovače vyloučenými solemi ze vzorků.*

Vlnové délky a korekce pozadí: Tabulka 2 uvádí použité vlnové délky a příslušné korekce pozadí pro prvky měřené bez předchozího zředění mineralizátu resp. extraktu. Obecně platí, že především iontové čáry prvků (tedy zpravidla nejcitlivější linie) jsou více ovlivněny ionizačními interferencemi způsobenými přítomností snadno ionizovatelných prvků ve vzorcích.

Tabulka 2. Spektrální čáry prvků.

Prvek	Vhodné spektrální čáry			Další sp. čáry
	λ (nm)	Bkg1L (- nm)	Bkg2R (+ nm)	λ (nm)
As	189,042 I	188,930-188,951	189,091-189,092	197,262 I
Mo	202,095 II	201,994-202,014		
Zn	213,856 I	213,745-213,751		
Pb	220,353 II	220,318-220,321	220,375-220,379	168,215 II
Co	228,616 II	228,477-228,505		
Cd	228,802 I		228,823-228,827	
Ni	231,604 II	231,531-231,538	231,661-231,665	
Cr	267,716 II	267,581-267,593		357,869 I
V	292,464 II		292,504-292,514	
Be	313,042 II	312,843-312,855		
Cu	327,396 I	327,245-327,272		324,754 I
S	182,034 I	181,901-181,924	182,154-182,171	
Mn	257,611 II		257,726-257,741	

Legenda

I - atomová čára daného prvku, II- iontová čára daného prvku

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

Standardní roztoky a kalibrace: Pro stanovení rizikových prvků v neupravených mineralizátech se připravují směsné standardní kalibrační roztoky všech prvků uvedených v tabulce 2. Pro stanovení dalších prvků po desetinásobném naředění mineralizátu resp. extraktu se připravuje směsná kalibrační křivka všech prvků uvedených v tabulce 3.

Tabulka 4 uvádí koncentrace jednotlivých prvků ve standardních kalibračních roztocích rizikových prvků. Tabulka 5 uvádí koncentrace standardních kalibračních roztoků prvků měřených po desetinásobném zředění.

Tabulka 3. Spektrální čáry prvků měřené po desetinásobném ředění.

Prvek	Vhodné spektrální čáry			Další spektrální čáry
	λ (nm)	Bkg1L (-nm)	Bkg2R (+nm)	
Fe	259,941 II		260,031-260,043	
Mg	285,213 I	285,074-285,094		
Ca	317,933 II	317,813-317,821		422,673 I
Al	394,401 I	394,284-394,302	394,529-394,542	
Na	588,592 I	589,445-589,462		
K	769,896 I	769,839-769,853	769,930-769,951	766,491 I
P	177,495 I	177,425-177,432	177,594-177,602	213,618 I

Legenda I - atomová čára daného prvku, II- iontová čára daného prvku

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

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

Prvek	LOW	MIK	MIK1	MIK2	MIKH	MIKH Zn,Mn
As	0	0,1	0,2	2,0	10	
Be	0	0,1	0,2	2,0	10	
Cd	0	0,1	0,2	2,0	10	
Co	0	0,1	0,2	2,0	10	
Cr	0	0,1	0,2	2,0	10	
Cu	0	0,1	0,2	2,0	10	
Mo	0	0,1	0,2	2,0	10	
Ni	0	0,1	0,2	2,0	10	
Pb	0	0,1	0,2	2,0	10	
V	0	0,1	0,2	2,0	10	
Zn	0	0,1	0,2	2,0	10	50
Mn	0	0,1	0,2	2,0	10	50

Příprava standardních roztoků:

PR1: Do 50 ml odměrné baňky se pipetují tyto objemy roztoků o obsahu prvku 1000 mg.l⁻¹: As, Be a Mo – 5 ml. Do odměrné baňky se přidá 1 ml koncentrované kyseliny dusičné a baňka se doplní po značku vysoce čistou demineralizovanou vodou. Vzniklý roztok obsahuje prvky o koncentraci 100 mg/l a slouží jako pomocný pro přípravu kalibračních standardních roztoků.

MIK: Do 50 ml odměrné baňky se pipetují tyto objemy roztoků o obsahu prvků 100 mg.l⁻¹: 50 µl – MIX009 a PR1. Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matici vzorků (např. pro extrakci půdy podle postupu 30360.1 nebo 30370.1 se používá 2M HNO₃).

MIK1: Do 50 ml odměrné baňky se pipetují tyto objemy roztoků o obsahu prvků 100 mg.l⁻¹: 100 µl – MIX009 a PR1. Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matici vzorků (např. pro extrakci půdy podle postupu 30360.1 nebo 30370. se používá 2M HNO₃).

MIK2: Do 50 ml odměrné baňky se pipetují tyto objemy roztoků o obsahu prvků 100 mg.l⁻¹: 1000 µl – MIX009 a PR1. Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matici vzorků (např. pro extrakci půdy podle postupu 30360.1 nebo 30370. se používá 2M HNO₃).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

MIK3: Do 50 ml odměrné baňky se pipetují tyto objemy roztoků o obsahu prvků 100 mg.l⁻¹: 5000 µl – MIX009 a PR1. Baňka se doplní po značku roztokem modelujícím matici vzorků (např. pro extrakci půdy podle postupu 30360.1 nebo 30370.se používá 2M HNO₃).

LOW: Roztok modelující matici vzorků.

Tabulka 5. Směsné standardní kalibrační roztoky (mg/l).

Prvek	LOW	MAK1	MAK2	MAK3	MAK4	MAKH
Al	0	10	20	40	100	200
Ca	0	10	20	40	100	200
Fe	0	10	20	40	100	200
K	0	2,5	5	10	25	50
Mg	0	2,5	5	10	25	50
Na	0	2,5	5	10	25	50
P	0	2,5	5	10	25	50

Příprava standardních roztoků:

MAKH: Do 100 ml odměrné baňky se pipetují tato objemy roztoků o obsahu 1000 mg.l⁻¹: Al, Ca a Fe – 20 ml, K, Mg, Na a P – 5 ml. Baňka se doplní po značku roztokem 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

MAK4: Do 50 ml odměrné baňky se pipetuje 25 ml roztoku MAKH. Baňka se doplní po značku roztokem 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

MAK3: Do 50 ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml roztoku MAKH. Baňka se doplní po značku roztokem 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

MAK2: Do 50 ml odměrné baňky se pipetuje 5 ml roztoku MAKH. Baňka se doplní po značku roztokem 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

MAK1: Do 50 ml odměrné baňky se pipetuje 2,5 ml roztoku MAKH. Baňka se doplní po značku roztokem 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

LOW: Roztok 2 mol.l⁻¹ HNO₃.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30500.2 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-OES	Revize	0

Kalibrace: Průběh kalibračních křivek je většinou lineární. V některých případech (např. stanovení sodíku, draslíku a dalších makroelementů) se dosáhne vhodnějšího proložení křivkou druhého řádu.

Postup měření: Pro stanovení prvků uvedených v tabulce 2 se používají neupravené mineralizáty resp. extrakty. Prvky uvedené v tabulce 3 je zpravidla vhodné stanovit po desetinásobném zředění demineralizovanou vodou nebo vhodně zředěnou kyselinou. Ve vzorcích pro měření a ve standardních kalibračních roztocích je nezbytné zachovat shodnou koncentraci kyselin. Po proměření kalibračních roztoků se provede kontrola nastavení čar a pozadí. V případě, že je nutné změnit nastavení čar a pozadí, provede se následná recalibrace naměřených dat.

Poznámky

9. *Koncentrace standardů kalibračních křivek a postup jejich přípravy je možné dle předpokládaných obsahů jednotlivých prvků upravit.*
10. *V některých případech je vhodné provést korekci interferencí metodou vnitřního standardu. Pro půdy se osvědčil vnitřní standard lutecium o koncentraci 5 mg.l⁻¹.*
11. *Při obsazích fosforu v ředěných mineralizátech pod 1,5 mg.l⁻¹ je vhodné provést stanovení z neředěného mineralizátu.*

Literatura

1. J. Zbírál: Determination of Potentially Dangerous Elements in Soil Extracts by Atomic Emission Spectrophotometry - ICP: Correction of Interferences. Commun. Soil. Sci. Plant Anal., 27(5-8), 1527-1536.
2. ISO 22036:2008. Soil quality – Determination of trace elements in extracts of soil by inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry (ICP-AES).
3. ČSN EN 16170: 2017. Kaly, upravený bioodpad a půdy – Stanovení prvků optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU AAS-ETA

1. Rozsah použití

Postup je určen pro stanovení olova, kadmia, chromu, kobaltu a mědi v mineralizátech a extraktech půd a příbuzných materiálů.

2. Princip

Vzorek nadávkovaný do elektrotermického atomizátoru se po vysušení a termickém rozložení matrice atomizuje při vysoké teplotě. Měří se absorpce charakteristického záření způsobená přítomností atomů stanovovaného prvku v optické dráze přístroje v průběhu atomizace. V případě olova a kadmia se zvyšuje teplota fáze zpopelnění přidavkem modifikátoru.

3. Přístroje a pomůcky

1. Atomový absorpční spektrofotometr s elektrotermickým atomizátorem a možností korekce nespecifické absorpce s grafitovými kyvetami s povrchem z pyrolytického grafitu.
2. Dávkovací pipeta o objemu (5 – 50) μl nebo automatický dilutor a dávkovač dodávaný jako součást elektrotermického atomizátoru.
3. Dutokatodové výbojky resp. výbojky s vysokou intenzitou záření pro stanovované prvky.

4. Chemikálie

1. Kyselina dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$, nejlépe přečištěná podvarovou destilací.
2. Chlorid vápenatý, CaCl_2 , pomocný roztok, $c(\text{CaCl}_2) = 0,10 \text{ mol/l}$.

Příprava: 1,470 g dihydrátu chloridu vápenatého $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v asi 50 ml demineralizované vody a po rozpuštění se převede do 100ml odměrné baňky, přidá se 6,93 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) a baňka se doplní po značku vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

3. Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , pomocný roztok, $c(\text{NH}_4\text{NO}_3) = 2 \text{ mol/l}$.
Příprava: 80,04 g dusičnanu amonného se rozpustí v asi 400 ml demineralizované vody, přidá se 20 ml kyseliny dusičné (1) a objem se upraví na 500 ml.
4. Kyselina dusičná, HNO_3 , zředěná, $c(\text{HNO}_3) = 4,3 \text{ mol/l}$.
Příprava: K 30 ml koncentrované kyseliny dusičné (1) se přidá voda do výsledného objemu 100 ml.
5. Základní standardní roztoky jednotlivých prvků o koncentraci 1000 mg/l. Zpravidla se používají komerčně dodávané standardní roztoky.
6. Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.
7. Modifikátor matrice pro stanovení olova a kadmia.
Příprava: 0,50 g dihydrogenfosforečnanu amonného $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ se rozpustí v asi 40 ml vysoce čisté vody a objem se upraví na 50 ml. Čistota vody i dihydrogenfosforečnanu musí být kontrolovány na obsah stanovovaných prvků.

Poznámky

1. *Chemikálie a deionizovaná voda používané při extrakci, ředění nebo přípravě standardů musejí mít nejvyšší dostupný stupeň čistoty.*
2. *Argon je možné nahradit dusíkem o shodné čistotě.*

5. Pracovní postup

Standardní roztoky a kalibrační křivka: Postupným ředěním se ze základních standardních roztoků 1000 mg/l (5) připraví pracovní standardní roztoky S4 o koncentraci 1000 $\mu\text{g/l}$ a S5 o koncentraci 100 $\mu\text{g/l}$. Kalibrační standardní roztoky se připraví z těchto pracovních standardních roztoků podle tabulek 1 až 4. Na každých 10 ml objemu odměrné baňky se do každé baňky přidá 1 ml pomocného roztoku (2) při analýze extraktů půd roztokem chloridu vápenatého, 5 ml pomocného roztoku (3) při analýze extraktů půd roztokem dusičnanu amonného nebo 1 ml pomocného roztoku (4) pro extrakty 0,43M HNO_3 . Baňky se potom doplní po značku demineralizovanou vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

Poznámky

- Je možné připravit směsný kalibrační standardní roztok o koncentraci 50 µg/l pro Co, Cu, Ni; 100 µg/l pro Pb; 20 µg/l pro Cr a 5 µg/l pro Cd. Z pracovních standardních roztoků S4 se do 100ml odměrné baňky pipetuje 10 ml pro Pb, po 5 ml pro Ni, Cu a Co, 2 ml pro Cr. Z pracovního standardního roztoku Cd S5 se do této odměrné baňky pipetuje 5 ml. Přidá se příslušný roztok pro modelování matrice podle použitého postupu extrakce stejně jako u kalibračních standardních roztoků pro jednotlivé prvky a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou.
- Při použití jiného extraktu než jsou uvedené se matrice standardních roztoků upravuje tak, aby co nejlépe odpovídala měřeným vzorkům.

Tabulka 1. Příprava kalibračních standardních roztoků pro kadmium.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4
Prac. standardní roztok	–	S5	S5	S5
Objem odměrné baňky (ml)	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	1	2	5
Koncentrace (µg/l)	0,00	1,00	2,00	5,00

Tabulka 2. Příprava kalibračních standardních roztoků pro olovo.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4
Prac. standardní roztok	–	S5	S4	S4
Objem odměrné baňky (ml)	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	20	5	10
Koncentrace (µg/l)	0,00	20,0	50,0	100

Tabulka 3. Příprava kalibračních standardních roztoků pro chrom.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4
Prac. standardní roztok	–	S5	S5	S5
Objem odměrné baňky (ml)	100	100	100	100
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	20
Koncentrace (µg/l)	0,00	5,00	10,0	20

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

Tabulka 4. Příprava kalibračních standardních roztoků pro nikl, kobalt a měď.

Poř. č. kal. roztoku	1	2	3	4
Prac. standardní roztok	–	S5	S5	S5
Objem odměrné baňky (ml)	100	50	50	50
Pipetovaný objem (ml)	–	5	10	25
Koncentrace (µg/l)	0,00	10,0	20,0	50

Příklad nastavení přístroje a měření je uveden v tabulce 5. Odečítá se integrovaná plocha signálu po korekci nespecifické absorpce. Dávkuje se 20 µl měřeného roztoku nejlépe do přehřáté kyvety - hot inject 85 °C. Pro stanovení olova a kadmia se dávkuje 10 µl vzorku, slepého pokusu nebo kalibračního standardního roztoku a 10 µl roztoku modifikátoru (8). Příklady teplotních programů elektrotermického atomizátoru pro jednotlivé prvky jsou uvedeny v tabulkách (6-7).

Tabulka 5. Příklady přístrojových parametrů.

Prvek	Cu	Cr	Ni	Co	Pb	Cd
Vlnová délka (nm)	324,8	357,9	232,0	240,7	217,0	228,8
Žhavicí proud (mA)	4	7	6	6	5	4
Opt. štěrba (nm)	0,5	0,2	0,2	0,2	0,5	0,5

Poznámky

5. *Vždy se postupuje podle příslušného návodu k použití přístroje a uvedené parametry se ověří.*
6. *Při použití víceprvkových dutokatodových výbojek je třeba zvýšit hodnotu proudu až o 2 mA oproti hodnotám v tabulce 3.5.1.-5.*
7. *Při použití směsného standardního kalibračního roztoku a režimu automatického naředění kalibračních standardních roztoků je dávkování do kyvety (0; 5; 10; 15) µl. Pro stanovení kadmia a olova je dávkování do kyvety (0; 3; 6; 9) µl, potom se dávkuje 10 µl vody a 10 µl modifikátoru matrice.*
8. *Při stanovení je nezbytné věnovat zvýšenou pozornost slepým pokusům.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

Tabulka 6. Příklad teplotního programu pro nikl, kobalt, chrom a měď.

Krok	Teplota (° C)	Čas (s)	Ochranný plyn (l/min)	Odečet signálu
1	150	30	3,0	
2	800	20	3,0	
3	800	10	3,0	
4	800	2	0,1	
5	2400	0,9	0	ANO
6	2400	2	0	ANO
7	2400	2	3,0	

Tabulka 7. Příklad teplotního programu pro olovo a kadmium.

Krok	Teplota (°C)	Čas (s)	Ochranný plyn (l/min)	Odečet signálu
1	150	30	3,0	
2 ^A	600, 500	20	3,0	
3 ^A	600, 500	10	3,0	
4 ^A	600, 500	2	0,1	
5	2100	0,0	0	ANO
6	2100	2	0	ANO
7	2100	2	3,0	

A vyšší hodnota platí pro olovo, nižší pro kadmium.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30620.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou AAS - ETA	Revize	0

6. Výpočet

$$T = X \times V/m$$

- T obsah prvku ve vzorku (mg/kg),
X změřená koncentrace prvku v extraktu (mg/l),
m navážka vzorku pro extrakci (g),
V objem extrakčního činidla pro extrakci (ml).

Poznámky

9. *Poměr V/m pro extrakci roztokem chloridu vápenatého, extrakci vodou a extrakci 0,43M kyselinou dusičnou je 10, pro extrakci roztokem dusičnanu amonného 2,5.*

Literatura

1. ISO 11047:1998. Soil quality – Determination of trace cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometry method.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30630.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-MS	Revize	0

ANALÝZA MINERALIZÁTŮ A EXTRAKTŮ METODOU ICP-MS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro stanovení obsahu Be, V, Co, Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Mo, Sn, Sb, Tl, Pb a dalších prvků v extraktech a mineralizátech půd a obdobných materiálů.

2. Princip

Vzorek se nasává peristaltickou pumpou do zmlžovače, kde vzniká jemný aerosol, který se dále odvádí nosným plynem (argon) do plazmové hlavice. Tam vlivem vysoké teploty plazmatu dochází k desolvaci, atomizaci a ionizaci vzorku. Vzniklé ionty se vedou do kolizně reakční cely, v níž se odstraní polyatomické interferenty a dále do kvadrupólového analyzátoru, který na základě poměru hmoty a náboje iontu tyto propouští. Následně se prošlé ionty detekují násobičem iontů.

3. Přístroje a pomůcky

1. Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem vybavený kolizně reakční celou.
2. Zařízení pro přípravu vysoce čisté demineralizované vody.
3. Podvarové destilační zařízení pro přípravu vysoce čistých minerálních kyselin.

4. Chemikálie

1. Kyseliny dusičná, HNO_3 , koncentrovaná, 65%, $c = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/cm}^3$, podvarově destilovaná.
2. Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
3. Helium, čistota 4.9.
4. Základní směsný standardní roztok (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, V, Zn) o koncentraci 100 mg/l. Použije se komerčně dodávaný roztok nebo se připraví ředěním základních jednoprvkových standardních roztoků (5).
5. Základní standardní roztoky jednotlivých prvků Be, V, Co, Cr, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Mo, Sn, Pb, Sb, Tl, Ge, In, Te, Bi o koncentraci 1000 mg/l. Přednostně se použijí komerčně dodávané roztoky.
6. Dusičnan amonný, NH_4NO_3 , $c(\text{NH}_4\text{NO}_3) = 1 \text{ mol/l}$, čistota dle normy ISO 19730.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30630.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-MS	Revize	0

7. Chlorid vápenatý, CaCl_2 , extrakční roztok, $c(\text{CaCl}_2) = 0,01 \text{ mol/l}$.

Příprava: 1,470 g dihydrátu chloridu vápenatého ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) se rozpustí v 1000 ml destilované vody.

8. Roztoky vnitřních porovnávacích prvků (Ge, In, Te, Bi).

Příprava: Ze základních standardních roztoků (5) se připraví jeden směsný roztok o koncentraci 1 mg/l pro každý prvek. Do 250ml skleněné odměrné baňky se z každého základního roztoku pipetuje 250 μl , přidá se 5 ml podvarově destilované kyseliny dusičné (1) a doplní se vysoce čistou demineralizovanou vodou po značku. Roztok se připravuje vždy čerstvý před měřením.

Poznámky

1. *Vzhledem ke stanovení často velmi nízkých koncentrací prvků v připravených mineralizátech je nezbytné věnovat zvýšenou pozornost čistotě používané kyseliny a demineralizované vody pro přípravu kalibračních standardních roztoků.*

5. Pracovní postup

Podmínky měření: Při měření se obvykle vychází z doporučení výrobce pro daný přístroj. Tabulka 1 uvádí příklady nastavení ICP-MS spektrometru.

Standardní kalibrační roztoky

Ze základních standardních roztoků (4), (5) se zředěním připraví jeden směsný standardní roztok o koncentraci 10 mg/l. Do 50ml plastové odměrné baňky se pipetuje 500 μl z roztoků o koncentraci 1000 mg/l (5), (ze zásobního roztoku o koncentraci 100 mg/l (4) se pipetuje 5000 μl), přidá se 1 ml podvarově destilované kyseliny dusičné (1) a doplní se vysoce čistou demineralizovanou vodou. Z takto připraveného směšného standardního roztoku se do 25ml plastových odměrných baněk pipetuje dále (0; 25; 50; 250; 500; 2500) μl , přidá se 0,5 ml podvarově destilované kyseliny dusičné (1). Podle použitého extrakčního roztoku se buď doplní po značku vysoce čistou demineralizovanou vodou (pro analýzu vodných výluhů) nebo pro extrakci 0,43M kyselinou dusičnou. Pro analýzu extraktu dusičnanem amonným se přidá 5 ml dusičnanu amonného (6) a vysoce čistá demineralizovaná voda. V případě extrakce chloridem vápenatým (7) se přidá 5 ml extrakčního roztoku (7) a doplní se po značku vysoce čistou demineralizovanou vodou. Takto připravené kalibrační roztoky obsahují (0; 0,01; 0,02; 0,10; 0,20; 1,00) mg/l analytů. Roztoky se připravují vždy čerstvé.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30630.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-MS	Revize	0

Tabulka 1. Příklad na stavení ICP-MS spektrometru.

Parametr	Ladění	Heliový mód
RF power	ne	1500 W
Sampl. Depth	ano	6 mm
Torch-H	ano	* mm
Carrier Gas	ano	0,8 l/min
Makeup Gas	ano	0,2 l/min
Nebulizer pump	ne	0,1 rps
S/C Temp	ne	2 °C
Extract 1	ano	(1 – 5) V
Extract 2	ano	–150 V až – 120 V
Omega Bias-ce	ano	*V
Omega Lens-ce	ano	*V
Cell Entrance	ne	– 22 V
Plyn (H ₂ , He)	ano	5,5 ml/min
QP Focus	ne	– 10 V
Cell Exit	ne	– 46 V
OctP RF	ne	*V
OctP Bias	Ne	– 19 V
QP Bias	Ne	– 15 V

* přesná hodnota se nastaví bezprostředně před měřením

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30630.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-MS	Revize	0

Tabulka 2. Měření izotopů analytů a vnitřních porovnávacích prvků.

Analyt	Izotop	Vnitřní porovnávací prvek
Berylium	^9Be	^{72}Ge
Vanad	^{51}V	^{115}In
Chrom	^{52}Cr	^{115}In
Kobalt	^{59}Co	^{115}In
Nikl	^{60}Ni	^{115}In
Měď	^{63}Cu	^{115}In
Zinek	^{66}Zn	^{72}Ge
Arsen	^{75}As	^{125}Te
Molybden	^{95}Mo	^{72}Ge
Kadmium	^{111}Cd	^{115}In
Cín	^{119}Sn	^{125}Te
Antimon	^{121}Sb	^{115}In
Thalium	^{205}Tl	^{209}Bi
Olovo	^{208}Pb	^{209}Bi

Postup měření

Pro měření se extrakty v 1M dusičnanu amonném a 0,01M chloridu vápenatém ředí 5 ×. Do plastových zkumavek o objemu (10 – 15) ml se pipetuje 1000 µl extraktu a 4000 µl vysoce čisté demineralizované vody. Extrakty se ředí vždy v den měření do suchých zkumavek. Extrakty ve vysoce čisté demineralizované vodě a 0,43M kyselině dusičné se měří neředěné. Pokud je přístroj vybaven automatickým ředicím systémem, mohou být extrakty ředěny přímo během měření. Během měření se roztok vnitřních porovnávacích prvků (8) přísává automaticky současně se vzorky.

Měření vychází z optimalizované metody a dále se postupuje podle příslušného návodu k použití přístroje a dle doporučení výrobce. Výsledky neznámých obsahů prvků ve vzorku se měří a vyhodnocují metodou kalibrační přímky s vnitřním porovnávacím prvkem.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30630.1 Analýza mineralizátů a extraktů metodou ICP-MS	Revize	0

Poznámky

2. *Postup byl vypracován a ověřen na ICP-MS spektrometru Agilent 7500ce (Agilent, Japonsko). Podmínky měření jsou uvedeny pro tento přístroj s použitím kolizní reakční cely za účelem odstranění možných polyatomických interferentů. Pokud přístroj není vybaven kolizní reakční celou, je nutno použít matematickou korekci z důvodu výskytu polyatomických interferencí (ArCl, ArO, ClO, ClOH, ArC atd.) na některých měřených izotopech (Cr, V, Cu, As, atd.).*

Literatura

1. ČSN EN 16171: 2017. Kaly, upravený bioodpad a půdy - Stanovení prvků hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS).
2. E. Niedobová, E. Obdržálková: Zpracování SOP pro přípravu slabých extrakčních činidel (vodný výluh, 1M NH₄NO₃) a měření vyextrahovaných prvků metodou ICP-MS. Bulletin NRL 1/2009, ÚKZÚZ, Brno, 2009.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30640.1 Stanovení fluoru iontově selektivní elektrodou	Revize	0

STANOVENÍ FLUORU IONTOVĚ SELEKTIVNÍ ELEKTRODOU

1. Rozsah použití

Stanovení je určeno pro vzorky půd, kalů, sedimentů a příbuzných materiálů upravených podle postupu 30010,1.

Poznámky

- Postup je určen pro stanovení vodorozpustného nebo celkového obsahu fluoru. Koncové měření iontově selektivní elektrodou je možné nahradit iontovou chromatografií (IC) nebo kapilární zonální elektroforézou (CZE).*
- Extrakce určená pro stanovení vodorozpustného fluoru je použitelná i pro stanovení obsahu chloridů, síranů atd. Tento postup je zvláště vhodný při použití simultánních metod stanovení jako IC nebo CZE.*

2. Princip

Vzorek se extrahuje vodou nebo se rozloží tavením s alkalickým hydroxidem. Obsah fluoru v extraktu resp. mineralizátu se stanoví iontově selektivní elektrodou.

3. Přístroje a pomůcky

- Milivoltmetr nebo pH-metr s fluoridovou iontově selektivní elektrodou.
- Horizontální nebo rotační třepačka.
- Topná deska a niklové kelímky.
- Filtrační papíry (Schleicher Schüll 602 1/2h nebo obdobné).

4. Chemikálie

- Kyselina citronová, $C_6H_8O_7$, $c(C_6H_8O_7) = 1,5 \text{ mol/l}$.
Příprava: 315 g monohydrátu kyseliny citronové se rozpustí v asi 850 ml demineralizované vody a po rozpuštění se doplní na 1000 ml.
- Kyselina chlorovodíková, HCl , zředěná, 1 : 1 (V/V).
Příprava: K 500 ml demineralizované vody se opatrně přidá 500 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (37%).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30640.1 Stanovení fluoru iontově selektivní elektrodou	Revize	0

3. Tlumivý roztok.

Příprava: 249 g dihydrátu citronanu trisodného $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ se rozpustí v asi 700 ml demineralizované vody. K roztoku se potom přidává zředěná kyselina chlorovodíková (2), až se dosáhne hodnoty $pH = 6,0$. Potom se objem upraví na 1000 ml demineralizovanou vodou.

4. Zásobní standardní roztok fluoru o koncentraci 1000 mg/l.

Příprava: 2,210 g fluoridu sodného vysušeného do konstantní hmotnosti při $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ se rozpustí asi ve 200 ml demineralizované vody. Po rozpuštění se roztok převede kvantitativně do 1000ml odměrné baňky a baňka se doplní po značku. Vhodnější je použít komerčně dodávaný roztok o této koncentraci.

5. Pevný hydroxid sodný, NaOH.

5. Pracovní postup

Extrakce půd pro stanovení vodorozpuštěného fluoridu: 20,0 g upraveného vzorku se naváží do vhodné plastové nádoby o objemu (150 – 250) ml a extrahuje se 50 ml demineralizované vody po dobu 120 min na horizontální nebo rotační třepačce. Během extrakce musí být zaručeno dobré promíchávání suspenze bez usazování vzorku. Suspenze se potom filtruje do vhodných nádobek. Prvních 5 ml filtrátu se odstraní. 25 ml filtrátu se pipetuje do 50ml odměrné baňky, přidá se 15 ml tlumivého roztoku (3) a baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou.

Rozklad půd pro stanovení celkového obsahu fluoru: (0,500 $\pm$ 0,005) g vzorku se taví s asi 4 g (přibližně 20 peciček) pevného hydroxidu sodného (5). Po celkovém protavení a ochlazení se tavenina rozpustí přidávkem demineralizované vody. Roztok se potom převede kvantitativně do 200ml odměrné baňky za pomoci demineralizované vody a 25 ml roztoku kyseliny citronové (1). Odměrná baňka se doplní po značku demineralizovanou vodou.

Pracovní a kalibrační standardní roztoky: Ze základního certifikovaného standardního roztoku o koncentraci fluoru 1000 mg/l se postupným ředěním připraví pracovní standardní roztoky a roztoky pro konstrukci kalibrační křivky. Připravuje se nulový bod kalibrační křivky a nejméně tři standardní kalibrační roztoky v rozsahu daném analyzovanými vzorky. Na každých 50 ml objemu odměrné baňky použité pro přípravu kalibračních standardních roztoků se pipetuje 15 ml tlumivého roztoku (3) a baňky se doplní po značku demineralizovanou vodou.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30640.1 Stanovení fluoru iontově selektivní elektrodou	Revize	0

Měření: Při měření iontově selektivní elektrodou a stanovení koncentrace fluoridů v extraktech a mineralizátech půd se postupuje podle návodu k použití iontově selektivní elektrody. Při stanovení fluoridů iontovou chromatografií nebo kapilární zónovou elektroforezou se dodržuje příslušný metodický postup dodaný výrobcem přístroje.

Literatura

1. Wegleitung für die Probennahme und Analyse von Schadstoffen im Böden. Bundesamt für Umweltschutz, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agriculturchemie und Umwelthygiene. EDMZ Bern, 1987.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Stanovení organických cizorodých látek	Vydání	4
		Revize	0

STANOVENÍ ORGANICKÝCH CIZORODÝCH LÁTEK

V této kapitole jsou uvedeny postupy vybraných stanovení organických cizorodých látek. Byla snaha postihnout látky limitované současnou legislativou ČR a perzistentní polutanty uvedené ve Stockholmské úmluvě. Vzhledem ke značné obtížnosti a časové náročnosti analýz perzistentních organických polutantů se často pro charakterizaci znečištění půdy organickými cizorodými látkami dosud používají i skupinové metody jako stanovení organicky vázaných halogenů (AOX, EOX) a stanovení sumy nepolárních extrahovatelných látek (NEL). Tyto postupy však mají závažná omezení, proto se v posledních letech nahrazují metodami, které stanovují jednotlivé látky.

Perzistentní organické polutanty (POP) jsou cizorodé látky, které dlouhodobě přetrvávají v životním prostředí, kumulují se v potravním řetězci a mají prokazatelně škodlivý vliv na lidské zdraví. Definice těchto látek, snižování jejich produkce, eliminace úniků a postupný zákaz jejich používání jsou předmětem mezinárodních úmluv. K základním patří Protokol o perzistentních organických znečišťujících látkách (1984) k Úmluvě o dálkovém znečišťování ovzduší přecházejícím hranice států (1979) a Stockholmská úmluva o perzistentních organických znečišťujících látkách (2001). Seznamy POP těchto úmluv jsou průběžně rozšiřovány a zahrnují první generaci organochlorových pesticidů (OCP), z průmyslových chemikálií pak polychlorované bifenyly (PCB), bromované zpomalovače hoření (BFR), chlorované parafiny (SCCPs), perfluorované povrchově aktivní látky (PFAS) a nežádoucí vedlejší produkty (PAH, PCDD/PCDF). Vzhledem k fyzikálně-chemickým vlastnostem POP a nízkým hladinám jejich koncentrací ve složkách životního prostředí, se pro jejich stanovení používají vysoce citlivé a selektivní detekční systémy, nejčastěji hmotnostní spektrometrie ve spojení s plynovou nebo kapalinovou chromatografií.

V následujících kapitolách jsou uvedeny metody stanovení PAH, OCP, PCB, PBDE, PFAS, NEL a některé další. Metody pro stanovení kontaminací v půdě a podobných matricích jsou postupně zpracovávány a vydávány jako normované postupy (EN, ČSN, ISO). Výběr z přehledu souvisejících norem je v uvedené literatuře.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Stanovení organických cizorodých látek	Vydání	4
		Revize	0

Literatura

1. Stockholmská úmluva o POP, Stockholm, Švédsko, 2001. <http://www.pops.int>.
2. Protokol o persistentních organických polutantech k Úmluvě o dálkovém přeshraničním přenosu škodlivin (1979), Aarhus, Dánsko, 1998. <http://www.unece.org>.
3. ČSN EN 16167: Kaly, upravený bioodpad a půdy - Stanovení polychlorovaných bifenyli (PCB) plynovou chromatografií s detekcí hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD). 2013.
4. ČSN EN 16179: Kaly, upravený bioodpad a půdy - Návod pro úpravu vzorků. 2013.
5. ČSN P CEN/TS 16181: Kaly, upravený bioodpad a půdy - Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) plynovou chromatografií (GC) a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). 2014.
6. EN 16190: Sludge, treated biowaste and soil – Determination of dioxins and furans and dioxin-like polychlorinated biphenyls by gas chromatography with high resolution mass selective detection (HR GC-MS), 2018.
7. ISO 13914: Soil quality – Determination of dioxins and furans and dioxin-like polychlorinated biphenyls by gas chromatography with high resolution mass selective detection (HR GC-MS), 2014.
8. ISO 15009: Soil quality – Gas chromatographic determination of the content of volatile aromatic hydrocarbons, naphtalene and halogenated hydrocarbons – Purge-and-trap method with thermal desorption. 2016.
9. ISO 22155: Soil quality – Determination of Gas chromatographic determination of volatile aromatic and halogenated hydrocarbons and selected ethers – Static headspace method. 2016.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH)	Revize	0

STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH)

Pyrolýzou organických látek nebo jejich spalováním při nedostatečném přísunu kyslíku mohou vznikat spolu s celou řadou dalších sloučenin i polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH). PAH jsou málo rozpustné ve vodě a velmi snadno se adsorbují na téměř každém pevném povrchu se zvláštní afinitou k organické hmotě. Obsah jednotlivých PAH v půdách z přírodních procesů je asi (1 – 10) µg/kg, nacházené obsahy jsou však často řádově vyšší. Zastoupení jednotlivých PAH se poněkud liší v půdách chráněných oblastí a v půdách zemědělsky využívaných. V zemědělských půdách je dominantní obsah fluoranthenu (17 %), pyrenu (15 %), benzo(b)fluoranthenu (9 %) a dále chrysenu, fenantrenu a benzo(a)pyrenu (každý asi po 8 %). Podle zastoupení jednotlivých PAH se liší i půdy mírného pásma a půdy tropického pásma.

PAH jsou v půdě zpravidla vázány sorpcí na organickou hmotu půdy a dále na jílové částice. Ve více kontaminovaných půdách mohou být součástí prachu, sazí nebo dehtových částic. Přejít do rostlin z půdy není významný. Většina PAH detekovaných v rostlinách pochází z atmosférické depozice.

Některé PAH jsou silně karcinogenní a je třeba s nimi zacházet s maximální opatrností. Extrakty nebo roztoky standardů nesmějí v žádném případě přijít do kontaktu s pokožkou. PAH se mohou usazovat i na vnějším povrchu uzavřených nádob, proto je třeba i s těmito nádobami pracovat v rukavicích odolávajících použitým rozpouštědlům. Nádoby s roztoky PAH nebo jednotlivými standardními látkami je nutné uchovávat v kádinkách nebo jiných vhodných kontejnerech, které znemožní únik látek i v případě rozbití nádoby. Nejrizikovější je navažování pevných PAH, kdy se krystalky látky vlivem elektrostatického náboje vážají na prachové částice a může dojít k jejich vdechnutí. Je nezbytné pracovat v digestoři s respirátorem a dodržovat všechna opatření k zamezení expozice pracovníka. Riziko poškození zdraví pracovníků laboratoře se omezí např. používáním připraveného směsného standardního roztoku pro stanovení 16 EPA PAH (standard fy Absolute Standards).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) METODOU HPLC

1. Rozsah použití

Postup je vhodný pro stanovení 16 základních polyaromatických uhlovodíků, uvedených v seznamu US EPA. Stanovení je určeno pro půdy, kaly, sedimenty a příbuzné materiály o obsahu jednotlivých stanovovaných složek nad 5 µg/kg.

2. Princip

Polyaromatické uhlovodíky v půdách se stanoví po extrakci acetonem, zakoncentrování a přečištění metodou HPLC na reverzní fázi s gradientovým průběhem eluce a s fluorescenční nebo spektrofotometrickou detekcí v UV oblasti.

Poznámky

- V silně kontaminovaných půdách je vhodné použít méně polární extrakční činidlo (toluen). Na druhé straně aceton je vhodnější pro půdy, kde jsou PAH vázány na jílovou frakci.*

3. Přístroje a pomůcky

- Kapalinový chromatograf s možností použití gradientové eluce a s fluorescenčním a UV detektorem.
- Vakuové zařízení pro extrakci na pevné fázi – manifold.
- SPE kolonky C8, 500 mg/3 ml.
- Horizontální třepačka s úchytkami pro upevnění Erlenmeyerových baněk 100 ml.
- Ultrazvuková lázeň.
- Odstředivka (nejméně 9000 ot/min).
- Nástřikové filtry, např. 13 mm LUT syringe filter PTFE 0,45 µm.
- Rotační vakuová odparka.
- Přístroj pro zrychlenou extrakci rozpouštědlem, např. ASE 100, Dionex s příslušnou extrakční ocelovou celou o objemu 10 ml.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

4. Chemikálie

- Acetonitril (ACN), čistota pro HPLC.
- 50% acetonitril, (ACN : H₂O) = (1 : 1), (V/V).
Příprava: 500 ml acetonitrilu (1) se smíchá s 500 ml vody a promíchá.
- 20% acetonitril, (ACN : H₂O) = (20 : 80), (V/V).
Příprava: 20 ml acetonitrilu (1) se smíchá s 80 ml vody a promíchá.
- Aceton, čistota pro HPLC.
- 2-propanol, čistota pro HPLC.
- Methanol (MeOH), čistota pro HPLC.
- 50% methanol, (MeOH : H₂O) = (1 : 1), (V/V).
Příprava: 50 ml methanolu (6) se smíchá s 50 ml vody a promíchá.
- Tetrahydrofuran (THF), čistota pro HPLC.
- Standard 16 PAH, koncentrace jednotlivých PAH $c = 100 \mu\text{g/ml}$, (např. PAH MIX v acetonitrilu, (Absolute Standards)).
- Pracovní standard, 50 × ředěný zásobní roztok.
Příprava: Do 25ml odměrné baňky se pipetuje 0,5 ml standardu (9). Doplní se ACN (1) po značku a na 2 min se vloží do ultrazvukové lázně. Výsledná koncentrace jednotlivých PAH je 2 $\mu\text{g/ml}$.
- Inertní materiál, např. Spe-ed Matrix, výrobce Applied Separations.
- Propandiol, čistota p.a.
- 20% propandiol v 2-propanolu.
Příprava: 20 ml propandiolu (13) se smíchá s 80 ml 2-propanolu (5) a promíchá.

5. Pracovní postup

Půdy

Pro stanovení se používá půda upravená postupem 30010.1, 30012.1 nebo 30013.1. Sušit se musí ve stínu, aby se zamezilo ztrátám PAH vlivem slunečního záření. Pokud není vzorek dostatečně homogenní, může se dále pomlet na achátovém mlýnku a prosát přes 1mm síto. Podle očekávaného obsahu PAH se do uzavíratelné 100ml Erlenmeyerovy baňky naváží (1-10) g půdy, napipetuje se 30 ml acetonu (4) a baňka se uzavře. Obsah se extrahuje 30 min na

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

horizontální třepačce (120 kyvů/min). Obsah baňky se nechá ustát, převede se do 25ml skleněné zkumavky, která se uzavře a následně odstředí. Do 50ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml odstředěného extraktu, přidá se 2,5 ml 2-propanolu (5) a baňka se doplní po značku vodou. Baňka se uzavře a obsah se 2 min sonifikuje. Takto připravený extrakt se přečistí přes kolonku SPE C8, která se předem kondicionuje postupně 1 × 2,5 ml methanolu (6), 1 × 2,5 ml 50% methanolu (7) a 2 × 2,5 ml vody. Na SPE C8 kolonku se vnáší celý objem odměrné baňky (50 ml). Polární látky projdou SPE kolonkou a nepochybně látky se zachytí na sorbentu. Extrahovaná část vzorku na sorbentu se promyje 2 × 2,5 ml vody. PAH se eluují 3 ml tetrahydrofuranu (8) a eluát se jímá do 10ml kalibrované skleněné zkumavky. Získaný eluát se cca 1 min sonifikuje a pak se naředí acetonitrilem (3). Po naředění se vzorek opět sonifikuje asi 2 min. Eluát se nastříkne na kolonu přes PTFE nástřikový filtr.

Kaly

K extrakci PAH z kalů se používá extrakční proces za zvýšené teploty a tlaku s využitím např. zařízení ASE 100 firmy Dionex. Jako rozpouštědlo se používá aceton (4), obdobně jako při extrakci půd. Naváží se 1 g vzorku kalu, promíchá se s inertním materiálem (11) a vnese se do extrakční ocelové cely. Tato cela se vloží do přístroje ASE 100, nastaví se podmínky extrakčního procesu – teplota 100 °C a 2 extrakční cykly. Po skončení extrakce se objem získaného acetonového extraktu kvantitativně převede do 25ml odměrné baňky a doplní se acetonem (4) po značku. Acetonový extrakt se přečistí přes SPE kolonku C8. Do 50 ml odměrné baňky se pipetuje 10 ml acetonového extraktu přidá se 2,5 ml 2-propanolu (5) a baňka se doplní po značku vodou. Baňka se uzavře a obsah se opět 2 min sonifikuje. Takto připravený extrakt se přečistí přes kolonku SPE C8, která se předem kondicionuje postupně 1 × 2,5 ml methanolu (6), 1 × 2,5 ml 50% methanolu (7) a 2 × 2,5 ml vody. Na SPE C8 kolonku se vnáší celý objem odměrné baňky (50 ml). Polární látky projdou SPE kolonkou a nepochybně látky se zachytí na sorbentu. Extrahovaná část vzorku na sorbentu se promyje 2 × 2,5 ml vody. PAH se eluují 3 ml tetrahydrofuranu (8) a eluát se jímá do 10ml kalibrované skleněné zkumavky. Získaný eluát se cca 1 min sonifikuje a pak se naředí acetonitrilem (3). Po naředění se vzorek opět sonifikuje asi 2 min. Eluát se nastříkne na kolonu přes PTFE nástřikový filtr. V případě, že acetonový extrakt neprojde přes SPE kolonku, pipetuje se 10 ml extraktu do odpařovací baňky s přídavkem 0,5 ml propandiolu (13), odpaří se k suchu na rotační vakuové odparce. Odparek se rozpustí v 3 ml THF (8).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

Chromatografické stanovení

Příklady podmínek měření kalibračních roztoků i extraktů vzorků uvádějí tabulky 1, 2 a 3.

Tabulka 1. Příklad podmínek chromatografického stanovení.

Kolona	Waters PAH C 18, 5μm, 4,6 mm × 250 mm
Mobilní fáze	A - 50% acetonitril (2) B - acetonitril (1)
Průtok	1,7 ml/min
Teplota kolony	28 °C
Objem nástriku	20 μl
Detekce	Fluorescenční, (acenaftýlen – UV detekce při 228 nm)
Doba analýzy	35 min.

Tabulka 2. Časový průběh gradientu.

Čas (min)	A (%) (50% acetonitril)	B (%) (acetonitril)
0	100	0
3	100	0
11	10	90
12	0	100
18	0	100
20	100	0
26	100	0

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

Tabulka 3. Excitační a emisní vlnové délky a retenční časy jednotlivých PAH.

PAH Název/zkratka	Excitační vlnová délka (nm)	Emisní vlnová délka (nm)	Retenční čas (min.)
Naftalen/NAP	240	326	7,1
Acenaftylen/ANY (<i>pozn. 2</i>)	—	—	7,8
Acenaften/ANA	240	326	8,9
Fluoren/FLU	240	326	9,2
Fenantren/PHE	246	368	9,8
Antracen/ANT	246	368	10,6
Fluoranten/FLT	286	466	11,1
Pyren/PYR	232	396	11,6
Benzo(a)antracen/BaA	264	384	13,2
Chrysen/CHR	264	384	13,7
Benzo(b)fluoranten/BbF	248	432	14,7
Benzo(k)fluoranten/BkF	254	400	15,4
Benzo(a)pyren/BaP	254	400	16,1
Dibenzo(a,h)antracen/DBA	292	410	17,3
Benzo(g,h,i) perylen/BPE	292	410	18,0
Indeno(1,2,3-c,d)pyren/IPY	230	500	19,1

Kalibrace

Do sady 10ml odměrných baněk se pipetuje (0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0) ml pracovního roztoku standardu (10), doplní se tetrahydrofuranem (8) po značku, promíchá a vloží se na několik min do ultrazvukové lázně. Tyto kalibrační roztoky se dále ředí 20% acetonitrilem (3) v poměru objemů (1 : 1). Naředěné standardy se 2 min sonifikují. Tyto kalibrační roztoky odpovídají koncentraci (0,02; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5) µg/ml. Na chromatografickou kolonu se nastříkuje 20 µl každého kalibračního standardního roztoku ve dvou opakováních. Z průměrných hodnot odpovídajících ploch píků se sestrojí kalibrační křivka.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30660.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou HPLC	Revize	0

Poznámky

2. *Acenaftylen (ANY) nevykazuje fluorescenci, a proto se stanovuje pomocí UV detekce. Ostatní podmínky stanovení jsou stejné.*
3. *Při překročení rozsahu kalibrační křivky některou ze stanovovaných látek se analýza opakuje s nižší navázkou vzorku nebo se extrakt před měřením naředí.*

6. Výpočet

Obsah jednotlivých PAH se vypočítá podle vztahu

$$X = 2 \times 1000 \times (c \times V \times EV) / (m \times AP)$$

- X obsah PAH (µg/kg),
c koncentrace daného PAH odečtená z kalibrační křivky (µg/ml),
V objem extrakčního činidla (ml),
EV objem elučního činidla (ml),
AP alikvotní podíl odpipetovaný z extraktu (ml),
m hmotnost zkušební vzorku (g),
2 koeficient ředění.

Literatura

1. P.R. Koostra, M.H.C. Straub, G.H. Stil, E.G. van der Velde, W. Hesselink, C.C.J. Land: Solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples. Journal of Chromatography A, 697, 123-129, 1995.
2. J.L. Beltrán, R. Ferrer, J. Guiteras: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by HPLC with spectrofluorimetric detection and wavelength programming. J.LIQ. Chrom. & Rel.Technol., 19(3), 477-488, 1996.
3. M. Mäkelä, L. Pyy: Effect of temperature on retention time reproducibility and on the use of programmable fluorescence detection of fifteen polycyclic aromatic hydrocarbons. Journal of Chromatography A, 699, 49-57, 1995.
4. ČSN EN 16181 – Půdy, upravený bioodpad a kaly – Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) plynovou chromatografií (GC) a vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC), 2018.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

STANOVENÍ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ (PAH) METODOU GC-MS(/MS)

1. Rozsah použití

Postup je určen pro kvantitativní stanovení 18 polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) ze seznamu prioritních polutantů podle Agentury pro ochranu životního prostředí (EPA, USA) v abiotických matricích, tj. půdách, sedimentech a čistírenských kalech. Za podmínek daných tímto postupem lze dosáhnout detekčních limitů (0,04 – 0,26) µg/kg vzorku.

2. Princip metody

PAH se z předupraveného vzorku obohaceného deuterovanými PAH (D-PAH) extrahuje do směsi rozpouštědel aceton-hexan nebo dichlormethanem, zkoncentrovaný extrakt se přečistí pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu, převede do cyklohexanu nebo isooktanu a PAH se stanoví metodou plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Obsahy 18 PAH se vyhodnotí z kalibrační závislosti plochy diagnostického iontu jednotlivých analytů na koncentraci příslušného analytu v roztoku směsného standardu, obsahujícím všechny požadované látky a vnitřní standardy.

3. Přístroje a pomůcky

1. Plynový chromatograf s MS detektorem, alternativně s možností měření v MRM módu.
2. Kapilární kolona s nepolární až středně polární stacionární fází, např. TR5-MS SQC 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm (Thermo), DB-XLB 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, DB5-MS 60 m × 0,25 mm × 0,25 µm (Agilent J&W), DB5-MS 15 m × 0,25 mm × 0,1 µm (Agilent J&W), VF5-MS 10 m × 0,53 mm × 0,25 µm (Rapid MS, Varian).
3. Zařízení pro extrakci, např. ASE 100 (Dionex) s příslušenstvím (nerezové cely a celulózové filtry), nebo Büchi B-811.
4. Zařízení pro gelovou permeační chromatografii (GPC), např. sběrač frakcí GX 271 (Gilson), Gilson 307 (Gilson), kovová kolona (8 × 500) mm (Tessek) plněná BIO Beads-SX3, mobilní fáze chloroform, jednorázové PTFE filtry s velikostí pórů 0,45 µm/resp. 0,20 µm pro filtraci mechanických nečistot.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

5. Muflová pec s teplotním rozsahem minimálně do 550 °C.
6. Ultrazvuková lázeň.
7. Horizontální třepačka, např. GFL 3006 (GFL, Labortechnik).
8. Zařízení pro odpařování proudem inertního plynu a zkumavky na odpařování, např. Termovap (Ecom) nebo Supervap (FMS).
9. Skleněné kolonky pro SPE.
10. Stolní chlazená odstředivka, např. Sigma 2-16K s příslušenstvím.

4. Chemikálie

Všechny použité chemikálie jsou čistoty minimálně p.a., nejlépe však kvality pro reziduální analýzu. Dostačující čistota činidel a rozpouštědel se testuje proměřením slepého vzorku. Pro stanovení hodnot, které se blíží detekčnímu limitu, se s každou sérií vzorků měří i slepý pokus.

1. Hexan.
2. Aceton.
3. Extrakční směs hexan-aceton (1 : 2), (V : V).
Příprava: Smíchá se 250 ml hexanu (1) a 500 ml acetonu (2).
4. Extrakční směs hexan-aceton (1 : 1), (V : V).
Příprava: Smíchá se 500 ml hexanu (1) a 500 ml acetonu (2).
5. Cyklohexan, CY.
6. Dichlormetan, DCM.
7. Eluční směs 50 % dichlormetan v hexanu.
Příprava: Smíchá se 100 ml dichlormetanu (6) a 100 ml hexanu (1).
8. Chloroform.
9. Silikagel 60/resp. 100 (0,063 mm – 0,200 mm); aktivovaný 15 h při 150 °C.
10. Síran sodný bezvodý, Na₂SO₄, aktivovaný 6 h při 550 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi v exsikátoru.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

11. Elementární prášková měď.
12. Křemenná vata silanizovaná.
13. Spe-ed Matrix, hygroskopická matrice.
14. Mořský písek, vyžíhaný 12 h při 550 °C.
15. Chlorid sodný, NaCl.
16. Isooktan.
17. Standardy (viz. tabulka 1).
18. Standardní roztoky a směsné standardy.
 - 18.1 PAH-Mix 9, 100 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.2 Perylene, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.3 Benzo(e)pyrene, 100 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.4 Vnitřní standard Naftalen-D8, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.5 Vnitřní standard Acenaften-D10, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.6 Vnitřní standard Fenantren-D10, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.7 Vnitřní standard Pyren-D10, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.8 Vnitřní standard Benzo(a)antracen-D12, 10 µg/ml CY, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.9 Vnitřní standard Benzo(b)fluoranten-D12, 100 µg/ml CY, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.10 Vnitřní standard Indeno(1,2,3-cd)pyren-D12, 100 µg/ml CY, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.11 Pracovní roztok vnitřního standardu.
 Příprava: Naředí se individuální roztoky jednotlivých D-PAH (18.4. až 18.10.) o koncentraci 1 µg/ml cyklohexanu. Pipetuje se 100 µl k 1 g vzorku.
 - 18.12 Nástřikový standard Perylen-D12, 10 µg/ml cyklohexanu, např. Dr. Ehrenstorfer.
 - 18.13 Pracovní roztok nástřikového standardu.
 Příprava: Naředí se roztok 1 µg Perylenu-D12 (18.12) do 1 ml cyklohexanu. Pipetuje se 100 µl do vialky na 1 ml extraktu.
 - 18.14 Pracovní roztok vnějšího standardu, 2,5 µg jednotlivých PAH v 1 ml CY (5).
 - 18.15 Pracovní roztok vnějšího standardu, 0,25 µg jednotlivých PAH v 1 ml CY (5).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

18.16 PAH-Mix31 deuterated, 1000 µg/ml toluenu, např. Dr. Ehrenstorfer.

18.17 Kalibrační standardní roztoky.

Příprava: Připraví se ze standardních roztoků (18.11, 18.13, 18.14, 18.15) v rozsahu (0 – 2000) ng v 1 ml cyklohexanu (viz. tabulka č. 4.2-2).

19. Referenční materiály, např. SRM 2585 Organic Contaminants in House Dust (NIST, USA), ERM-CC013, PAH in soil (BAM, Německo).

20. Voda (deionizovaná, destilovaná nebo demineralizovaná).

Tabulka 1. Seznam PAH analyzovaných touto metodou.

PAH	Zkratka	CAS	Deuterované PAH používané jako vnitřní standardy
Naftalen	NAP	91-20-3	Naftalen-D8
Acenaften	ANA	83-32-9	Acenaften-D10
Acenaftylen	ANY	208-96-8	
Fluoren	FLU	86-73-7	
Antracen	ANT	120-12-7	
Fenantren	PHE	85-01-8	Fenantren-D10
Fluoranten	FLT	206-44-0	
Pyren	PYR	129-00-0	Pyren-D10
Benz(a)antracen	BaA	56-55-3	Benzo(a)antracen-D12
Chrysen	CHR	218-01-9	Chrysen-D12
Benzo(b)fluoranten	BbF	205-99-2	Benzo(b)fluoranten-D12
Benzo(k)fluoranten	BkF	207-08-9	
Benzo(e)pyren	BeP	192-97-2	
Benzo(a)pyren	BaP	50-32-8	
Perylen	PER	198-55-0	Perylen-D12
Indeno(1,2,3-cd)pyren	IPY	193-39-5	Indeno(1,2,3-cd)pyren-D12
Dibenz(ah)antracen	DBA	53-70-3	
Benzo(ghi)perylene	BPE	191-24-2	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Tabulka 2. Příprava kalibračních standardních roztoků.

	c (ng/ml)			V (μl)			
Kalibrační úroveň	PAH	D-PAH	Per-D12	PAH	D-PAH 18.11	Per-D12 18.13	Cyklohexan
1	0	100	100	0	100	100	800
2	2	100	100	8/18.15	100	100	792
3	20	100	100	8/18.14	100	100	792
4	200	100	100	80/18.14	100	100	720
5	2000	100	100	800/18.14	100	100	0

5. Pracovní postup

Předúprava vzorku

Okamžitě po dodání do laboratoře se vzorek vysuší při teplotě do 60 °C (přednostně při laboratorní teplotě) zhomogenizuje, přesítuje (velikost ok max 2 mm) a (100 – 300) g takto upraveného vzorku se uloží do skleněné vzorkovnice. Část vzorku se použije na stanovení sušiny pro potřebu přepočtu konečného výsledku na sušinu vzorku.

Stanovení sušiny

5 g předupraveného vzorku se naváží do vysoušecí nádoby, vysuší se 2 h při 105 °C, uzavřená nádoba se nechá zchladit v exsikátoru a opět se zvaží.

$$f_{suš} = \frac{a}{a_o}$$

$f_{suš}$ sušina,

a hmotnost vysušeného vzorku (g),

a_o navážka předupraveného vzorku (g).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Extrakce

Extrakce směsí rozpouštědel hexan-aceton: Naváží se (1 – 5) g vzorku do Erlenmayerovy baňky o objemu (200 – 250) ml. Vzorek se obohatí přídavkem 100 µl roztoku směsného vnitřního standardu (18.11) (100 ng jednotlivých D-PAH). Přidá se 25 ml vody (20), 20 g NaCl (15) a 75 ml extrakční směsi (3). Baňka se uzavře teflonovou zátkou, upevní na třepačku a třepe nejméně 6 h. Po rozsazení fázi se organická vrstva dekantuje do čisté baňky a extrakt se vysuší 50 g bezvodého síranu sodného (10) po dobu 1 h. Alikvot (15 ml) se převede postupně do koncentrovací zkumavky Termovap, přidá se 1 ml cyklohexanu (5) a mírným proudem dusíku se extrakt zkoncentruje pomocí Termovapu při 40 °C na ~ 1 ml. Oddělená voda se vysuší dalším přídavkem bezvodého síranu sodného (10), přidá se 1 ml cyklohexanu (5) a opět se zkoncentruje na ~ 1 ml extraktu.

Tlaková extrakce rozpouštědlem pomocí ASE 100: (1 – 5) g vzorku se smíchá s odpovídajícím množstvím (1- až 3-násobek navážky vzorku) bezvodého síranu sodného (10). Směs se nasype do nerezové cely o objemu 11 ml, zbývající prostor se vyplní inertním materiálem (14) a lože se ukončí 2mm vrstvou hygroskopické matrice (13). Uzavřená cela se umístí do přístroje ASE 100 a extrahuje se směsí rozpouštědel hexan-aceton (4) nebo dichlormethanem (6) podle předvoleného programu pro extrakci PAH z environmentálních matric.

Postup: T = 100 °C; čas (statická fáze/profouknutí) = 300 s/60 s, proplach = 100 %, 2 extrakční cykly. Extrakt se obohatí 100 µl roztoku směsného vnitřního standardu (18.11) (100 ng jednotlivých D-PAH) a převede se do cyklohexanu (5) nebo isooktanu (16), zkoncentruje se mírným proudem dusíku na Termovapu při 40 °C na ~ 1 ml extraktu.

Sonikace s rozpouštědlovou směsí hexan-aceton: Do skleněné centrifugační zkumavky o objemu 25 ml se naváží 1 g vzorku a 1 g mědi (11). Při extrakci vzorků běžných zemědělských půd není nutný přídavek mědi. Vzorek se obohatí přídavkem směsného vnitřního standardu (18.11) (100 ng jednotlivých D-PAH). Ke vzorku se přidá 8 ml extrakční směsi hexan-aceton (4). Zkumavka se na 15 min vloží do ultrazvukové lázně. Poté se umístí do odstředivky s výkyvným rotorem. Extrakt se vyčeří po 2 min při 3000 ot/min. Extrakt se odebere skleněnou Pasteurovou pipetou do vialky o objemu 22 ml. Ke vzorku se přidá 8 ml extrakční směsi (4) a postup extrakce a vyčeření se jedenkrát zopakuje. Spojené extrakty s přídavkem 1 ml cyklohexanu (5) se zkoncentrují mírným proudem dusíku na Termovapu při 40 °C na ~ 1 ml extraktu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Soxhletova extrakce horkým rozpouštědlem (např. pomocí Buchi B-811): Do skleněné patrony s fritou se vloží (1 – 5) g vzorku zabalené v buničině. Vzorek se obohatí přídavkem směsného vnitřního standardu (18.11) (100 ng jednotlivých D-PAH). Extrakční kelímek se naplní 80 – 100 ml extrakční směsi hexan-aceton (4) a vloží se do něj varný kamínek. Délka extrakce je 60 min (30 min horký Soxhlet a 30 min promytí patrony). Poté se extrakt zkoncentruje na ~ 5 ml, převede se skleněnou Pasteurovou pipetou do vialky o objemu 22 ml, extrakční kelímek se vypláchne asi 2 ml cyklohexanu (5) a přidá k extraktu. Extrakt se převede do cyklohexanu (5) nebo isooktanu (16) a mírným proudem dusíku se na Termovapu zakoncentruje při 40 °C na přibližně 1 ml extraktu.

Čištění extraktu

Adsorpční chromatografie na silikagelu: Na dno skleněné kolonky se vloží smotek silanizované křemenné vaty (12), nasype se 4 g aktivovaného silikagelu (9) a 1 g bezvodého síranu sodného (10). Silikagelové lože se sklepe pošukáváním na kolonku a promyje se 8 ml hexanu (1). Hexanová frakce se nesbírá. Smočený sorbent se již nenechá vyschnout. Na připravenou kolonu se skleněnou pasteurovou pipetkou nanese 1 ml zkoncentrovaného extraktu vzorku, zbytek ve zkumavce se vypláchne 1 ml hexanu (1) a promývací podíl se také nanese na kolonku. Hexan se nechá vsáknout a sorbent se promyje 10 ml hexanu (1), který se nesbírá. PAH se eluují v druhé frakci (20 ml 50% DCM v hexanu) (7), která se zkoncentruje mírným proudem dusíku při 40 °C na objem menší než 1 ml. Extrakt se převede do cyklohexanu (5) nebo isooktanu (16), a přidá se 100 µl nástřikového standardu (18.13). Konečný objem je 1 ml.

Gelová permeační chromatografie: Při GPC čištění je nutné pracovat s dvojnásobným podílem extraktu v porovnání s čištěním na silikagelovém sloupci, protože GPC sestava (4) je vybavena smyčkou na nástřik 1 ml. Extrakt s vysokým obsahem vysokomolekulárních, polymerních látek a síry, tj. extrakty čistírenských kalů a lesních organických půd s vnitřním standardem se převede do chloroformu (8) a odstraní se mechanické nečistoty filtrací přes stříkačkový teflonový disk. Extrakt se dávkuje injekční stříkačkou na separační kolonu. PAH se eluují mezi (20. – 32.) min při rychlosti průtoku mobilní fáze 0,6 ml/min. Frakce obsahující PAH se zkoncentruje, převede se do 1 ml cyklohexanu (5) a 2ml vialky.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

GC-MS stanovení

Před analýzou se zkontroluje aktuální stav systému, který musí vykazovat typické odezvy na ionty vody, vzduchu (m/z 18, 28, 32) a kalibračního plynu. Dále se prověří citlivost GC-MS systému analýzou nejnižšího kalibračního bodu. Pokud je poměr signál k šumu u všech sledovaných PAH vyšší než 10, provede se kalibrace pro všechny sledované PAH. Následně se do sekvence řadí reálné vzorky. Nastavení přístroje je uvedeno v tabulkách 3 a 4. Při měření v SIM nebo MS/MS módu se pro každý analyt snímají tři SIM ionty nebo dva produktové ionty.

Tabulka 3. Příklad parametrů pro GC-MS stanovení.

Nastavení GC	
Teplota injektoru	260 °C
Teplota iontové zdroje/transferline	220 °C/300 °C
Teplotní program	60 °C (2 min); 30 °C/min – 120 °C; 5 °C/min – 300 °C (15 min)
Uzavření splitování; nástřik	1,8 min; (1 – 2) μ l
Nosný plyn	Helium, průtok (1 – 1,2) ml/min
Nastavení MSD	
Ionizace nárazem (EI) při 70 eV, měření v SIM nebo MRM módu	
2 až 3 diagnostické hmoty pro každou stanovovanou složku.	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Tabulka 4. Příklad diagnostických iontů pro GC-MS stanovení.

PAH	Diagnostické ionty (m/z)	MRM přechody (m/z)
Naftalen-D8	136	136>136, 136>132
Naftalen	128, 126, 129	128>128, 128>126
Acenaftylen	152, 150, 151	152>152, 152>150
Acenaften-D10	164	164>164
Acenaften	154, 152, 153	154>154, 152>152
Fluoren	166, 164, 165	166>164, 166>166
Fenantren-D10	188, 184	188>188, 188>184
Fenantren	178, 176, 179	178>178, 178>176
Antracen	178, 176, 179	178>178, 178>176
Fluoranten	202, 200, 101	202>202, 202>200
Pyren-D10	212, 208	212>212, 212>208
Pyren	202, 200, 101	202>202, 202>200
Benzo(a)antracen-D12	240, 236	240>240, 240>236
Benz(a)antracen	228, 226, 114	228>228, 228>226
Chrysen-D12	240, 236	240>240, 240>236
Chrysen	228, 226, 114	228>228, 228>226
Benzo(b)fluoranten-D12	264, 260	264>264, 264>260
Benzo(b)fluoranten	252, 250, 253	252>252, 252>250
Benzo(k)fluoranten	252, 250, 253	252>252, 252>250
Benzo(e)pyren	252, 250, 253	252>252, 252>250
Benzo(a)pyren	252, 250, 253	252>252, 252>250
Perylen-D12	264, 260	264>264, 264>260
Perylen	252, 250, 253	252>252, 252>250
Indeno(1,2,3-cd)pyren-D12	288	288>288, 288>284
Indeno(1,2,3-cd)pyren	276, 274, 138	276>276, 276>274
Dibenz(ah)antracen	278, 276, 139	278>278, 278>276
Benzo(ghi)perylene	276, 274, 138	276>276, 276>274

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	10
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Poznámky

1. *Za daných chromatografických podmínek nedochází k separaci benzo(A)antracenu a trifenyleny, a dále isomeru benzo(b)flurantenu a benzo(j)fluorantenu. Tyto látky nelze odlišit pomocí MS, je nutné při kvantifikaci použít korekčních faktorů stanovených pomocí CRM.*

6. Zpracování dat

Identifikace: Analyt se považuje za identifikovaný, pokud odchylka retenčního času daného PAH v chromatogramu vzorku a kalibračního standardu je nižší než 1 % a pokud poměr diagnostických iontů daného PAH ve spektru vzorku je v rozmezí ± 30 % poměru ve spektru kalibračního standardu.

Kvantifikace: Kvantifikace se provede pomocí kalibrační přímky metodou izotopového ředění, případně metodou vnitřního standardu. Kalibrační závislosti musí vykazovat minimální charakteristiky ($RSD < 20$ %, $R^2 > 0,995$).

Stanovení výtěžnosti: Výtěžnost vnitřních standardů v každém vzorku se stanoví porovnáním hodnot vnitřního a nástřikového standardu získaných při kalibraci s těmito hodnotami získanými z extraktu vzorků. Vnitřní standardy by měly vykazovat výtěžnost minimálně 50 % s výjimkou naftalenu (30 %).

Uvádění výsledků: Výsledky se získají průměrem ze dvou paralelních stanovení. V případě výsledku pod mezí stanovitelnosti se uvede $< LOQ$ (mez stanovitelnosti). Pro hodnoty nad mezí stanovitelnosti se výsledek zaokrouhlí podle tabulky č. 5.

Tabulka 5. Zaokrouhlování a udávání výsledků.

Hladina reziduí ($\mu\text{g/kg}$)	Zápis výsledku
< 10	2 platné číslice
> 10	3 platné číslice

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	11
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30670.1 Stanovení polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) metodou GC-MS(/MS)	Revize	0

Literatura

1. ISO 18287 Soil quality – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) – Gas chromatographic method with mass spectrometric detection (GC-MS).
2. ČSN ISO 11465 Kvalita půdy – Stanovení hmotnostního podílu sušiny a hmotnostní vlhkosti půdy – Gravimetrická metoda.
3. DIONEX APPLICATION NOTE 313, Extraction Of PAHs From Environmental Samples By Accelerated Solvent Extraction (ASE).
4. EN 16181 Sludge, treated biowaste and soil – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC), 2011

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenyly (PCB) metodou GC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

STANOVENÍ POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ (PCB) METODOU GC-MS/MS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro stanovení sedmi vybraných kongenerů polychlorovaných bifenyly (PCB 28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153 a PCB180) metodou GC-MS/MS ve všech typech půd, v sedimentech a odpadních kalech. Detekční limit závisí na cílovém analytu, na míře vyčištění extraktu od rušivých vlivů, čistotě použitých chemikálií a na možnostech měřicího přístroje. Za podmínek daných tímto postupem lze dosáhnout meze stanovitelnosti 0,5 µg/kg vzorku.

2. Princip metody

Vzhledem k rozmanitosti matrice vzorku a různé hladině očekávaných koncentrací stanovovaných látek, interferencí a míře rušivých vlivů nelze použít jeden obecně platný postup zkoušky. Metoda je založena na modulárním principu použitelných postupů pro extrakci vzorku, čištění extraktu, detekci a stanovení cílových analytů.

Polychlorované bifenyly se z předupraveného vzorku obohaceného přídavkem vnitřních standardů extrahují do směsi rozpouštědel, zakonzentrovaný extrakt se přečistí, převede do isooktanu a zanalyzuje metodou plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Obsah sedmi indikátorových kongenerů se vyhodnotí z kalibrační závislosti plochy diagnostického fragmentu analytu na koncentraci příslušného analytu v roztoku směsného standardu, obsahujícím všechny požadované látky a vnitřní standardy.

3. Přístroje a pomůcky

1. Plynový chromatograf s MS detektorem umožňující měření v MRM módu.
2. Kapilární chromatografická kolona, délka (30 – 60) m, vnitřní průměr (0,18 – 0,32) mm s filmem (0,1 – 0,5) µm chemicky vázané nepolární až mírně polární fáze, např.: DB-XLB 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, DB5-MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm
3. Extrakční zařízení na principu Soxhletovy extrakce nebo principu zrychlené

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku a teploty, např.: B-811 (Büchi), ASE 100 (Dionex).

4. Zařízení pro gelovou permeační chromatografii (GPC), např.: sběrač frakcí GX-271 (Gilson), pumpa Gilson 307 (Gilson), kovová kolona (8 × 500) mm (Tessek) plněná BIO Beads-SX3, mobilní fáze chloroform nebo ethylacetát s cyklohexanem, jednorázové PTFE filtry s velikostí pórů 0,45 µm/resp. 0,20 µm pro filtraci mechanických nečistot.
5. Rotační vakuová odparka.
6. Zařízení pro odpařování proudem inertního plynu.
7. Muflová pec, nastavitelná do teploty nejméně 550 °C.
8. Ultrazvuková lázeň.
9. Laboratorní lyofilizační zařízení, např. ALPHA 1-4 LSC (Christ).
10. Laboratorní tříšivý mlýnek, např. Grindomix GM 200 (Retch).
11. Skleněné kolony pro SPE (sloupcovou chromatografii): spodní zúžená restrikce ID 4 mm, sorbentová část ID 10 mm, horní zásobník rozpouštědla ID 20 mm.
12. Injekční stříkačku, polypropylen (PP), (5 – 20) ml.
13. Filtrační disky PTFE, (17 – 30) mm, velikost pórů (0,2 – 0,45) µm.
14. Běžné laboratorní sklo vyžíhané před použitím.

Poznámky

1. Zvolená kolona musí dělit kritický pár kongenerů PCB 28/PCB 31 s rozlišením $R \geq 0,5$.
2. Při používání rotační vakuové odparky se extrakt neodpařuje úplně dosucha, aby nedošlo ke ztrátám těkavějších analytů. Vhodné je použít výševroucí rozpouštědlo „keeper“, např. přídavek 1 ml isooktanu do extraktu.

4. Chemikálie

Všechny použité chemikálie jsou čistoty minimálně p.a., nejlépe však kvality pro reziduální analýzu. Dostačující čistota činidel a rozpouštědel se testuje proměřením slepého vzorku. Hodnota slepého vzorku nesmí být vyšší než 50 % meze stanovitelnosti. Pro stanovení

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

hodnot blížících se limitu detekce je třeba měření slepého vzorku zahrnout do každé série vzorků.

1. Hexan.
2. Aceton.
3. Isooktan.
4. Dichlormetan.
5. Chloroform.
6. Etylacetát.
7. Cyklohexan.
8. Kyselina sírová, H_2SO_4 , koncentrovaná, 96%.
9. Silikagel 60 (0,063 – 0,200) mm, čištěný 50% dichlormetanem v hexanu (ASE, program 12), aktivovaný 16 h při 150 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi a v exsikátoru.
10. Silikagel 100 (0,063 – 0,200) mm, čištěný 50% dichlormetanem v hexanu (ASE, program 12), aktivovaný 16 h při 150 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi a v exsikátoru.
11. Silikagel deaktivovaný 3 % H_2O .
 Příprava: K 97 g plně aktivního silikagelu (9) resp. (10) se přidají 3 ml vody (27), směs se intenzivně protřepává, až je hladká a bez hrudek.
12. Kyselý silikagel.
 Příprava: Ke 100 g plně aktivního silikagelu (9) resp. (10) v zábrusové baňce se postupně po částech přidá 55 ml H_2SO_4 (8) a intenzivně se protřepává, až je směs sypká a bez hrudek.
13. Florisil (0,15 – 0,25) mm; (60 – 100) mesh, vyžíhaný 4 h při 550 °C, před použitím reaktivovaný 12 h při 150 °C.
14. Florisil deaktivovaný 3 % vody.
 Příprava: K 97 g plně aktivního Florisilu (13) se přidají 3 ml destilované H_2O , směs se intenzivně se protřepává, až je hladká a bez hrudek.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

15. Síran sodný, bezvodý, Na₂SO₄, vyžíhaný 12 h při 550 °C.
16. Hygroskopická granulovaná křemelina.
17. Prášková měď.
18. Standardy stanovených analytů.

PCB 28	CAS-RN [7012-37-5],
PCB 52	CAS-RN [35693-99-3],
PCB 101	CAS-RN [37680-73-2],
PCB 118	CAS-RN [31508-00-6],
PCB 138	CAS-RN [35065-28-2],
PCB 153	CAS-RN [35065-27-1],
PCB 180	CAS-RN [35065-29-3].
19. Směsné standardy.

Pesticide MIX13; 10 µg/ml cyklohexanu (Dr. Ehrenstorfer),
OCP+PCB MIX23; 10 µg/ml isooktanu s 5 % toluenu (Absolute Standards).
20. Vnitřní standardy (ISTD).

PCB 30	CAS-RN [35693-92-6],
PCB 155	CAS-RN [33979-03-2],
PCB 185	CAS-RN [52712-05-7],
PCB 189	CAS-RN [39635-31-9],
PCB 191	CAS-RN [74472-50-7],
¹³ C-PCB 118	CAS-RN [104130-40-7]
21. Pracovní roztok vnitřních standardů, c = 1 µg/ml isooktanu.

Příprava: Z komerčně dodaných roztoků se připraví pracovní roztok obsahující alespoň 3 kongenery, pokrývající celý retenční rozsah (např. PCB 30, PCB 155, ¹³C-PCB 118 a případně PCB 191) v koncentraci 1 µg/ml isooktanu. Tento pracovní roztok se přidává do kalibračních roztoků vnějšího standardu.
22. Pracovní roztok vnitřních standardů, c = 100 ng/ml isooktanu.

Příprava: Z komerčně dodaných roztoků se připraví pracovní roztok obsahující alespoň 3 kongenery, pokrývající celý retenční rozsah (např. PCB 30, PCB 155, ¹³C-PCB 118 a PCB 191) v koncentraci 100 ng/ml isooktanu. Tento pracovní roztok se přidává ke vzorku před extrakcí. Přídavek ISTD na 1 ml extraktu vzorku musí být

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

stejný jako koncentrace ISTD v kalibračních roztocích (23).

23. Kalibrační roztoky vnějšího standardu.

Příprava: Z roztoků směsných standardů (19) a primárních standardů (18) se připraví pracovní roztoky v koncentračním rozsahu (5 – 1000) ng analytu + 100 ng ISTD/ml isooktanu.

24. Pracovní roztok nástřikového standardu, $c = 1 \mu\text{g/ml}$ isooktanu.

Pro kontrolu výtěžnosti celého postupu se přidá alespoň jeden ISTD až do vialky s vyčištěným extraktem.

Příprava: Připraví se pracovní roztok PCB 185 o koncentraci $1 \mu\text{g/ml}$ isooktanu. Pipetuje se 100 μl tohoto roztoku na 1 ml extraktu připraveného k analýze.

25. Křemenný písek mořský, jemný, vyžíhaný 16 h při 550°C .

26. Křemenná vata silanizovaná.

27. Voda (deionizovaná, destilovaná nebo demineralizovaná).

Poznámky

- Ideální je použít izotopově značené standardy pro všechny analyty – metoda izotopového ředění. Koncentrace ISTD v roztoku může být i nižší, např. 50 ng/ml pro izotopově značené standardy. Při použití nativních kongenerů PCB jako ISTD je nutný předpoklad, že tyto kongenery se ve vzorku nenacházejí ve významné koncentraci.*
- Pesticide MIX 13 (Dr.Ehrenstorfer) a MIX 23 (Absolute Standards) obsahují PCB 28, 52, 101, 118 (jen v Absolute), 138, 153, 180 a analyty skupiny OCP.*

5. Pracovní postup

Předúprava vzorku

Ihned po dodání do laboratoře se vzorek vysuší při teplotě do 60°C (přednostně při laboratorní teplotě), zhomogenizuje, přesítuje (velikost ok max 1 mm) a (100 – 300) g takto upraveného vzorku se uloží do skleněné vzorkovnice. Část vzorku se použije na stanovení sušiny pro potřebu přepočtu konečného výsledku na sušinu vzorku.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Stanovení sušiny

5 g předupraveného vzorku se naváží do vysoušecí nádoby, vysuší se 2 h při 105 °C, uzavřená nádoba se nechá zchladit v exsikátoru a opět se zváží.

$$f_{suš} = \frac{a}{a_o}$$

$f_{suš}$ sušina,

a hmotnost vysušeného vzorku (g),

a_o navážka předupraveného vzorku (g).

Lyofilizace

Vzorky s vysokým obsahem vody lze šetrně vysušit lyofilizací. Tento způsob sušení je vhodný např. u půdních substrátů s vysokým obsahem organické hmoty a s obsahem vody nad 10 %.

Postup: Částečně homogenizovaný, za kryogenních podmínek předupravený vzorek se navrství na lyofilizační misku, miska se vzorkem se zváží, zabalí se do mikrotenové folie a zamrazí se (– 18 °C).

Lyofilizační zařízení se připraví a spustí dle návodu k použití. Vloží se misky se zamraženým vzorkem a spustí se proces lyofilizace. Vyhříváním poliček pro uložení vzorků a kontrolou aktuální teploty ve vzorku a tlaku ve vymrazovaném prostoru se udržují optimální podmínky blízké průběhu sublimační křivky. Proces lyofilizace je ukončen, když teplota uvnitř vzorku, snímaná po celou dobu teplotní sondou, dosáhne teploty vyhřívání poličky ($T \sim 20$ °C).

Miska s vysušeným vzorkem se opět zváží a diferenčně se stanoví úbytek vody z původního vzorku.

Suchý vzorek se zhomogenizuje v mlýnku a uloží se do skleněné vzorkovnice. Stanoví se i sušina suchého/analytického vzorku pro potřebu přepočtu výsledků na sušinu a na původní vzorek.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Extrakce vzorku

Extraktor B-811

Do skleněné patrony s fritou se diferenčně naváží přesně (1 – 5) g předupraveného vzorku, obohatí se 0,5 ml vnitřního standardu (22) a extrahuje se 80 ml směsi acetonu (2) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 3). Na extraktoru se nastaví teplotní program zahrnující 20 min extrakce horkým rozpouštědlem a 40 min promývání vzorku kondenzovaným rozpouštědlem. Extrakt se kvantitativně převede do 100ml zábrusové baňky a zakoncentruje na rotační vakuové odparce na objem (1 – 2) ml.

Extrakt se podle potřeby dočistí na silikagelové kolonce a převede se do 0,5 ml isooktanu ve vialce. Postup je vhodný i pro stanovení 11 základních OCP.

Extraktor ASE 100

Princip extrakce: Vzorek v nerezové cele se extrahuje rozpouštědlem za zvýšené teploty a tlaku. Extrakce probíhá ve dvou cyklech, statickém a promývacím, které je možné vícekrát opakovat. Na závěr se cela se vzorkem vysuší proudem dusíku. Vhodnou volbou sorbentů do náplně cely a programu lze získat extrakt s minimem nežádoucích nečistot.

Postup extrakce PCB z čistírenských kalů: Na dno extrakční cely (34 ml) se vloží filtr, nasype se 5 g síranu sodného (15), 2 g aktivovaného silikagelu (10) a homogenní směs ze 2,5 g vzorku, 4 g florisilu (13), 2,5 g síranu (15) a 0,5 ml ISTD (22). Objem cely se doplní pískem (25), přidá se 0,5 g křemeliny (16), cela se uzavře a vloží do přístroje. Nastaví se příslušný extrakční program a spustí se proces. Po skončené extrakci se vloží promývací cela a přístroj se 2 × propláchne 5 ml čistého rozpouštědla.

Program: T = 100 °C; Time (static/purge) = 600/40 s, Flush (objem proplachu dusíkem) = 150 %, 2 cykly, eluce roztokem dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (15 + 85).

Extrakt se musí dále dočistit, tuky a část síry se odstraní pomocí GPC, polyaromatické uhlovodíky (PAHs) se odstraní na kolonce s kyselým silikagelem (12), zbytek síry se vysráží jako CuS po reakci s mědí (17). Postup je vhodný i pro stanovení 11 základních OCP.

Postup extrakce PCB z rostlinného materiálu: Na dno extrakční cely (34 ml) se vloží filtr, nasype se 9 g směsi sorbentů (5 g síranu sodného (15), 2 g aktivovaného silikagelu (10) a 2 g

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

florisilu (13)) a homogenní směs ze 2 g vzorku, 2 g florisilu (13), 2 g síranu (15) a 0,2 ml ISTD (22). Objem cely se doplní pískem (25), přidá se 0,5 g křemeliny (16), cela se uzavře a vloží do přístroje. Nastaví se příslušný extrakční program a spustí se proces. Po skončené extrakci se vloží promývací cela a přístroj se 2 × propláchne 5 ml čistého rozpouštědla.

Program: T = 40 °C; Time (static/purge) = 600/20 s, Flush (objem proplachu dusíkem) = 150 %, 2 cykly, eluce roztokem dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (15 + 85).

Extrakt se podle potřeby dočistí na krátké kolonce s kyselým silikagelem (12) a převede se do 200 µl isooktanu ve vialce. Postup je vhodný i pro stanovení 11 základních OCP.

Čištění extraktu

SPE na silikagelu – dlouhá kolonka

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek silanizované křemenné vaty (26), nasype se 1 g Na₂SO₄ (15), vrstva (3 – 5) g kyselého silikagelu (12), 1,5 g silikagelu (11). Sorbent se sklepe potukáváním na kolonku.

Na připravenou kolonu se nanese zakoncentrovaný extrakt vzorku. Baňka se 2 × vypláchne hexanem (1 ~ 2 ml), ultrazvukuje 30 s a promývací podíly se postupně přidávají na SPE kolonu. Pod kolonku se umístí 50ml zábrusová baňka (srdcovka) a PCB se vymyjí 10 ml hexanu. Je-li třeba stanovit i analyty, které se déle zadržují (HCH a DDD), kolona se promyje ještě 10 ml 50% dichlormetanu (4) v hexanu (1).

Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví od foukáním pod proudem dusíku (6) na požadovaný objem.

SPE na silikagelu – krátká kolonka

Na dno krátké skleněné kolonky se vloží malý smotek silanizované křemenné vaty (26), nasype se 0,5 g Na₂SO₄ (15), vrstva 2 g kyselého silikagelu (12) a 0,8 g silikagelu (11). Sorbent se sklepe potukáváním na kolonku.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

Na připravenou kolonu se nanese zakonzentrovaný extrakt vzorku. Baňka se 2 × vypláchne hexanem (1 ~ 2 ml), ultrazvukuje 30 s a promývací podíly se postupně přidávají na SPE kolonu. Pod kolonku se umístí 50ml zábrusová baňka (srdcovka). PCB se kvantitativně vymyjí 10 ml hexanu, analyty, které se déle zadržují (HCH a DDD) se vymyjí ještě 6 ml 50% dichlormetanu (4) v hexanu (1).

Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku (6) na požadovaný objem.

Tento čistící krok je dostatečný pro půdu a sedimenty s nižším obsahem organické hmoty.

SPE na kyselém silikagelu

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek vaty (26), nasype se 1 g bezvodého síranu sodného (15) a vrstva (2 – 5) g silikagelu s kyselinou sírovou (12). Sorbent se sklepe poťukáváním na kolonku a nanese se předčištěný extrakt. Sloupec se vymyje (12 – 20) ml hexanu, eluát se jímá do 50ml zábrusové baňky (srdcovky). Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem 0,5 ml.

Tento postup je vhodný k dočištění extraktu, například eluční frakce z GPC při čištění extraktu kalů.

SPE na florisilu

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek vaty (26), nasypou se 2 g florisilu (13) nebo 2 g florisilu (14) a 1 g bezvodého síranu sodného (15), sorbent se sklepe poťukáváním na kolonku a promyje 5 ml hexanu (1). Připravená kolona nesmí vyschnout. Na kolonu se nanese zakonzentrovaný extrakt rekonstituovaný do hexanu (1), nechá se právě vsáknout a vymyje se 12 ml roztoku dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 1). Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	10
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

Tento postup je vhodný k dočištění extraktu, například není-li čištění na GPC dostatečné.

Odstranění sirných sloučenin reakcí s práškovou mědí

Pokud zkoncentrovaný extrakt po SPE a GPC čištění obsahuje krystalické usazeniny sirných sloučenin, je nutné tyto koextrakty odstranit vysrážením ve formě CuS po reakci s elementární mědí.

Postup: K vyčištěnému extraktu v zábrusové baňce (srdcovce) převedenému do isooktanu (3) se přidá asi 50 mg práškové mědi (17), baňka se uzavře a vloží na 1 min do ultrazvukové lázně. Černá-li roztok vyloučeným CuS, přidá se do mírného přebytku další podíl čerstvé mědi a opět se reakce aktivuje v ultrazvuku. Vzorek s vyloučeným CuS se nechá stát alespoň nejméně 1 h, nejlépe do druhého dne. Supernatant se převede do 2ml vialky k analýze a přidá se nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem 0,5 ml.

GPC čištění

Princip: Polymerní sorbent, nabobtnalý v příslušné mobilní fázi, se naplní do kovové kolony, která je připojena k HPLC pumpě. Ta umožňuje přesně nastavit průtok mobilní fáze kolonou. Po nástřiku vzorku se látky dělí podle velikosti a tvaru molekuly. Velké molekuly (tuky, steroly, barviva) se nezadržují v pórech sorbentu a projdou kolonou rychleji než malé molekuly. Sbírá se střední frakce se zájmovými látkami. Výběr retenční oblasti se optimalizuje na standardní směs.

Postup: Odparek extraktu se rozpustí ve 2 ml resp. 4 ml chloroformu (5) a zbaví se mechanických nečistot filtrací přes disk. 2 ml přefiltrovaného extraktu se neberou do injekční stříkačky a vzorek se nadávkuje přes 1ml přeplňovací smyčku na separační kolonu. Eluuje se chloroformem (5) s rychlostí průtoku 0,6 ml/min. Pro stanovení PCB se jímá frakce mezi (20. – 34.) min.

Frakce se zájmovými analyty se ještě podle potřeby dočistí na SPE kolonce s kyselým silikagelem (12) nebo florisilem (14). Není-li nutné další čištění, zkoncentrovaný eluát se převede do isooktanu (3) do 2ml vialky ke koncovému GC-MS stanovení. Přidá se nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	11
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Poznámky

5. *Lze použít GPC kolonu s mobilní fází 50% etylacetát v cyklohexanu. Její použití je výhodnější pro lepší separaci tuků od PCB, naopak tato mobilní fáze není vhodná pro extrakty kalů, špatně se rozpouštějí odparky s vyšším obsahem síry.*
6. *Podmínky pro GPC s mobilní fází etylacetát-cyklohexan: průtok 0,8 ml/min, sběr frakce s PCB mezi (20. – 30.) min.*

GC-MS stanovení

Před analýzou se zkontroluje aktuální stav MS. Systém musí vykazovat typické odezvy pro ionty vody, vzduchu (m/z 18, 28, 32) a kalibračního plynu. Dále se prověří citlivost GC-MS systému analýzou nejnižšího kalibračního bodu. Pokud je poměr signál k šumu u všech sledovaných analytů vyšší než 10, sestaví se sekvence pro změření kalibračních roztoků (23) a reálných vzorků.

Nastavení přístroje je uvedeno v aktuální měřicí metodě příslušného ovládacího programu, příklad nastavení je v tabulce č. 1.

Tabulka 1. Příklad GC-MS podmínek.

Nastavení GC	
Teplota injektoru	275 °C
Teplota detektoru (source/interface)	220/280 °C
Teplotní program	90/200/250/280 °C
Nárůst teploty	25/4/15 °C/min
Doba setrvání na příslušné teplotě	1/0/0/15 min
Nástřik; SSL time; SSL flow	2 µl; 0,75min; 50 ml/min
Nosný plyn	Helium, průtok 1 ml/min
Nastavení MSD	
Ionizace nárazem (EI) při 70 eV, měření v MS/MS módu	
Prekurzor → nejméně 2 produktové fragmenty pro každý kongener (tab. 2.)	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	12
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

Tabulka 2. Příklad MS/MS podmínek.

Analyt	m/z prekurzor	m/z produkty
PCB 30	256	186, 221
PCB 28	256	286, 221
PCB 52	292	220, 222, 255, 257
PCB 155	360	288, 290, 323, 325
PCB 101	326	254, 256, 289, 291
PCB 118	326	254, 256, 289, 291
¹³ C-PCB 118	338	266, 268, 301, 303
PCB 153	360	288, 290, 323, 325
PCB 138	360	288, 290, 323, 325
PCB 185	394	322, 324, 357, 359
PCB 180	394	322, 324, 357, 359
PCB 191	394	322, 324, 357, 359
PCB 189	394	322, 324, 357, 359

6. Zpracování dat

Identifikace :

Analyt se považuje za identifikovaný, pokud odchylka retenčního času daného kongeneru v chromatogramu vzorku a kalibračního standardu je nižší než 1 % a pokud poměr diagnostických (produktových) iontů daného kongeneru ve spektru vzorku je v rozmezí ± 30 % poměru ve spektru kalibračního standardu.

Kvantifikace

Kompletní přístup je uveden v příslušné vyhodnocovací metodě. Kvantifikace se provede pomocí kalibrační přímky metodou vnitřního standardu. Kalibrační závislosti musejí vykazovat minimální charakteristiky ($RSD < 20$ %, $R^2 > 0,995$). Přesahuje-li obsah jedné nebo více složek lineární rozsah kalibrační křivky, měření se opakuje se zředěným extraktem nebo s vyšším přídatkem vnitřního standardu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	13
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30680.1 Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Kalibrace

Při prvním zavedení metody a při každé změně přístrojového uspořádání se zjistí rozsah linearity kalibrační křivky pro každý analyt standardní směsi. Platnost vstupní kalibrace se ověří v každé sérii měřených vzorků nastříknutím alespoň 2 kalibračních bodů s koncentrací 5 % a 50 % lineárního rozsahu kalibrační křivky.

Stanovení výtěžnosti

Výtěžnost vnitřních standardů se stanoví porovnáním poměrů ploch těchto píků s plochou nástríkového standardu. Porovnají se tyto poměry v kalibračních roztocích a v reálném vzorku, tento poměr by měl být (60 – 120) %.

Kontrola správnosti výsledků

V každé sérii vzorků se proměří slepý vzorek (po zpracování kompletním postupem bez vzorku) a vzorek referenčního materiálu. Pro tato stanovení se vedou regulační diagramy.

Uvádění výsledků

V intervalu nad mezí detekce do meze stanovitelnosti se uvede < LOQ (mez stanovitelnosti). Nastavená mez stanovitelnosti pro zápis výsledků je 0,5 µg/kg pro všechny stanovované kongenery. Výsledky < 10 µg/kg se zaokrouhlí na 2 platné číslice a výsledky > 10 µg/kg se zaokrouhlí na 3 platné číslice. Výsledky se vztáhnou na sušinu vzorku, není-li v požadavku na stanovení uvedeno jinak.

Literatura

1. ISO 13876 Soil quality – Determination of polychlorinated biphenyls (PCB) by gas chromatography with mass selective detection (GC-MS) and gas chromatography with electron-capture detection (GC-ECD), 2013.
2. ČSN EN 16167 Kaly, upravený bioodpad a půdy – Stanovení polychlorovaných bifenylů (PCB) plynovou chromatografií s detekcí hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD), 2013.
3. ISO 10382 Soil quality – Determination of organochlorine pesticides (OCP) and polychlorinated biphenyls (PCB) – Gas-chromatographic method with electron capture detection, 2002.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

STANOVENÍ ORGANOCHLOROVÝCH PESTICIDŮ (OCP) METODOU GC-MS/MS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro kvantitativní stanovení jedenácti vybraných organochlorových pesticidů (HCB, α , β , γ , δ - HCH, *o,p'*- a *p,p'*- izomerů DDT, DDE a DDD) pomocí GC-MS/MS ve všech typech půd, v sedimentech a odpadních kalech. Detekční limit závisí na cílovém analytu, na míře vyčištění extraktu od rušivých vlivů, čistotě použitých chemikálií a na možnostech měřicího přístroje. Za podmínek daných tímto postupem lze dosáhnout meze stanovitelnosti 0,5 µg/kg vzorku.

2. Princip metody

Vzhledem k rozmanitosti matrice vzorku a různé hladině očekávaných koncentrací stanovovaných látek, interferencí a míře rušivých vlivů nelze použít jeden obecně platný postup zkoušky. Metoda je založena na modulárním principu použitelných postupů pro extrakci vzorku, čištění extraktu, detekci a stanovení cílových analytů.

Organochlorové analyty se z předupraveného vzorku obohaceného přídavkem vnitřních standardů extrahují do směsi rozpouštědel, zakonzentrovaný extrakt se přečistí, převede do isooktanu a zanalyzuje metodou plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Obsah cílových analytů se vyhodnotí z kalibrační závislosti plochy diagnostického fragmentu analytu na koncentraci příslušného analytu v roztoku směšného standardu, obsahujícím všechny požadované látky a vnitřní standardy.

Poznámky

1. *Postup je použitelný i pro stanovení dalších látek skupiny OCP: aldrin, dieldrin, endrin, isodrin, heptachlor, heptachlorepoxid, endosulfan, chlordan, metoxychlor, mirex a vybraných kongenerů toxafenu (P26, P32, P50, P60).*

3. Přístroje a pomůcky

1. Plynový chromatograf s MS detektorem umožňující měření v MRM módu.
2. Kapilární chromatografická kolona, délka (30 – 60) m, vnitřní průměr (0,18 – 0,32) mm, s filmem (0,1 – 0,5) µm chemicky vázané nepolární až mírně polární fáze, např.: DB-XLB 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, DB5-MS 30 m × 0,25 mm

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

× 0,25 µm, VF5-MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm.

3. Extrakční zařízení na principu Soxhletovy extrakce nebo principu zrychlené extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku a teploty, např.: B-811 (Büchi), ASE 100 (Dionex).
4. Zařízení pro gelovou permeační chromatografii (GPC), např.: sběrač frakcí GX-271 (Gilson), pumpa Gilson 307 (Gilson), kovová kolona (8 × 500) mm (Tessek) plněná BIO Beads-SX3, mobilní fáze chloroform nebo ethylacetát s cyklohexanem, jednorázové PTFE filtry s velikostí pórů 0,45 µm/resp. 0,20 µm pro filtraci mechanických nečistot.
5. Rotační vakuová odparka.
6. Zařízení pro odpařování proudem inertního plynu.
7. Muflová pec, nastavitelná do teploty nejméně 550 °C.
8. Ultrazvuková lázeň.
9. Laboratorní lyofilizační zařízení, např. ALPHA 1-4 LSC (Christ).
10. Laboratorní tříštivý mlýnek, např. Grindomix GM 200 (Retsch).
11. Skleněné kolony pro SPE (sloupcovou chromatografii): spodní zúžená restrikce ID 4 mm, sorbentová část ID 10 mm, horní zásobník rozpouštědla ID 20 mm.
12. Injekční stříkačka, polypropylen (PP), (5 – 20) ml.
13. Filtrační disky PTFE, (17 – 30) mm, velikost pórů (0,2 – 0,45) µm.
14. Běžné laboratorní sklo vyžíhané před použitím.

Poznámky

2. *Při používání rotační vakuové odparky se extrakt neodpařuje úplně dosucha, aby nedošlo ke ztrátám těkavějších analytů. Vhodné je použít výševroucí „keeper“, např. přídavek 1 ml isooktanu do extraktu.*

4. Chemikálie

Všechny použité chemikálie jsou čistoty minimálně p.a., nejlépe však kvality pro reziduální analýzu. Dostačující čistota činidel a rozpouštědel se testuje proměřením slepého vzorku. Hodnota slepého vzorku nesmí být vyšší než 50 % meze stanovitelnosti. Pro stanovení

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

hodnot blížících se limitu detekce je třeba měření slepého vzorku zahrnout do každé série vzorků.

1. Hexan.
2. Aceton.
3. Isooktan.
4. Dichlormetan.
5. Chloroform.
6. Etylacetát.
7. Cyklohexan.
8. Kyselina sírová, H_2SO_4 , koncentrovaná, 96%.
9. Silikagel 60 (0,063 – 0,200) mm, čištěný 50% dichlormetanem v hexanu (ASE, program 12), aktivovaný 16 h při 150 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi a v exsikátoru.
10. Silikagel 100 (0,063 – 0,200) mm, čištěný 50% dichlormetanem v hexanu (ASE, program 12), aktivovaný 16 h při 150 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi a v exsikátoru.
11. Silikagel deaktivovaný 3 % H_2O .
 Příprava: Ke 97 g plně aktivního silikagelu (9) resp. (10) se přidají 3 ml destilované vody, směs se intenzivně protřepává, až je hladká a bez hrudek.
12. Kyselý silikagel.
 Příprava: Ke 100 g plně aktivního silikagelu (9) resp. (10) v zábrusové baňce se postupně po částech přidá 55 ml H_2SO_4 (8) a intenzivně se protřepává, až je směs sypká a bez hrudek.
13. Florisil (0,15 – 0,25) mm; (60 – 100) mesh, vyžíhaný 4 h při 550 °C, před použitím reaktivovaný 12 h při 150 °C.
14. Florisil deaktivovaný 3 % vody.
 Příprava: K 97 g plně aktivního Florisilu (13) se přidají 3 ml vody (27), směs se intenzivně se protřepává, až je hladká a bez hrudek.
15. Síran sodný, bezvodý, Na_2SO_4 , vyžíhaný 12 h při 550 °C.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

16. Hygroskopická granulovaná křemelina.

17. Prášková měď.

18. Standardy stanovovaných analytů.

Hexachlorcyklobenzen (HCB)	CAS-RN [118-74-1],
α -hexachlorcyklohexan (α -HCH)	CAS-RN [319-84-6],
β -hexachlorcyklohexan (β -HCH)	CAS-RN [319-84-7],
γ -hexachlorcyklohexan (γ -HCH)	CAS-RN [58-89-9],
δ -hexachlorcyklohexan (δ -HCH)	CAS-RN [319-84-8],
o, p' - DDE	CAS-RN [3424-82-6],
p, p' - DDE	CAS-RN [72-54-9],
o, p' - DDD	CAS-RN [53-19-0],
p, p' - DDD	CAS-RN [72-54-8],
o, p' - DDT	CAS-RN [784-02-6],
p, p' - DDT	CAS-RN [50-29-3].

19. Směsné standardy.

Pesticide MIX13; 10 μ g/ml cyklohexanu (Dr. Ehrenstorfer),
CP + PCB MIX23; 10 μ g/ml isooktanu s 5 % toluenu (Absolute Standards).

20. Vnitřní standardy (ISTD).

PCB 30	CAS-RN [35693-92-6],
PCB 155	CAS-RN [33979-03-2],
PCB 185	CAS-RN [52712-05-7],
PCB 189	CAS-RN [39635-31-9],
PCB 191	CAS-RN [74472-50-7],
^{13}C -PCB 118	CAS-RN [104130-40-7],
$^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDE,	nestanoveno
$^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDT,	CAS-RN [104215-84-1]
$^{13}\text{C}_6$ -Lindan	CAS-RN [104215-85-2]

21. Pracovní roztok vnitřních standardů, c = 1 μ g/ml isooktanu.

Příprava: Z komerčně dodaných roztoků se připraví pracovní roztok obsahující

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

alespoň 3 látky, pokrývající celý retenční rozsah (např. PCB 30, $^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDE a $^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDT) v koncentraci 1 µg/ml isooktanu. Tento pracovní roztok se přidává do kalibračních roztoků vnějšího standardu.

22. Pracovní roztok vnitřních standardů, $c = 100 \text{ ng/ml}$ isooktanu.

Příprava: Z komerčně dodaných roztoků se připraví pracovní roztok obsahující alespoň 3 látky, pokrývající celý retenční rozsah (např. PCB 30, $^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDE a $^{13}\text{C}_{12}$ -4,4'-DDT) v koncentraci 100 ng/ml isooktanu. Tento pracovní roztok se přidává ke vzorku před extrakcí. Přídavek ISTD na 1 ml extraktu vzorku musí být stejný jako koncentrace ISTD v kalibračních roztocích (23).

23. Kalibrační roztoky vnějšího standardu.

Příprava: Z roztoků směsných standardů (19) a primárních standardů (18) se připraví pracovní roztoky v koncentračním rozsahu (5 – 1000) ng analytu + 100 ng ISTD/ml isooktanu.

24. Pracovní roztok nástřikového standardu, $c = 1 \text{ µg/ml}$ isooktanu.

Pro kontrolu výtěžnosti celého postupu se přidá alespoň jeden ISTD až do vialky s vyčištěným extraktem.

Příprava: Připraví se pracovní roztok PCB 185 o koncentraci 1 µg/ml isooktanu. Pipetuje se 100 µl tohoto roztoku na 1 ml extraktu připraveného k analýze.

25. Křemenný písek mořský, jemný, vyžíhaný při 550 °C/16 h.

26. Křemenná vata silanizovaná.

27. Voda (deionizovaná, destilovaná nebo demineralizovaná).

Poznámky

- Ideální je použít izotopově značené standardy pro všechny analyty – metoda izotopového ředění. Koncentrace ISTD v roztoku může být i nižší, např. 50 ng/ml pro izotopově značené standardy. Při použití nativních kongenerů PCB jako ISTD je nutný předpoklad, že tyto kongenery se ve vzorku nenacházejí ve významné koncentraci.*
- Certifikovaný směsný standard Pesticide MIX 13 (Dr. Ehrenstorfer) obsahuje 32 analytů: kongenery PCB, aldrin, dieldrin, endrin, isodrin, cis/trans chlordan, oxychlordan, o,p'- a p,p'- DDE, DDD, DDT, α , β - endosulfan, α , β , γ , δ - HCH, HCB, heptachlor, heptachlor epoxid, methoxychlor a mirex.*
- Certifikovaný směsný standard OCP+PCB MIX 23 (Absolute Standards) obsahuje 23 analytů: kongenery PCB, aldrin, dieldrin, endrin, cis/trans chlordan, oxychlordan, o,p'- /p,p'- DDE, DDD, DDT, α , β , γ , δ - HCH, HCB, heptachlor a heptachlorepoxyd.*

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

5. Pracovní postup

Předúprava vzorku

Vzorek se hned po dodání do laboratoře vysuší při $T < 60\text{ °C}$ (přednostně při laboratorní teplotě), zhomogenizuje, přesítuje (velikost ok max 1 mm) a (100 – 300) g takto upraveného vzorku se uloží do skleněné vzorkovnice. Část vzorku se použije na stanovení sušiny pro potřebu přepočtu konečného výsledku na sušinu vzorku.

Stanovení sušiny

5 g předupraveného vzorku se naváží do vysoušecí nádoby, vysuší se 2 h při 105 °C , uzavřená nádoba se nechá zchladit v exsikátoru a opět se zváží.

$$f_{suš} = \frac{a}{a_o}$$

$f_{suš}$ sušina,

a hmotnost vysušeného vzorku (g),

a_o navážka předupraveného vzorku (g).

Lyofilizace

Vzorky s vysokým obsahem vody lze šetrně vysušit lyofilizací. Tento způsob sušení je vhodný u půdních substrátů s vysokým obsahem organické hmoty a s obsahem vody nad 10 %.

Postup: Částečně homogenizovaný, za kryogenních podmínek předupravený vzorek se navrství na lyofilizační misku, miska se vzorkem se zváží, zabalí se do mikrotenové folie a zamrazí se (-18 °C). Lyofilizační zařízení se připraví a spustí dle návodu k použití. Vloží se misky se zamraženým vzorkem a spustí se proces lyofilizace. Vyhříváním poliček pro uložení vzorků a kontrolou aktuální teploty ve vzorku a tlaku ve vymražovaném prostoru se udržují optimální podmínky blízké průběhu sublimační křivky. Proces lyofilizace je ukončen, když teplota uvnitř vzorku, snímaná po celou dobu teplotní sondou, dosáhne teploty vyhřívání poličky ($T \sim 20\text{ °C}$).

Miska s vysušeným vzorkem se opět zváží a diferenčně se stanoví úbytek vody z původního

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

vzorku. Suchý vzorek se zhomogenizuje v mlýnku a uloží se do skleněné vzorkovnice. Stanoví se i sušina suchého/analytického vzorku pro potřebu přepočtu výsledků na sušinu a původní vzorek.

Extrakce vzorku

Extraktor B-811

Do skleněné patrony s fritou se diferenčně naváží přesně (1 – 5) g předupraveného vzorku, obohatí se 0,5 ml vnitřního standardu (22) a extrahuje se 80 ml směsi acetonu (2) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 3). Na extraktoru se nastaví teplotní program zahrnující 20 min extrakce horkým rozpouštědlem a 40 min promývání vzorku kondenzovaným rozpouštědlem. Extrakt se kvantitativně převede do 100ml zábrusové baňky a zakoncentruje na rotační vakuové odparce na objem (1 – 2) ml.

Extrakt se podle potřeby dočistí na silikagelové kolonce a převede se do 0,5 ml isooktanu ve vialce.

Extraktor ASE 100

Princip extrakce: Vzorek v nerezové cele se extrahuje rozpouštědlem za zvýšené teploty a tlaku. Extrakce probíhá ve dvou cyklech, statickém a promývacím, které je možné vícekrát opakovat. Na závěr se cela se vzorkem vysuší proudem dusíku. Vhodnou volbou sorbentů do náplně cely a programu lze získat extrakt s minimem nežádoucích nečistot.

Postup extrakce OCP z čistírenských kalů: Na dno extrakční cely (34 ml) se vloží filtr, nasype se 5 g síranu sodného (15), 2 g aktivovaného silikagelu (10) a homogenní směs ze 2,5 g vzorku, 4 g florisilu (13), 2,5 g síranu (15) a 0,5 ml ISTD (22). Objem cely se doplní pískem (25), přidá se 0,5 g křemelinu (16), cela se uzavře a vloží do přístroje. Nastaví se příslušný extrakční program a spustí se proces. Po skončení extrakce se vloží promývací cela a přístroj se 2 × propláchne 5 ml čistého rozpouštědla.

Program: T = 100 °C; Time (static/purge) = 600s/40 s, Flush (objem proplachu dusíkem) = 150 %, 2 cykly, eluce roztokem dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (15 + 85).

Extrakt je nutné dále dočistit. Tuhy a část síry se odstraní pomocí GPC, polyaromatické uhlovodíky (PAHs) se odstraní na kolonce s kyselým silikagelem (12), zbytek síry se vysráží

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

jako CuS po reakci s mědí (17).

Postup extrakce OCP z rostlinného materiálu: Na dno extrakční cely (34 ml) se vloží filtr, nasype se 9 g směsi sorbentů (5 g síranu sodného (15), 2 g aktivovaného silikagelu (10) a 2 g florisilu (13)) a homogenní směs ze 2 g vzorku, 2 g florisilu (13), 2 g síranu (15) a 0,2 ml ISTD (22). Objem cely se doplní pískem (25), přidá se 0,5 g křemeliny (16), cela se uzavře a vloží do přístroje. Nastaví se příslušný extrakční program a spustí se proces. Po skončení extrakci se vloží promývací cela a přístroj se 2 × propláchne 5 ml čistého rozpouštědla.

Program: T = 40 °C; Time (static/purge) = 600/20 s, Flush (objem proplachu dusíkem) = 150 %, 2 cykly, eluce roztokem dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (15 + 85). Extrakt se dočistí podle potřeby na krátké kolonce s kyselým silikagelem (12) a převede se do 200 µl isooktanu ve vialce.

Čištění extraktu

SPE na silikagelu dlouhá kolonka

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek silanizované křemenné vaty (26), nasype se 1 g Na₂SO₄ (15), vrstva (3 – 5) g kyselého silikagelu (12), 1,5 g silikagelu (11). Sorbent se sklepe pot'ukáváním na kolonku.

Na připravenou kolonu se nanese zakoncentrovaný extrakt vzorku. Baňka se 2 × vypláchne (1 – 2) ml hexanu, ultrazvukuje 30 s a promývací podíly se postupně přidávají na SPE kolonu. Pod kolonku se umístí 50ml zábrusová baňka (srdcovka) a OCP se vymyjí 10 ml hexanu a následně 10 ml dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 1) pro kvantitativní vymytí déle se zadržujících látek (HCB, DDD). Extrakt s přísadkou 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný 0,5 ml.

SPE na silikagelu – krátká kolonka

Na dno krátké skleněné kolonky se vloží malý smotek silanizované křemenné vaty (26), nasype se 0,5 g Na₂SO₄ (15), vrstva 2 g kyselého silikagelu (12) a 0,8 g silikagelu (11). OCP

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

se kvantitativně vymyjí 10 ml hexanu a následně 6 ml roztoku dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 1).

Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný 0,5 ml.

Tento čistící krok je dostatečný pro půdu a sedimenty s nižším obsahem organické hmoty.

SPE na kyselém silikagelu

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek vaty (26), nasype se 1 g bezvodého síranu sodného (15) a vrstva (2 – 5) g silikagelu s kyselinou sírovou (12). Sorbent se sklepe poťukáváním na kolonku a nanese se předčištěný extrakt. Sloupec se vymyje (12 – 20) ml hexanu, eluát se jímá do 50ml zábrusové baňky (srdcovky). Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

Tento postup je vhodný k dočištění extraktu, například eluční frakce z GPC při čištění extraktu kalů

SPE na florisilu

Na dno skleněné kolonky se vloží smotek vaty (26), nasypou se 2 g florisilu (13) nebo 2 g florisilu (14) a 1 g bezvodého síranu sodného (15), sorbent se sklepe poťukáváním na kolonku a promyje 5 ml hexanu (1). Připravená kolona nesmí vyschnout. Nanese se zakoncentrovaný extrakt rekonstituovaný do hexanu (1), nechá se právě vsáknout a vymyje se 12 ml dichlormetanu (4) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 1). Extrakt s přídavkem 0,5 ml isooktanu (3) se odpaří na rotační vakuové odparce téměř k suchu, odparek se rekonstituuje 0,5 ml isooktanu (3) a převede se do 2ml vialky. K extraktu ve vialce se přidá nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví odfoukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

Tento postup je vhodný k dočištění extraktu například u vzorků s obsahem živočišného tuku, není-li k dispozici GPC nebo je čištění GPC nedostatečné.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	10
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Odstranění sirných sloučenin reakcí s práškovou mědí

Pokud zkoncentrovaný extrakt po SPE a GPC čištění obsahuje krystalické usazeniny sirných sloučenin, je nutné tyto koextrakty odstranit vysrážením ve formě CuS po reakci s elementární mědí.

Postup: K vyčištěnému extraktu v zábrusové baňce (srdcovce) převedenému do isooktanu (3) se přidá asi 50 mg práškové mědi (17), baňka se uzavře a vloží na 1 min do ultrazvukové lázně. Černá-li roztok vyloučeným CuS, přidá se do mírného přebytku další podíl čerstvé mědi a opět se reakce aktivuje v ultrazvuku. Vzorek s vyloučeným CuS se nechá stát alespoň 1 h, nejlépe do druhého dne. Supernatant se převede do 2ml vialky k analýze, přidá se nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví od foukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

GPC čištění

Princip: Polymerní sorbent, nabobtnalý v příslušné mobilní fázi, je naplněn do kovové kolony, která je připojena k HPLC pumpě. Ta umožňuje přesně nastavit průtok mobilní fáze kolonou. Po nástřiku vzorku se látky dělí podle velikosti a tvaru molekuly. Velké molekuly (tuky, steroly, barviva) se nezadržují v pórech sorbentu a projdou kolonou rychleji než malé molekuly. Sbírá se střední frakce se zájmovými látkami. Výběr retenční oblasti se optimalizuje na standardní směs.

Postup: Odparek extraktu se rozpustí ve 2 ml/resp. 4 ml chloroformu (5) a zbaví se mechanických nečistot filtrací přes disk. 2 ml přefiltrovaného extraktu se naberou do injekční stříkačky a vzorek se nadávkuje přes 1ml přeplňovací smyčku na separační kolonu. Eluuje se chloroformem (5) s rychlostí průtoku 0,6 ml/min. Pro stanovení OCP se jímá frakce mezi (20. – 44.) min.

Frakce se zájmovými analyty se ještě podle potřeby dočistí na SPE kolonce s kyselým silikagelem (12) nebo florisilem (13). Není-li nutné další čištění, zkoncentrovaný eluát se převede do isooktanu (3) do 2ml vialky ke koncovému GC-MS stanovení. Přidá se nástřikový standard (24) a objem extraktu se upraví od foukáním pod proudem dusíku na požadovaný objem.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	11
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Poznámky

6. *Lze použít GPC kolonu s mobilní fází 50% etylacetát v cyklohexanu. Její použití je výhodnější pro lepší separaci tuků od OCP, naopak tato mobilní fáze není vhodná pro extrakty kalů, špatně se rozpouští odparky s vyšším obsahem síry.*
7. *Podmínky pro GPC s mobilní fází etylacetát-cyklohexan: průtok 0,8 ml/min, sběr frakce s OCP mezi (20. – 35). min.*

GC-MS stanovení

Před analýzou se zkontroluje aktuální stav MS. Systém musí vykazovat typické odezvy pro ionty vody, vzduchu (m/z 18, 28, 32) a kalibračního plynu. Dále se prověří citlivost GC-MS systému analýzou nejnižšího kalibračního bodu. Pokud je poměr signál k šumu u všech sledovaných analytů vyšší než 10, sestaví se sekvence pro změření kalibračních roztoků (23) a reálných vzorků.

Nastavení přístroje je uvedeno v aktuální měřicí metodě příslušného ovládacího programu, příklad nastavení je v tabulce č. 1.

Tabulka 1. Příklad GC-MS podmínek.

Nastavení GC	
Teplota injektoru	275 °C
Teplota detektoru (source/interface)	220/280 °C
Teplotní program	90/200/250/280 °C
Nárůst teploty	25/4/15 °C/min
Doba setrvání na příslušné teplotě	1/0/0/15 min
Nástřik; SSL time; SSL flow	2 µl; 0,75min; 50 ml/min
Nosný plyn	Helium, průtok 1 ml/min
Nastavení MSD	
Ionizace nárazem (EI) při 70 eV, měření v MS/MS módu	
Prekurzor → nejméně 2 produktové fragmenty pro každý kongener (tab. 2.)	

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	12
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Tabulka 2. Příklad MS/MS podmínek.

Analyt	m/z prekurzor	m/z produkty
α -HCH	219	147, 183
HCB	284	212, 214, 247, 249
PCB 30	256	186, 221
γ -HCH	219	147, 183
^{13}C - γ -HCH	225	153, 189
β -HCH	219	147, 183
δ -HCH	219	147, 183
o,p'-DDE	246	176, 211
^{13}C -DDE	258	188, 223
p,p'-DDE	246	176, 211
o,p'-DDD	235	165, 199, 200
p,p'-DDD	235	165, 199, 200
o,p'-DDT	235	165, 199, 200
^{13}C -DDT	247	177, 211
p,p'-DDT	235	165, 199, 200
PCB 185	396	324, 326, 359, 361

6. Zpracování dat

Identifikace

Analyt se považuje za identifikovaný, pokud odchylka retenčního času daného kongeneru v chromatogramu vzorku a kalibračního standardu je nižší než 1 % a pokud poměr diagnostických (produktových) iontů daného kongeneru ve spektru vzorku je v rozmezí ± 30 % poměru ve spektru kalibračního standardu.

Kvantifikace

Kompletní přístup je uveden v příslušné vyhodnocovací metodě. Kvantifikace se provede pomocí kalibrační přímky metodou vnitřního standardu. Kalibrační závislosti musí vykazovat minimální charakteristiky ($\text{RSD} < 20$ %, $R^2 > 0,995$). Přesahuje-li obsah jedné nebo více složek lineární rozsah kalibrační křivky, měření se opakuje se zředěným extraktem nebo s vyšším přídatkem vnitřního standardu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	13
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30690.1 Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Kalibrace

Při prvním zavedení metody a při každé změně přístrojového uspořádání se zjistí rozsah linearity kalibrační křivky pro každý analyt standardní směsi. Platnost vstupní kalibrace se ověří v každé sérii měřených vzorků nastříknutím alespoň 2 kalibračních bodů s koncentrací 5 % a 50 % lineárního rozsahu kalibrační křivky.

Stanovení výtěžnosti

Výtěžnost vnitřních standardů se stanoví porovnáním poměrů ploch těchto píků s plochou nástríkového standardu. Porovnají se tyto poměry v kalibračních roztocích a v reálném vzorku, tento poměr by měl být (60 – 120) %.

Kontrola správnosti výsledků

V každé sérii vzorků se proměří slepý vzorek (po zpracování kompletním postupem bez vzorku) a vzorek referenčního materiálu. Pro tato stanovení se vedou regulační diagramy.

Uvádění výsledků

V intervalu nad mezí detekce do meze stanovitelnosti se uvede < LOQ (mez stanovitelnosti). Nastavená mez stanovitelnosti pro zápis výsledků je 0,5 µg/kg pro všechny stanovované látky. Výsledky < 10 µg/kg se zaokrouhlí na 2 platné číslice a výsledky > 10 µg/kg se zaokrouhlí na 3 platné číslice. Výsledky se vztáhnou na sušinu vzorku, není-li v požadavku na stanovení uvedeno jinak.

Literatura

1. ISO 10382 Soil quality – Determination of organochlorine pesticides (OCP) and polychlorinated biphenyls (PCB) – Gas-chromatographic method with electron capture detection, 2004.
2. ISO 22892 Soil quality – Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry, 2006.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

STANOVENÍ POLYBROMOVANÝCH DIFENYLETHERŮ (PBDE) METODOU GC-MS/MS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro stanovení vybraných kongenerů polybromovaných difenyletherů (PBDE) v abiotických matricích (půdách, sedimentech, kompostech a čistírenských kalech). Za podmínek daných tímto postupem lze dosáhnout meze stanovitelnosti 0,1 µg/kg vzorku.

2. Princip metody

PBDE se z předupraveného vzorku extrahují do dichlormetanu metodou tlakové extrakce rozpouštědlem (PLE) nebo Soxhletovy extrakce horkým rozpouštědlem. Extrakt se obohatí přídavkem vnitřního standardu s isotopově značenými PBDE (¹³C-PBDE), převede se do hexanu, přečistí se třepáním s koncentrovanou kyselinou sírovou. Po odstředění se hexanová fáze dočistí pomocí silikagelu modifikovaného kyselinou sírovou, převede se do isooktanu a zanalyzuje metodou plynové chromatografie s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí. Alternativním způsobem přípravy vzorku k analýze PBDE je aplikace preparativní adsorpční chromatografie na kombinované silikagelové koloně. Pro odstranění minerálních olejů z extraktu čistírenských kalů, kontaminovaných sedimentů a kompostů je nutné do postupu zařadit frakcionaci extraktu pomocí adsorpční kolonové chromatografie na alumině. Obsahy PBDE se vyhodnotí z kalibrační závislosti plochy diagnostického iontu jednotlivých analytů na koncentraci příslušného analytu v roztoku směsného standardu, obsahujícím všechny požadované látky a vnitřní standardy.

3. Přístroje a pomůcky

1. Plynový chromatograf s MS detektorem umožňující měření v MRM módu.
2. Kapilární kolona s nepolární až středně polární stacionární fází, např.: VF5-MS 10 m × 0,53 mm × 0,25 µm (Rapid-MS Varian), DB5-MS 15 m × 0,25 mm × 0,10 µm (Agilent J&W), DB-XLB 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm (Agilent J&W).
3. ASE 100 (Dionex) s příslušenstvím (rozebíratelné nerezové cely a celulózové filtry).
4. Extraktor pro Soxhletovu extrakci horkým rozpouštědlem B-811 (Büchi).
5. Stolní chlazená odstředivka Sigma 2-16K (Sigma).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

6. Muflová pec s T min do 600 °C.
7. Ultrazvuková lázeň.
8. Horizontální třepačka.
9. Rotační vakuová odparka.
10. Zařízení na odpařování proudem dusíku a odpařovací zkumavky.
11. Dusík vysoké čistoty (99,999 %).
12. Minikolonka o velikosti 12 mm × 60 mm s rezervoárem 24 mm × 60 mm.
13. Kolona na silikagel o velikosti 20 mm × 170 mm s rezervoárem 34 mm × 75 mm.
14. Kolona na aluminu o velikosti 12 mm × 150 mm s rezervoárem 24 mm × 65 mm.
15. Laboratorní sklo před použitím vyžíhané.

4. Chemikálie

Všechny použité chemikálie jsou čistoty nejlépe pro reziduální analýzu. Dostačující čistota činidel a rozpouštědel se testuje proměřením slepého vzorku. Pro stanovení hodnot blížících se detekčnímu limitu je nutné zahrnout měření slepého pokusu do každé série vzorků.

1. Hexan.
2. Dichlormetan, DCM.
3. Eluční směs, dichlormetan (2) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 1).
4. Eluční směs, dichlormetan (2) v hexanu (1) v objemovém poměru (1 + 4).
5. Eluční směs, dichlormetan (2) v hexanu (1) v objemovém poměru (2 + 98).
6. Isooktan pro reziduální analýzu.
7. Kyselina sírová, H₂SO₄, koncentrovaná.
8. Hydroxid sodný, NaOH.
9. Hydroxid sodný, NaOH, vodný roztok, c = 1 mol/l.
Příprava: 4 g NaOH se rozpustí v destilované vodě ve 100ml odměrné baňce.
10. Dusičnan stříbrný, AgNO₃.
11. Silikagel 100 (0,063 – 0,200) mm, čištěný 50% dichlormetanem v hexanu (ASE, program 12), aktivovaný 16 h při 150 °C, uchovávaný v zábrusové lahvi

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

v exsikátoru.

12. Kyselý silikagel 50%.

Příprava: Smíchá se 50 g silikagelu 100 (11) s 50 g H_2SO_4 (7), třepe se dokud nevznikne sypká směs.

13. Silikagel 60 (0,063 – 0,200) mm, aktivovaný 12 h při 250 °C. Uchovává se v zábrusové lahvi v exsikátoru.

14. Kyselý silikagel 44%.

Příprava: Smíchá se 56 g silikagelu 60 (13) se 44 g koncentrované H_2SO_4 (7), třepe se, dokud nevznikne sypká směs. Uchovává se v zábrusové lahvi v exsikátoru.

15. Zásaditý silikagel.

Příprava: Smíchá se 33 g silikagelu 60 (13) se 17 g 1M NaOH (9), třepe se, dokud nevznikne sypká směs. Uchovává se v zábrusové lahvi v exsikátoru.

16. Stříbrný silikagel.

Příprava: Smíchá se 45 g silikagelu 60 (13) s 5 g AgNO_3 (10), který byl před smícháním rozpuštěn v 20 ml destilované vody. Poté se směs důkladně promíchá a vysuší 8 h při 120 °C. Uchovává se v tmavé zábrusové lahvi v exsikátoru.

17. Kyselý oxid hlinitý (Al_2O_3) 90, aktivita Super I (0,063 mm – 0,200 mm), aktivovaný 12 h při 130 °C. Uchovává se při 130 °C.

18. Zásaditý oxid hlinitý (Al_2O_3) 90, aktivita Super I (0,063 mm – 0,200 mm), aktivovaný 24 h při 600 °C. Uchovává se při 130 °C.

19. Síran sodný bezvodý, Na_2SO_4 , aktivovaný 12 h při 550 °C. Uchovává se v zábrusové lahvi v exsikátoru.

20. Elementární prášková měď.

21. Křemenná vata silanizovaná.

22. Mořský písek, vyžíhaný 12 h při 550 °C.

23. Hygroskopická matrice, např. Spe-ed Matrix.

24. Standardy (viz.tabulky č. 1 a 2).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Tabulka 1. PBDE analyzované touto metodou.

PBDE	Zkratka	Vzorec	Molekulová hmotnost (g/mol)
2,4,4'-Tribromodifenylether	BDE28	$C_{12}H_7Br_3O$	406,91
2,2',4,4'-Tetrabromodifenylether	BDE47	$C_{12}H_6Br_4O$	485,81
2,3',4,4'-Tetrabromodifenylether	BDE66	$C_{12}H_6Br_4O$	485,81
2,2',4,4',6-Pentabromodifenylether	BDE100	$C_{12}H_5Br_5O$	564,71
2,2',4,4',5-Pentabromodifenylether	BDE99	$C_{12}H_5Br_5O$	564,71
2,2',3,4,4'-Pentabromodifenylether	BDE85	$C_{12}H_5Br_5O$	564,71
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodifenylether	BDE154	$C_{12}H_4Br_6O$	643,61
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodifenylether	BDE153	$C_{12}H_4Br_6O$	643,61
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodifenylether	BDE183	$C_{12}H_3Br_7O$	722,51

Tabulka 2. Izotopově značené vnitřní standardy ^{13}C -PBDE.

^{13}C -PBDE	Zkratka	Vzorec	Molekulová hmotnost (g/mol)
2,4,4'-Tribromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE28	$^{13}C_{12}H_7Br_3O$	418,80
2,2',4,4'-Tetrabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE47	$^{13}C_{12}H_6Br_4O$	497,70
3,3',4,4'-Tetrabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE77	$^{13}C_{12}H_6Br_4O$	497,70
2,2',4,4',6-Pentabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE100	$^{13}C_{12}H_5Br_5O$	576,60
2,2',4,4',5-Pentabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE99	$^{13}C_{12}H_5Br_5O$	576,60
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE154	$^{13}C_{12}H_4Br_6O$	576,60
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE153	$^{13}C_{12}H_4Br_6O$	655,50
2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE138	$^{13}C_{12}H_4Br_6O$	655,50
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromo[$^{13}C_{12}$]difenylether	^{13}C -BDE183	$^{13}C_{12}H_3Br_7O$	734,39

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

25. Standardní roztoky a směsné standardy.
 - 25.1 Směsný standard nativních PBDE, např. (BDE-MXF) pro kvantifikaci, 2000 ng/ml nonanu (Wellington, Kanada).
 - 25.2 Směsný standard izotopově značených PBDE, např. (MBDE-MXFS), surrogate: 2000 ng/ml nonanu (Wellington, Kanada).
 - 25.3 Směsný standard izotopově značených PBDE (MBDE-MXFR), recovery: 2000 ng/ml nonan (Wellington, Kanada).
 - 25.4 BDE209: 50 µg/ml toluenu (AccuStandard, USA).
 - 25.5 Izotopově značený BDE209 (MBDE-209): (25 ± 1,2) µg/ml (Wellington, Kanada).
 - 25.6 Pracovní směsný standardní roztok BDE-MXF: 500 ng (jednotlivých BDE) v 1 ml isooktanu.
 - 25.7 Pracovní směsný standardní roztok BDE-MXF: 50 ng (jednotlivých BDE) v 1 ml isooktanu.
 - 25.8 Pracovní roztok surrogate standardu: 500 ng (jednotlivých ¹³C-BDE) v 1 ml isooktanu. Tento pracovní roztok se přidává v množství (20 – 100) µl k (1 – 5) g vzorku.
 - 25.9 Pracovní roztok nástřikového standardu: 500 ng (jednotlivých ¹³C-BDE) v 1 ml isooktanu
 - 25.10 Kalibrační standardní roztoky se připraví ze standardních roztoků (25.1, 25.6, 25.7, 25.8, 25.9) v rozsahu (1 – 500) ng v 1 ml isooktanu
26. Referenční materiály, např. SRM 2585 Organic Contaminants in House Dust (NIST, USA).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

5. Pracovní postup

Předúprava vzorků

Ihned po dodání do laboratoře se vzorek vysuší při $T < 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, (přednostně při laboratorní teplotě), zhomogenizuje, přesítuje (velikost ok max 2 mm) a (100 – 300) g takto upraveného vzorku se uloží do skleněné vzorkovnice. Část vzorku se použije na stanovení sušiny pro potřebu přepočtu konečného výsledku na sušinu vzorku

Stanovení sušiny

5 g předupraveného vzorku se naváží do vysoušecí nádoby, vysuší se 2 h při $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, uzavřená nádoba se nechá zchladit v exsikátoru a opět se zváží.

$$f_{suš} = \frac{a}{a_o}$$

$f_{suš}$ sušina,

a hmotnost vysušeného vzorku (g),

a_o navážka předupraveného vzorku (g).

Extrakce

Podle typu matrice se zvolí optimální způsob extrakce.

Tlaková extrakce rozpouštědlem (PLE) pomocí ASE 100: Do extrakční nerezové cely o objemu 11 ml se nasype 2 g síranu sodného (19), 1 g vzorku, doplní se pískem (22) a křemelinou (23). Uzavřená cely se umístí do přístroje ASE 100 a extrahuje se DCM (2) podle předvoleného programu, tj. $T = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$; čas (statická fáze/profouknutí) = 300 s/60 s, proplach = 50 %, 3 extrakční cykly. Extrakt se převede pomocí isooktanu (6) do 100ml baňky, obohatí se směsným izotopově značeným vnitřním standardem (25.8) (10 ng jednotlivých ^{13}C -BDE/1 g vzorku), a zkoncentruje se na rotační vakuové odparce při $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ na ~ 1 ml extraktu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Soxhletova extrakce horkým rozpouštědlem pomocí Büchi B-811: Do skleněné patrony s fritou se vloží (1 – 5) g vzorku zabalené v buničině. Vzorek se obohatí přidavkem směsného izotopově značeného vnitřního standardu (25.8) (10 ng jednotlivých ^{13}C -BDE/1 g vzorku). Extrakční kelímek se naplní (80 – 100) ml DCM (2) a vloží se do něj varný kamínek. Doba extrakce je 60 min (30 min horký Soxhlet a 30 min promytí patrony). Poté se extrakt zkoncentruje na ~ 5 ml, převede se pasteurkou pomocí isooktanu (6) do 100ml baňky a zkoncentruje na rotační vakuové odparce při 40 °C na ~ 1 ml extraktu.

Čištění extraktu

Podle typu matrice se zvolí optimální kombinace čisticích kroků.

Třepání s koncentrovanou kyselinou sírovou: Podíl extraktu odpovídající navážce 1 g vzorku se převede Pasteurovou pipetou do 15ml zábrusové odměrné zkumavky a objem extraktu se upraví hexanem (1) na 5 ml. K podílu se přidá 10 ml koncentrované H_2SO_4 (7) a zkumavka se uzavře zábrusovou zátkou. Obsah se promíchá pomalým převrácením obsahu zkumavky do odbarvení hexanové vrstvy a zkumavka se odplyňuje. Zkumavka bez zábrusové zátky se odstředí 3 min při 2000 ot/min. Přечиštěný extrakt se odebere do 20ml vialky. Do zkumavky se přidá 1 ml hexanu, protřepe se, odstředí a hexanová vrstva se přidá k hlavnímu podílu. Spojené hexanové podíly se zkoncentrují od foukáním pod dusíkem (10) na (1 – 2) ml pro následné dočištění.

Odstranění sirných sloučenin pomocí práškové mědi: K surovému extraktu nebo přечиštěnému extraktu třepáním s koncentrovanou H_2SO_4 (7) se přidá 0,1 g práškové mědi (20). Směs se na 10 min vloží do ultrazvukové lázně a poté se nechá reagovat (30 – 60) min. Černá-li měď velmi rychle, přidá se další podíl práškové mědi (20). Ošetřený extrakt se nanese na silikagelovou minikolonku.

Dočištění pomocí minikolonky s modifikovaných kyselým silikagelem: Do krátké skleněné kolonky se vloží smotek křemenné vaty (21) a naplní se 1 g bezvodého síranu sodného (19) a 3 g kyselého silikagelu (12). Na čerstvě připravenou kolonku se nanese přечиštěný extrakt a k eluci se použije 10 ml hexanu (1), které se jímají do 50ml srdcovky. Eluát se odpaří na rotační vakuové odparce na objem ~ 1 ml, převede se do vialky, pod proudem dusíku se zkoncentruje na objem 80 μl , převede se do insertu s nástřikovým izotopově značeným směsným standardem (10 ng jednotlivých ^{13}C -BDE/1 g vzorku) (25.9).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Adsorpční chromatografie na kombinované silikagelové koloně: Na dno skleněné kolony se umístí smotek křemenné vaty (21) a dále 2,5 g stříbrného silikagelu (16), 1 g aktivovaného silikagelu (13), 2,5 g zásaditého silikagelu (15), 1 g aktivovaného silikagelu (13), 5 g kyselého silikagelu (14), 1 g aktivovaného silikagelu (13), 5 g síranu sodného (19). Kolona se promyje 15 ml hexanu (1). Po promytí se na lože nanese ~ 2 ml surového extraktu a zásobní vialka po extraktu se 2 × vypláchne hexanem (1), který se nanese postupně na kolonu. Eluce se provede 25 ml hexanu (1) a 30 ml 20% DCM v hexanu (4). Do eluátu se přidá 1 ml isooktanu a zkoncentruje se na rotační vakuové odparce při 40 °C na ~ 1 ml extraktu, který se dočistí na alumině nebo se zkoncentruje odfoukáním pod dusíkem na 180 µl a převede do insertu s nástřikovým izotopově značeným směsným standardem (10 ng jednotlivých ¹³C-BDE/1 g vzorku) (25.9).

Odstranění minerálních olejů pomocí chromatografie na sloupci aluminu: Na dno skleněné kolony se umístí smotek silanizované vaty a dále 1 g síranu sodného (19), 5 g zásadité aluminu (18), 1 g síranu sodného (19). Kolona se promyje 10 ml hexanu (1). Po promytí se na lože nanese ~ 1 ml přečištěného extraktu a zásobní vialka po extraktu se 2 × vypláchne hexanem (1), který se nanese postupně na kolonu. Eluce se provede 30 ml hexanu (5) pro odstranění minerálních olejů (frakce 1 se nesbírá) a 30 ml 50% DCM v hexanu (1) (frakce 2 obsahuje PBDE). Do frakce 2 se přidá 1 ml isooktanu (6), zkoncentruje se na rotační vakuové odparce při 40 °C na ~ 1 ml extraktu, převede se do minivialky, dále se zkoncentruje odfoukáním pod dusíkem na 180 µl a převede se do insertu s nástřikovým izotopově značeným směsným standardem (10 ng jednotlivých ¹³C-BDE/1 g vzorku) (25.9).

Adsorpční chromatografie na kombinované silikagelové minikoloně: Na dno skleněné kolony se umístí smotek křemenné vaty (21) a dále 1 g stříbrného silikagelu (16), 0,4 g aktivovaného silikagelu (13), 1 g zásaditého silikagelu (15), 0,4 g aktivovaného silikagelu (13), 2 g kyselého silikagelu (14), 0,4 g aktivovaného silikagelu (13), 2 g síranu sodného (19). Kolona se promyje 8 ml hexanu (1). Po promytí se na lože nanese ~ 1 ml surového extraktu a zásobní vialka po extraktu se 2 × vypláchne hexanem (1), který se nanese postupně na kolonu. Eluce se provede 10 ml hexanu (1) a 15 ml 50% DCM v hexanu (3). Do eluátu se přidá 1 ml isooktanu a zkoncentruje se na rotační vakuové odparce při 40 °C na ~ 1 ml extraktu, který se převede do minivialky a zkoncentruje se odfoukáním pod dusíkem na 180 µl a převede do insertu s nástřikovým izotopově značeným směsným standardem (10 ng jednotlivých ¹³C-BDE/1 g vzorku) (25.9).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

GC-MS stanovení

Před analýzou se zkontroluje aktuální stav systému, který musí vykazovat typické odezvy na ionty vody, vzduchu (m/z 18, 28, 32) a kalibračního plynu. Dále se prověří citlivost GC-MS systému analýzou nejnižšího kalibračního bodu. Pokud je poměr signál k šumu u všech sledovaných kongenerů vyšší než 10 provede se kalibrace pro všechny sledované kongenery PBDE. Následně se do sekvence řadí reálné vzorky. Nastavení přístroje je uvedeno v tabulkách č. 4, 5 a 6. Při měření v MS/MS módu se pro každý analyt snímají dva produktové ionty.

Tabulka 4. Příklad parametrů pro GC-MS/MS stanovení.

Nastavení GC	
Teplota injektoru	300 °C
Teplota iontového zdroje/transferline	220 °C/300 °C
Teplotní program	90 °C (1 min); 12,5 °C/min – 300 °C (7 min); 70 °C/min – 90°C
Uzavření splitování; nástrik	1 min, 2 µl
Nosný plyn	Helium, průtok 1,2 ml/min
Nastavení MSD	
Ionizace nárazem (EI) při 70 eV, měření v SIM nebo MRM módu	
2 produktové ionty pro každou stanovovaný kongener	

Tabulka 5. Příklad MRM pro GC-MS/MS stanovení nativních PBDE.

BDE	Prekursor 1 M ⁻	Produkt 1 [M-2Br] ⁻	Kolizní E1 (V)	Prekursor 2 [M-2Br] ⁻	Produkt 2 [M-CO3Br] ⁻	Kolizní E2 (V)
3 Br	406	246	– 15	248	139	– 25
4 Br	486	326	– 15	326	217	– 25
5 Br	564	404	– 18	404	297	– 28
6 Br	644	484	– 22	484	375	– 35
7 Br	722	562	– 25	562	455	– 33

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	10
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Tabulka 6. Příklad MRM pro GC-MS/MS stanovení značených PBDE.

BDE	Prekursor 1 M ⁺	Produkt 1 [M-2Br] ⁺	Kolizní E1 (V)	Prekursor 2 [M-2Br] ⁺	Produkt 2 [M-CO3Br] ⁺	Kolizní E2 (V)
3 Br	418	258	– 15	260	150	– 28
4 Br	498	338	– 15	338	228	– 28
5 Br	576	416	– 20	416	308	– 28
6 Br	656	496	– 22	496	386	– 30
7 Br	734	574	– 25	574	466	– 33

6. Zpracování dat

Identifikace: Analyt se považuje za identifikovaný, pokud odchylka retenčního času daného kongeneru v chromatogramu vzorku a kalibračního standardu je nižší než 1 % a pokud poměr diagnostických iontů daného kongeneru ve spektru vzorku je v rozmezí ± 30 % poměru ve spektru kalibračního standardu.

Kvantifikace: Kvantifikace se provede pomocí kalibrační přímky metodou izotopového ředění, případně metodou vnitřního standardu. Kalibrační závislosti musí vykazovat minimální charakteristiky ($RSD < 20$ %, $R^2 > 0,995$).

Stanovení výtěžnosti: Výtěžnost vnitřních standardů v každém vzorku se stanoví porovnáním hodnot vnitřního a nástřikového standardu získaných při kalibraci s těmito hodnotami získanými z extraktu vzorků. Vnitřní standardy by měly vykazovat výtěžnost minimálně 50 %.

Uvádění výsledků: V případě výsledku pod mezí stanovitelnosti se uvede <LOQ (mez stanovitelnosti). Nastavená mez stanovitelnosti pro zápis výsledků je 0,1 µg/kg pro všechny stanovené kongenery. Pro hodnoty nad mezí stanovitelnosti se výsledek zaokrouhlí podle tabulky č.7.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	11
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30691.1 Stanovení polybromovaných difenyletherů (PBDE) metodou GC-MS/MS	Revize	0

Tabulka 7. Zaokrouhlování a udávání výsledků.

Hladina reziduí (µg/kg)	Zápis výsledku
< 10	2 platné číslice
> 10	3 platné číslice

Literatura

1. ČSN EN ISO 22032 Jakost vody – Stanovení vybraných bromovaných difenyletherů v sedimentech a čistírenských kalech – Metoda plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie po extrakci.
2. ČSN ISO 11465 Kvalita půdy – Stanovení hmotnostního podílu sušiny a hmotnostní vlhkosti půdy – Gravimetrická metoda.
3. Dionex Application Note 351: Rapid determination of PBDE in biosolids and waste samples using ASE.
4. Kosubová, P., Huhtala, S., Tieffová, P., Markkanen, A., Niedobová, E., Kozová, B.: Optimalizace stanovení PBDE s využitím GC/MS, Bulletin NRL 2010, číslo 2/2010, ročník XIV, str. 14 – 30, ISSN 1801 – 9196.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30700.1 Stanovení adsorbovatelných a celkových organicky vázaných halogenů (AOX a TOX)	Revize	0

STANOVENÍ ADSORBOVATELNÝCH A CELKOVÝCH ORGANICKY VÁZANÝCH HALOGENŮ (AOX A TOX)

1. Rozsah použití

Postup je vhodný pro přímé stanovení organicky vázaných halogenů adsorbujících se na aktivní uhlí případně pro stanovení celkového obsahu organicky vázaných halogenů. Stanovení je určeno pro kaly, sedimenty a příbuzné materiály o obsahu stanovované složky nad 1 mg/kg.

2. Princip

Organicky vázané halogeny se v suspenzi vzorku ve vodném roztoku dusičnanu sodného adsorbují na aktivní uhlí. Vzorek a aktivní uhlí se oddělí filtrací polykarbonátovým filtrem. Anorganicky vázané halogeny se odstraní promytím kyselým roztokem dusičnanu sodného. Filtrační koláč se spolu s filtrem spálí v reakční zóně přístroje a vzniklé halogenovodíky se stanoví coulometrickou titrací. Výsledky se udávají jako obsah organicky vázaného chloru. Při stanovení TOX se nepřidává aktivní uhlí.

Poznámky

1. Jod ruší mikrocoulometrické stanovení. Vzorky s vyšším obsahem jodu se analyzují např. iontovou chromatografií.
2. Přítomnost špatně rozpustných anorganických halogenidů může způsobit významné nadhodnocení výsledků, protože nedojde k odstranění těchto halogenidů při promývání vzorku.
3. Vzorky obsahující olej nebo tuk mohou dávat chybné výsledky.
4. Vyšší obsah vypuditelných organicky vázaných halogenů (POX) může dávat nižší výsledek. V tomto případě je třeba stanovit nejprve parametr POX a ten potom přičíst ke stanovenému AOX.
5. Tato metodika vychází z normy DIN 38 414 (S18) upravené pro použití přístroje LTX 2000.

3. Přístroje a pomůcky

1. Analyzátor organicky vázaných halogenů (LTX - 2000 nebo obdobný).
2. Filtrační zařízení pro polykarbonátové filtry o průměru 25 mm, např. Schleicher-Schüll.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30700.1 Stanovení adsorbovatelných a celkových organicky vázaných halogenů (AOX a TOX)	Revize	0

3. Horizontální třepačka s úchytkami pro upevnění Erlenmeyerových baněk 100 ml.
4. Analytické váhy.
5. Filtry polykarbonátové pro AOX, průměr 25 mm.

4. Chemikálie

1. Aktivní uhlí pro AOX (Euroglass nebo ekvivalentní). Slepý pokus max. 15 µg Cl/g. Ze zásobní nádoby se vždy odebere do malé pracovní nádoby množství odpovídající přibližné denní spotřebě. Kontakt aktivního uhlí s ovzduším laboratoře se musí omezit na minimum.
2. Demineralizovaná voda maximální dostupné čistoty pro přípravu všech roztoků. Voda se uchovává nad aktivním uhlím.
3. Kyslík 4.8. Čistota se ověří vždy při výměně tlakové nádoby stanovením úrovně signálu přístroje bez zavedení vzorku.
4. Kyselina dusičná, HNO₃, zředěná, c(HNO₃) = 10 mol/l.
Příprava: 697 ml koncentrované kyseliny dusičné (ρ = 1,30 g/cm³) se opatrně doplní na 1000 ml demineralizovanou vodou (2).
5. Dusičnan sodný, NaNO₃, základní roztok.
Příprava: 17,0 g NaNO₃ se rozpustí asi ve 150 ml demineralizované vody (2), k roztoku se přidá 1 ml koncentrované kyseliny dusičné 65% nebo 1,4 ml zředěné kyseliny dusičné (4) a objem se upraví na 1000 ml.
6. Dusičnan sodný, NaNO₃, promývací roztok.
Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se pipetuje 50 ml základního roztoku dusičnanu sodného (5) a baňka se doplní demineralizovanou vodou (2) po značku.
7. p-chlorfenol, základní roztok.
Příprava: 72,5 mg C₆H₅OCl se rozpustí ve vodě (2) a objem se doplní vodou na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku obsahuje 200 µg organicky vázaného chloru. Roztok je stálý nejvýše 2 týdny při uchování v chladu a temnu.
8. p-chlorfenol, pracovní roztok.
Příprava: 5 ml základního roztoku p-chlorfenolu (7) se v 1000ml odměrné baňce doplní vodou (2) po značku. 1 ml roztoku obsahuje 1 µg organicky vázaného chloru. Roztok se připravuje vždy čerstvý.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30700.1 Stanovení adsorbovatelných a celkových organicky vázaných halogenů (AOX a TOX)	Revize	0

9. p-chlorfenol, standardní roztoky.

Příprava: Do 100ml odměrných baněk se pipetuje (0; 1; 5; 10; 20; 25) ml pracovního roztoku p-chlorfenolu (8) a baňky se doplní vodou (2) po značku. Tyto standardní roztoky se používají především při stanovení AOX ve vodách. Pro stanovení AOX v pevných vzorcích se mohou použít pro ověření účinnosti adsorpčního procesu. Roztoky se připravují vždy čerstvé.

10. Chloristan sodný, NaClO_4 , roztok pro přípravu elektrolytu.

Příprava: 10 g monohydrátu chloristanu sodného $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v asi 50 ml vody (2) a objem roztoku se upraví touto vodou na 100 ml. Použitý chloristan sodný musí mít velmi nízký obsah chloridů a chlorečnanů.

11. Kyselina octová, p.a., CH_3COOH pro přípravu elektrolytu, s minimálním obsahem chloridů, koncentrace 99 %.

12. Elektrolyt.

Příprava: 11 ml roztoku chloristanu sodného (10) a 19 ml kyseliny octové (11) se dobře promíchá a nalije do coulometrické nádoby přístroje.

13. Kyselina sírová, H_2SO_4 , koncentrovaná, jako náplň absorberu přístroje pro zachycení vodní páry.

14. Základní standardní roztok chloridů $c(\text{Cl}^-) = 1000 \text{ mg/l}$.

Příprava: Asi 1 g chloridu sodného se žihá při teplotě asi 500°C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exsikátoru se naváží přesně 0,4121 g chloridu sodného. Navážka se rozpustí v asi 50 ml demineralizované vody a roztok se kvantitativně převede do 250ml odměrné baňky, která se doplní po značku demineralizovanou vodou. Roztok se uchovává v chladu a temnu nejdéle 2 měsíce. Může se použít komerčně dodávaný roztok chloridů o této koncentraci.

5. Pracovní postup

Podle očekávaného obsahu organicky vázaných halogenů se do 100ml Erlenmeyerovy baňky se skleněným zábrusovým uzávěrem naváží (10 – 100) mg vzorku. Ke vzorku se přidá 10 ml základního roztoku dusičnanu sodného (5), 20 mg aktivního uhlí (1) a v uzavřených baňkách se 75 min extrahuje na horizontální třepačce při amplitudě 4 cm a frekvenci 180 kyvů/min. Obsah baňky se filtruje přes polykarbonátový filtr za pomoci filtračního zařízení. Filtr se spolu s kvantitativně převedeným vzorkem a aktivním uhlím promývá postupně promývacím roztokem dusičnanu sodného (6) (celkový objem 50 ml) až do odstranění

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30700.1 Stanovení adsorbovatelných a celkových organicky vázaných halogenů (AOX a TOX)	Revize	0

chloridů. Potom se filtr i s obsahem umístí na křemennou lodičku analyzátoru a stanoví se obsah halogenů. Slepý pokus se zpracovává obdobným způsobem. Zpoždění titrace je 240 s po zpoždění signalizace 60 s, doběh záznamu 15 s.

Před vlastním měřením se přístroje několikrát otestuje:

Ověření funkce coulometru. Přímo do coulometrické nádoby se dává (10 – 20) µl základního standardního roztoku chloridů (14) a provede se stanovení s časy nastavenými výrobcem přístroje (15, 30, 20) s. 1 µl standardního roztoku odpovídá 1 µg chloru (Cl⁻).

Ověření funkce přístroje. Na asi 20 mg aktivního uhlí v křemenné lodičce přístroje se dává (20 – 50) µl základního roztoku p-chlorfenolu (7) a provede se stanovení testu výtěžnosti.

10 µl roztoku (7) odpovídá 2 µg organicky vázaného chloru. Časy pro jednotlivé kroky stanovení se volí obdobně jako při stanovení reálných vzorků.

Kontrola čistoty aktivního uhlí. Především při použití nového balení nebo při podezření na kontaminaci. Tento test následuje zpravidla při hledání příčin zvýšení slepých pokusů. 20 mg aktivního uhlí se naváží přímo do křemenné lodičky přístroje a analyzuje se obdobně jako vzorky. Výsledek má být pod 15 µg Cl/1 g aktivního uhlí.

Kontrola čistoty kyslíku. Probíhá za obdobných okolností jako kontrola aktivního uhlí. Provede se několik měřících cyklů bez vkládání vzorku do křemenné lodičky.

Kontrola kvality polykarbonátového filtru. Filtr se spálí za podmínek shodných se stanovením vzorků.

Poznámky

- Optimální navážka vzorku o neznámém obsahu je 50 mg. Navážka nad 75 mg se zpravidla obtížně kvantitativně převádí na filtr. Dochází k ulpívání vzorku na okraji horní části filtračního zařízení. Navážka pod 20 mg je sice podle citované normy přípustná (nejnižší navážka 10 mg), ale chyba stanovení je již příliš velká. Navážka pod 20 mg se může použít pouze pro stanovení vysoce kontaminovaných vzorků, u kterých by jinak byl překročen maximální měřicí rozsah přístroje 50 µg chloru.
- V průběhu adsorpce na třepače je vhodné třepání přerušit vždy asi po 15 min a vzorek s aktivním uhlím, který ulpí na stěnách nádoby, převést krouživým pohybem zpět do suspenze.
- Pro promývání je velmi vhodné použít pipetu pro vícenásobné dávkování o objemu 12,5 ml nastaveným na dávku 2,5 ml, která umožní postupné promývání po malých dávkách a zajistí konstantní objem promývacího roztoku pro všechna stanovení.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30700.1 Stanovení adsorbovatelných a celkových organicky vázaných halogenů (AOX a TOX)	Revize	0

9. *Při filtraci se odsává tak, aby množství vzduchu prosátého filtrem bylo co nejnižší. Důvodem je kontaminace vzorku ovzduším laboratoře.*
10. *Vlhký filtr se spolu s filtračním koláčem opatrně zabalí tak, aby nedošlo ke ztrátám vytékáním suspenze. Filtr se potom umístí do zábrusové váženky, ve které může být uchováván v exsikátoru bez vysoušecí náplně maximálně 2 dny. Po této době dojde zpravidla k vyschnutí a následnému rozbalení filtru a ke ztrátám analyzovaného materiálu.*
11. *Pro ověření kalibrace coulometru se používají pouze ověřené mikropipety. Přesnost dávkování většiny mikropipet je v rozmezí (0,5 – 2) % rel.*
12. *TOX se stanoví stejným postupem s vynecháním aktivního uhlí. Pro vzorky upravené podle kap 1.4 JPP AP I a případně vysušené při 105 °C jsou hodnoty AOX a TOX zpravidla shodné.*

6. Výpočet

Výpočet provede přístroj automaticky. Výsledky se vyjadřují na dvě platné číslice jako chlor v mg/kg.

Literatura

1. EN 16166 Sludge, treated biowaste and soil – Determination of adsorbable organically bound halogens (AOX), 2011.
2. DIN 38 414 (Gruppe S) Schlamm und Sedimente, Teil 18.
3. DIN 38 409 (Gruppe H) Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen, Teil 14.
4. J. Zbírál: Stanovení AOX v kalech, půdách a odpadech na přístroji LTX-2000. Vývojový úkol 3/95, ÚKZÚZ Brno, 1995.
5. H.J. Hoffmann, G. Buehler-Neiens, D. Laschka: AOX in Sludges and Sediments – Method for Determination and Results. Vom Wasser, 71, pp.125–134, 1988.
6. ČSN EN ISO 9562 Jakost vod – Stanovení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30710.1 Stanovení extrahovatelných organicky vázaných halogenů (EOX)	Revize	0

STANOVENÍ EXTRAHOVATELNÝCH ORGANICKY VÁZANÝCH HALOGENŮ (EOX)

1. Rozsah použití

Postup je použitelný pro stanovení obsahu netěkavých organohalogenových sloučenin v půdách a kalech.

2. Princip

Netěkavé organicky vázané halogeny se extrahují hexanem. Podíl extraktu se dávkuje do přístroje, kde po odpaření v proudu inertního plynu dojde ke spálení v proudu kyslíku na příslušné halogenovodíky, které se stanoví coulometricky.

3. Přístroje a pomůcky

1. Analyzátor organicky vázaných halogenů, např. LTX - 2000 nebo obdobný.
2. Dávkovací zařízení pro EOX: lineární pumpa s konstantní rychlostí posuvu 10 mm/min, plynotěsná injekční stříkačka objemu 250 µl, nerezová dávkovací kolona se silikonovým septem.
3. Zařízení pro extrakci.

4. Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, voda deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná, pokud není uvedeno jinak.

1. n-Hexan, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$.
2. Síran sodný, bezvodý, Na_2SO_4 .
3. Aldrin, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{Cl}_6$ (např. Fluka).
4. Roztok aldrinu, obsahující 200mg/l Cl.
Příprava: 17,2 mg aldrinu (3) se rozpustí v 50 ml acetonu (6).
5. Roztok aldrinu, obsahující 20 mg/l Cl.
Příprava: 10 ml roztoku aldrinu (4) se pipetuje do 100ml odměrné baňky a doplní se n-hexanem po značku.
6. Aceton.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30710.1 Stanovení extrahovatelných organicky vázaných halogenů (EOX)	Revize	0

7. Chloristan sodný, NaClO_4 , roztok pro přípravu elektrolytu.

Příprava: 10 g monohydrátu chloristanu sodného $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se rozpustí v asi 50 ml vody a objem roztoku se upraví vodou na 100 ml. Použitý chloristan sodný musí mít velmi nízký obsah chloridů a chlorečnanů.

8. Kyselina octová, CH_3COOH , p.a. s minimálním obsahem chloridů, koncentrace 99 % pro přípravu elektrolytu.

9. Elektrolyt.

Příprava: 11 ml roztoku chloristanu sodného (7) a 19 ml kyseliny octové (8) se dobře promíchá a nalije do coulometrické nádoby přístroje.

10. Kyselina sírová, H_2SO_4 , koncentrovaná, jako náplň absorberu přístroje pro zachycení vodní páry.

11. Základní standardní roztok chloridů $c(\text{Cl}^-) = 1000 \text{ mg/l}$.

Příprava: Asi 1 g chloridu sodného se žihá při teplotě asi 500°C do konstantní hmotnosti. Po vychladnutí v exsikátoru se naváží přesně 0,4121 g chloridu sodného. Navážka se rozpustí v asi 50 ml vody a roztok se kvantitativně převede do 250ml odměrné baňky, která se doplní po značku vodou. Roztok se uchovává v chladu a temnu nejdéle 2 měsíce. Může se použít komerčně dodávaný certifikovaný roztok chloridů o této koncentraci.

5. Pracovní postup

Před vlastní extrakcí vzorku se ve zvláštním podílu vzorku stanoví obsah sušiny. Vzorek kalů se suší před extrakcí 3 dny při pokojové teplotě. Vzorky se nesmějí upravovat mletím ani sušením v sušárně.

Extrakce: 10 g vzorku se promíchá s 10 g síranu sodného (2), vysušeného 3 h při 500°C . Vzorek se vloží do patrony, která se umístí do extrakčního nástavce přístroje. Do extrakčních kelímků se nalije 60 ml hexanu. Extrakce probíhá 2 h při 100°C . Po skončení extrakce se extrakt nechá zchladnout na laboratorní teplotu. Poté se k extraktu přidá 1 g síranu sodného (2) a po promíchání se extrakt ihned filtruje do 50ml odměrných baněk přes křemennou vatu. Slepý pokus se stanoví identicky jako vzorek, ale do patrony se umístí pouze 10 g síranu sodného (2). Extrakce a další postup jsou stejné jako u analýzy vzorků.

Před vlastním měřením je třeba provést několik testů přístroje:

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30710.1 Stanovení extrahovatelných organicky vázaných halogenů (EOX)	Revize	0

Ověření funkce coulometru. Přímo do coulometrické nádoby se dávkuje (10 – 20) µl základního standardního roztoku chloridů (11) a provede se stanovení s časy nastavenými výrobcem přístroje (15, 30, 20) s. 1 µl standardního roztoku odpovídá 1 µg chloru (Cl⁻).

Test výtěžnosti: K 10 g bezvodého síranu sodného (2), umístěného do extrakčního nástavce přístroje, se odměří 2 ml roztoku aldrinu v acetonu (4) provede se extrakce, spálení extraktu a coulometrické stanovení chloridu tak jako se vzorkem. Vypočte se výtěžnost stanovení aldrinu. Spálení extraktu a coulometrické stanovení chloridů se kontroluje spalováním zředěného roztoku aldrinu (5), který se dávkuje do spalovací trubice stejným způsobem jako vzorky.

Měření: 250 µl extraktu se injektuje do dávkovacího prostoru coulometru rychlostí 10 mm/min. Sloučeniny se v proudu argonu přivádějí do spalovací trubice coulometru a v kyslíkové atmosféře při 850 °C se spálí na reakční produkty, které se přivádějí do titrační cely coulometru přes dehydratační kolonu.

Poznámky

1. *Vzorky s obsahem oleje nebo tuku mohou dávat chybné výsledky.*
2. *Pro ověření kalibrace coulometru je možné použít pouze ověřené mikropipety. Přesnost dávkování většiny mikropipet je (0,5 – 2) % rel.*

6. Výpočet

Výpočet provádí přístroj automaticky. Výsledky se vyjadřují na dvě platné číslice jako chlor v mg/kg.

Literatura

1. E. Urbánková: Stanovení obsahu organicky vázaného chloru (EOX). Bulletin LO, 2002/3, ÚKZÚZ Brno, 2002
2. J.T. Martin, Y. Takahashi: Total, extractable and leachable organic halides in soil and sediments. Chemical and biological characterization of sludges, sediments, dredge spoils, and drilling muds. 176–183, 1998.
3. D. Kolčava: Stanovení obsahu netěkavých, hexany extrahovatelných

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30710.1 Stanovení extrahovatelných organicky vázaných halogenů (EOX)	Revize	0

organohalogenových sloučenin (EOX) v pevných vzorcích. Labtech, ECH 09, 1996.

4. J. Vuik, W. van Gils: Speeding up the determination of TPH and EOX in soil with Soxtec Avanti. The FOSS Group journal of technology for food, dairy and agricultural analyses, Vol. 23, No 2, 1999.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30720.1 Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ -C ₄₀ metodou GC/FID	Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU UHLOVODÍKŮ C₁₀ – C₄₀ METODOU GC/FID

1. Rozsah použití

Postup je použitelný pro vzorky půd a příbuzných materiálů. Je určen pro zpracování vzorků bez předchozího sušení, skladovaných při teplotě kolem 4 °C v temnu po dobu maximálně jednoho týdne (postup 30011.1). Postup je použitelný i pro půdy upravené podle postupu 30013.1. Postup stanoví obsah všech uhlovodíků s body varu od 175 °C do 525 °C.

2. Princip

Organické látky přítomné ve vzorku půdy nebo sedimentu se extrahují do směsi acetonu a n-hexanu. Polární koextrakty se odstraní adsorpcí na florisilu. Obsah uhlovodíků se stanoví metodou plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem. Kvantifikuje se celková plocha píků mezi n-dekanem a n-tetrakontanem, relativně vztažená ke standardním vzorkům, obsahujícím shodné množství dvou různých typů minerálního oleje.

Poznámky

1. *Metoda stanovuje celkový obsah n-alkanů od C₁₀H₂₂ do C₄₀H₈₂, izoalkanů, cykloalkanů, alkylbenzenů, alkylnaftalenů a polycyklických aromatických uhlovodíků, pokud se při čištění neabsorbují na koloně s Florisilem.*
2. *Metoda stanovuje v daném rozsahu uhlovodíků C₁₀ – C₄₀ užší spektrum látek než metoda infračervené spektrometrie používaná pro stanovení parametru NEL (nepolární extrahovatelné látky).*
3. *Pro extrakci se může použít i jiné nepolární rozpouštědlo (např. petroleter, cyklohexan, n-heptan), ale tato změna se musí ověřit a validovat.*
4. *Stanovení mohou rušit nepolární a málo polární sloučeniny (např. halogenované uhlovodíky) a vysoký obsah polárních koextraktů.*

3. Přístroje a pomůcky

1. Plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem.
2. Kapilární chromatografická kolona o délce (10 – 25) m s vnitřním průměrem (0,10 – 0,32) mm s nepolární chemicky vázanou stacionární fází s potlačeným unikem fáze (low bleeding) a tloušťkou filmu stacionární fáze (0,1 – 1,0) μm.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30720.1 Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ -C ₄₀ metodou GC/FID	Revize	0

Kolona musí umožnit separaci modelového standardního roztoku.

3. Horizontální třepačka, alespoň 120 kyvů/min. Může se nahradit ultrazvukovou vodní lázní.
4. Laboratorní odstředivka, min 1500 g a skleněné centrifugační kyvety o objemu asi 80 ml s PTFE uzávěrem.
5. Běžné laboratorní sklo, které se před použitím žíhá nebo se propláchne acetonem (1) a vysuší. Skleněná extrakční nádobka, skleněná zkumavka nebo baňka, dělicí nálevka, skleněná kolona k čištění extraktu, atd..

4. Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

1. Aceton.
2. n-Hexan.
3. Síran sodný bezvodý, Na₂SO₄, žíhaný 2 h při 550 °C.
4. Florisil, velikost částic 150 – 250 µm (60 – 100 mesh).

Příprava: Před použitím se aktivuje 16 h při 140 °C. Uchovává se v exsikátoru.

5. Stearylsteárat C₃₆H₇₂O₂, testovací roztok.

Příprava: Asi 100 mg stearylesteru kyseliny stearové se rozpustí ve 100 ml n-hexanu (2).

6. Interní standardní roztok a standardní roztok pro stanovení integračního rozmezí.

Příprava: (30 ± 0,1) mg n-tetrakontanu se naváží do 1000ml odměrné baňky a rozpustí se v dostatečném objemu n-heptanu (2), pak se přidá 30 µl n-dekanu (tj. asi 21 mg), obsah baňky se dobře promíchá a doplní po značku n-hexanem (2). Tetrakontan je jen omezeně rozpustný v n-hexanu. Rozpouštění se může urychlit mírným zahřátím a sonikací v ultrazvukové vodní lázni. Tento roztok se používá i pro ředění kalibračních standardních roztoků. Roztok se skladuje při laboratorní teplotě.

7. Kalibrační standardní roztoky minerálních olejů.

Příprava: Shodné hmotnostní množství dvou rozdílných typů minerálních olejů

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30720.1 Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ -C ₄₀ metodou GC/FID	Revize	0

se rozpustí v interním standardním roztoku (6). Výsledný obsah uhlovodíků je asi 8 g/l a obsah C₄₀ asi 30 mg/l. Další kalibrační roztoky se připraví ředěním tohoto roztoku roztokem (6). První typ by měl dát chromatogram s dobře rozlišenými píky (motorová nafta), druhý typ by měl obsahovat uhlovodíky s vyšším rozsahem bodů varu a v koncové části může vykazovat nerozlišené píky (vhodný je mazací olej bez aditiv).

8. Standardní roztok pro kontrolu přístroje a kolony.

Příprava: Shodné hmotnostní množství n-alkanů (50 mg každého n-alkanu) se sudými počty atomů uhlíku v molekule se rozpustí v n-hexanu. Roztok se používá pro ověření dělicí schopnosti kolony a odezvy detektoru. Roztok se uchovává při laboratorní teplotě.

5. Pracovní postup

Příprava vzorku

Postup A

Do skleněné extrakční nádoby se odváží 20 g homogenizovaného vzorku s přesností 0,1 g a přidá se 40 ml ± 1 ml acetonu (1). Po krátkém ručním protřepání se přidá 20 ml ± 0,1 ml roztoku standardu (6). Vzorek se extrahuje po dobu 1 h třepáním nebo ultrazvukem. Po usazení pevného materiálu se převede co největší objem supernatantu do dělicí nálevky. Aceton se odstraní promytím organické fáze dvakrát 100 ml deionizované vody. Organická vrstva se odebere do skleněné zkumavky. Aby se netvořila emulze, přidá se dostatečné množství síranu sodného.

Objem 10 ml extraktu se převede na čistící kolonu s florisilem. Na dno kolony se umístí skelná vata a naplní se 2 g florisilu (4) a následně 2 g síranu sodného (3). Kolona se připravuje bezprostředně před použitím a předem se neproplachuje organickým rozpouštědlem. Všechny eluáty se jímá. Alikvotní podíl vyčištěného extraktu se převede do vialky a analyzuje se plynovou chromatografií.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30720.1 Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ -C ₄₀ metodou GC/FID	Revize	0

Postup B

Do centrifugační kyvety se naváží přesně 20 g homogenizovaného vzorku, přidá se 20 ml acetonu (1) a po krátkém ručním protřepání se přidá 10 ml interního standardního roztoku (6). Po 30 min extrakce na horizontální třepačce (resp. sonikaci) se přidá asi 30 ml destilované vody, protřepe se po dobu 1 min a odstředí tak, aby došlo k oddělení fází. Organická fáze se převede pipetou do další centrifugační kyvety, doplní se vodou a protřepe po dobu 1 min. Organická fáze se opět převede do uzavíratelné 25ml zkumavky, přidá se (0,25 – 0,50) g bezvodého síranu sodného (3) a po krátkém protřepání (5 s – 10 s) se přidají 3 g florisilu (4) a třepe se 10 min. Po usazení se část extraktu převede do vialky pro chromatografické stanovení.

Poznámky

5. *Pokud je zjevné, že přechištění nebylo dostatečné, (např. u vzorků s vysokým obsahem organické hmoty), čistící krok se opakuje.*

Stanovení plynovou chromatografií

Test účinnosti chromatografického systému

Pro test se použije standardní roztok (8) pro optimalizaci nastavení přístroje. Všechny n-alkany musejí být rozlišené až k základní linii a relativní odezva n-tetrakontanu (C₄₀) vzhledem k odezvě n-eikosanu (C₂₀) musí být alespoň 0,8.

Kalibrace

Přístroj se kalibruje za pomoci kalibračních roztoků připravených ředěním roztoků (7). Pro konstrukci kalibrační závislosti se použije nejméně 5 koncentračních úrovní v celém pracovním rozsahu. Signály se korigují na signál úniku stacionární fáze zjištěný po nástřiku n-hexanu. Systém se rekalibruje se v každé serii vzorků nebo se ověří platnost kalibrace analýzou standardu o koncentraci odpovídající střední oblasti kalibračního rozsahu. Pokud je výsledek v rozsahu $\pm 10\%$ ověřované koncentrace, považuje se kalibrační funkce za platnou. V opačném případě se systém kalibruje v celém pracovním rozsahu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30720.1 Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ -C ₄₀ metodou GC/FID	Revize	0

Stanovení

Analyzuje se slepý pokus (celý postup bez přídavku půdy), n-hexan pro korekci úniku stacionární fáze kolony a potom jednotlivé vzorky. Integruje se celková plocha mezi n-dekanem a n-tetrakontanem. Integrace se zahájí na konci píku n-dekanu na úrovni signálu před píkem rozpouštědla. Konec integrace se nastaví těsně před začátek píku n-tetrakontanu na stejnou úroveň signálu.

Kontrola kvality

Pravidelně se do série vzorků zařazuje referenční vzorek (interní referenční materiál) o známém obsahu stanovovaných látek pro vedení regulačního diagramu. Výťažnost by měla být alespoň 70 %.

Poznámky

6. *Přítomnost piků s retenčními časy kratšími než n-dekan ukazuje, že vzorek obsahuje uhlovodíky s nižším bodem varu. Nehorizontální základní linie na konci chromatogramu za signálem n-tetrakontanu nad úrovní signálu pro únik stacionární fáze ukazuje na přítomnost výševroucích uhlovodíků.*

6. Výpočet

$$C = C_S \times f \times (100/d_m) \times (V_h/M)$$

- C obsah minerálního oleje ve vzorku (mg/kg),
C_S obsah minerálního oleje v extraktu zjištěný z kalibrační křivky (mg/l),
V_h objem n-heptanového extraktu (ml),
M navážka vzorku (g),
d_m hmotnost suchého vzorku vyjádřená ve hmotnostních procentech dle ISO 11465,
f zředovací faktor.

Literatura

1. ČSN EN 14039 Charakterizace odpadů – Stanovení obsahu uhlovodíků C₁₀ až C₄₀ plynovou chromatografií, 2005.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30730.1 Stanovení obsahu perfluoroalkylových sloučenin (PFAS) metodou LC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

STANOVENÍ OBSAHU PERFLUOROALKYLOVÝCH SLOUČENIN (PFAS) METODOU LC-MS/MS

1. Rozsah použití

Postup je určen pro analýzu perfluoroalkylových sloučenin v půdách, sedimentech, čistírenských kalech a dalších odpadních materiálech. Obsah PFAS se stanoví kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS).

2. Princip

Vzorek se extrahuje sonikací nebo vytřepáním do methanolu. Zkoncetrovaný extrakt se přečistí aktivním uhlím. Přečištěný extrakt se ředí vodou, odtředí a zfiltruje. Filtrát se analyzuje pomocí LC-MS/MS po ionizaci elektrosprejem v negativním módu v režimu sledování vybraných přechodů (MRM). Stanovení obsahu se provádí metodou izotopového ředění.

3. Přístroje a pomůcky

1. Ultraúčinný kapalinový chromatograf s hmotnostním spektrometrem umožňující měření v MRM módu, vybavený UPLC kolonou, např. ACQUITY UPLC BEH C18, 50 mm × 2,1 mm × 1,7 μm (Waters), ACQUITY BEH C18 VanGuard, 5 mm × 2,1 mm × 1,7 μm (Waters).
2. Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
3. Ultrazvuková lázeň.
4. Horizontální třepačka s rychlostí do 300 kmitů/min.
5. Zařízení pro odpařování proudem inertního plynu.
6. Centrifuga s rozsahem otáček nad 3000 ot/min, pro objemy (1 – 100) ml.
7. Centrifugační zkumavky polypropylenové (PP) se šroubovacím víčkem, 15 ml.
8. Centrifugační zkumavky Eppendorf, 1,5 ml.
9. Vysokorychlostní míchadlo, např. Vortex.
10. Filtrační materiál: stříkačkové filtry nylonové o velikosti pórů 0,2 μm nebo centrifugační filtrační zkumavky s velikostí pórů nylonových filtrů 0,2 μm.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30730.1 Stanovení obsahu perfluoralkylových sloučenin (PFAS) metodou LC-MS/MS	Revize	0

11. Vialky polypropylenové (PP), šroubovací, 0,3 ml; 2 ml.

4. Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, nejlépe kvality pro reziduální analýzu. Rozpouštědla musejí být vhodná pro LC-MS analýzu. Dostačující čistota chemikálií, sorbentů a rozpouštědel se testuje proměřením slepého vzorku.

1. Voda (ultračistá).
2. Methanol, CH₃OH.
3. Octan amonný, CH₃COONH₄, roztok, c(CH₃COONH₄) = 2 mol/l.
Příprava: 1,54 g CH₃COONH₄ se rozpustí v 10 ml směsi (1 : 1) vody (1) a methanolu (2).
4. Hydroxid sodný, NaOH, methanolický roztok, c(NaOH) = 0,2 mol/l.
Příprava: 0,2 g NaOH se rozpustí v 25 ml methanolu (2).
5. Kyselina chlorovodíková, HCl, methanolický roztok, c(HCl) = 2 mol/l.
Příprava: 1,8 ml 37% HCl se rozpustí v 10 ml methanolu (2).
6. Mobilní fáze A: 2 mM vodný roztok CH₃COONH₄.
Příprava: 0,25 ml 2M CH₃COONH₄ (3) se pipetuje do 250ml odměrné baňky a doplní vodou (1) po značku.
7. Mobilní fáze B: 2 mM roztok CH₃COONH₄ v methanolu.
Příprava: 0,25 ml 2M CH₃COONH₄ (3) se pipetuje do 250ml odměrné baňky a doplní methanolem (2) po značku.
8. GCB sorbent (Graphitized Carbon Black), např. Supelclean Envi-Carb (Supelco).
9. Certifikované analytické standardy nativních PFAS. Dodávají se komerčně v roztoku s deklarovanou koncentrací PFAS, např. PFAC-MXA (Wellington Laboratories).
10. Vnitřní isotopově značené standardy (ISTD) pro účely kvantifikace PFAS a kontrolu kvality, např. MPFHxA, MPFOA, MPFDA, MPFOS, M8PFOA, M8PFOS, MPFAC-MXA (Wellington Laboratories).
11. Pracovní a kalibrační roztoky PFAS a ISTD se připraví ředěním standardů PFAS (9) a ISTD (10).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30730.1 Stanovení obsahu perfluoralkylových sloučenin (PFAS) metodou LC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

5. Postup

Příprava vzorku

1 g homogenního vzorku se naváží do 15ml centrifugační zkumavky a obohatí se vnitřním standardem (30 µl ISTD-1, c=200 ng/ml). K obohacenému vzorku se přidá 0,5 ml 0,2M NaOH (4), důkladně se promíchá a nechá se stát 30 min. Poté se ke vzorku přidá 50 µl roztoku HCl (5) a vzorek se opět promíchá. Extrakce se provede 5 ml methanolu (2) po dobu 15 min na ultrazvukové lázni. Vzorek se odstředí 5 min při 3900 ot/min, supernatant se převede do 15 ml PP zkumavky a extrakce se 1 × zopakuje. Spojené extrakty se zkoncentrují proudem inertního plynu na objem 2 ml, přidá se 100 mg aktivního uhlí a suspenze se intenzivně protřepe po dobu 1 min. Poté se přečištěný extrakt odstředí 5 min při 3900 ot/min a alikvot o objemu 1 ml se převede do zkumavky Eppendorf. Takto ošetřený extrakt se zkoncentruje proudem inertního plynu na 0,5 ml, obohatí se nástřikovým standardem (30 µl ISTD-2, c=100 ng/ml) a doplní vodou (1) na 1 ml (~470 µl). Po promíchání pomocí Vortexu se roztok odstředí 5 min při 13000 ot/min, supernatant se zfiltruje přes nylonový filtr 0,2 µm a převede do PP vialky.

UPLC-MS/MS stanovení

Extrakty se analyzují metodou UPLC-MS/MS ve vhodné sekvenci vzorků a standardů. Kalibrační standardy se zařadí do sekvence před i za stanovovaný vzorek.

Kompletní nastavení přístroje a podmínky měření jsou uvedeny v aktuální měřicí metodě použité přístrojové sestavy. Před analýzou reálných vzorků se ověří citlivost systému analýzou nejnižšího kalibračního bodu a zároveň stabilita retenčního chování v daném chromatografickém systému. Selektivita analýzy je zajištěna využitím MRM módu při MS detekci. Sledované MRM pro nativní a izotopově značené PFAS jsou uvedeny v tabulce 1.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	30730.1 Stanovení obsahu perfluoralkylových sloučenin (PFAS) metodou LC-MS/MS	Revize	0

Tabulka 1. MRM sledované pro nativní a izotopově značené PFAS.

Nativní PFAS	MRM 1	MRM 2
PFBA	213 > 169	–
PFPeA	263 > 219	–
PFHxA	313 > 269	313 > 119
PFHpA	363 > 319	363 > 169
PFOA	413 > 369	413 > 169
PFNA	463 > 419	463 > 219
PFDA	513 > 469	513 > 219
PFBS	299 > 99	299 > 80
PFHxS	399 > 99	399 > 80
PFOS	499 > 99	499 > 80
Vnitřní standardy	MRM 1	MRM 2
¹³ C ₂ -PFHxA	315 > 270	–
¹³ C ₄ -PFOA	417 > 372	–
¹³ C ₂ -PFDA	515 > 470	–
¹³ C ₄ -PFOS	503 > 99	503 > 80
¹³ C ₈ -PFOA	421 > 376	–
¹³ C ₈ -PFOS	507 > 99	507 > 80

Kontrola kvality

Požadavky na zajištění kvality reziduálních analýz pesticidů jsou uvedeny v Rozhodnutí Komise 2002/657/ES a Nařízení Komise (ES) č. 278/2012.

Zkouška je založena na metodě izotopového ředění, tzn. vzorek je obohacen izotopově značeným analogem sledovaného analytu (ISTD), který se využívá ke korekci ztrát při přípravě vzorku a eliminaci vlivu matricových interferentů přítomných v daném vzorku. Povolený rozsah pro výtěžnost ISTD v jednotlivých vzorcích je 60 % až 120 %.

Do každé série vzorků se průběžně zařazuje analýza kontrolního vzorku a procesní slepý pokus. Pro tyto kontrolní vzorky se vede a vyhodnocuje regulační diagram.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II 30730.1 Stanovení obsahu perfluoralkylových sloučenin (PFAS) metodou LC-MS/MS	Vydání	4
		Revize	0

6. Výpočet

Přítomnost stanovovaného analytu je potvrzena, pokud je odchylka retenčního času daného analytu v chromatogramu vzorku a kalibračního standardu menší než 1 % a pokud se poměr produktových iontů ve spektru vzorku nachází v povoleném intervalu ± 30 %, daném poměrem těchto produktových iontů ve spektru kalibračních standardů.

Metoda izotopového ředění umožňuje provést kvantifikace vzorku pomocí solventových kalibračních standardů. Kalibrační závislost musí vykazovat minimální charakteristiky $RSD < 25$ % a $R^2 > 0,99$.

Výsledek pod mezí stanovitelnosti se uvede jako $< LOQ$, tj. $< 0,1 \mu\text{g/kg}$. Pro hodnoty nad mezí stanovitelnosti se výsledek zaokrouhlí dle tabulky 2.

Tabulka 2. Zaokrouhlování a udávání výsledků.

Hladina reziduí ($\mu\text{g/kg}$)	Zápis výsledku
< 10	2 platné číslice
> 10	3 platné číslice

Literatura

1. Powley, C.R., et al. 2005, Matrix-effect free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes, Anal. Chem. 77, 6353-6358.
2. Rozhodnutí Komise 2002/657/ES ze dne 12. srpna 2002, kterým se provádí směrnice Rady 96/23/E o používání analytických metod a interpretaci výsledků.
3. Nařízení Komise (EU) č. 278/2012 ze dne 28. března 2012, kterým se mění nařízení (ES) č. 152/2009, pokud jde o stanovení obsahu dioxinů a polychlorovaných bifenylů.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 1 – Použité zkratky	Revize	0

POUŽITÉ ZKRATKY

AAS	atomová absorpční spektrofotometrie,
AES (FAES)	atomová (plamenová) emisní spektrofotometrie (plamenová fotometrie),
AOX	organicky vázané halogeny adsorbovatelné na aktivní uhlí,
AU	absorbanční jednotka,
BFR	bromované zpomalovače hoření, brominated flame retardant,
CAS-RN	identifikační číslo látky, Chemical Abstracts Service Reference Number,
CE (CZE)	kapilární (zónová) elektroforéza,
CEN	normy Evropské Unie,
CL	cizorodé látky,
CI, NCI	chemická ionizace, negativní chemická ionizace, chemical ionisation,
CV-AAS	atomová absorpční spektrofotometrie, metoda studených par,
ČSN	normy ČR,
DDD	dichlordifenyldichloreten,
DDE	dichlordifenyiltrichloretylen,
DDT	dichlordifenyiltrichloreten,
DIN	normy SRN,
DL PCB	PCB s dioxinovým účinkem, dioxine like PCB, koplanární PCB,
DTPA	kyselina dietylentriaminopentaoctová,
EDTA	Chelaton III, Komplexon III, Titriplex III – kyselina etylendiamintetraoctová (většinou její disodná sůl),
EI	ionizace nárazem, electron impact,
EOX	extrahovatelné organicky vázané halogeny,
EPA	agentura pro životní prostředí (USA), Environmental Protection Agency,
ETA-AAS	atomová absorpční spektrofotometrie s elektrotermickou atomizací,

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
		Revize	0
Dodatek 1 – Použité zkratky			

FAAS	plamenová atomová absorpční spektrofotometrie,
FIA	analýza v nesegmentovaném toku, flow injection analysis,
FTIR	infračervená spektrofotometrie s Fourierovou transformací,
GC/ECD	plynový chromatograf s detektorem elektronového zachytu,
GC/FID	plynový chromatograf s plamenově ionizačním detektorem,
GC-MS	plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií,
GC-MS/MS	plynová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií,
GPC	gelová (permeační) chromatografie,
GIS	geografický informační systém,
HCB	hexachlorcyklobenzen,
HCH	hexachlorcyklohexan,
HG-AAS	atomová absorpční spektrofotometrie, metoda generování hydridů,
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie,
HRGC	vysocerozlišující plynová chromatografie,
IC	iontová chromatografie,
ICP-OES	ekvivalenty OES-ICP, místo ICP někdy ICAP, místo OES někdy AES, optická (atomová) emisní spektrometrie v indukčně vázaném (argonovém) plazmatu,
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem,
ID	vnitřní průměr, internal diameter,
ISE	iontově selektivní elektroda,
ISO	International Standard Organization,
ISTD	vnitřní standard,
JPP	jednotné pracovní postupy,
LOD	mez detekce, limit of detection,
LOQ	mez stanovitelnosti, limit of quantification,
ME	mikroelementy,

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 1 – Použité zkratky	Revize	0

MIR	střední infračervená oblast,
MRM	monitorování vybraných/mnohonásobných přechodů, multiple reaction monitoring,
MS	hmotnostní spektrometr,
MPZ	mezilaboratorní porovnávací zkoušky,
NEN	normy Nizozemí,
OCP	organochlorové pesticidy,
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky,
PBDE	polybromované difenyletery,
PCB	polychlorované bifenyly,
PCDD	polychlorované dibenzo-p-dioxiny,
PCDF	polychlorované dibenzofurany,
PFAS	perfluoroalkylové sloučeniny
PLE	zrychlená extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku, pressurised fluid extraction, totožné s označením ASE, PSE, PFE,
PFE	zrychlená extrakce rozpouštědlem za zvýšeného tlaku, pressurised fluid extraction, totožné s označením ASE, PSE, PLE,
POP	persistentní organické polutanty,
POX	organicky vázané halogeny vypuzené proudem inertního plynu,
PP, PE	polypropylen, polyetylen,
PTFE	teflon, polytetrafluoretylen,
SFA	analýza v segmentovaném toku, segmented flow analysis,
SIM	snímání vybraných hmot, selected ion monitoring,
SCCPs	chlorované parafíny, short-chained chlorinated paraffins,
SPE	extrakce na pevném sorbentu/resp. sloupcová chromatografie, solid phase extraction,
TCDD	tetrachlor dibenzo dioxin,
TEF	faktor toxické ekvivalence, toxicity equivalency factor,

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 1 – Použité zkratky	Revize	0

TEQ	toxický ekvivalent, toxic equivalent,
TK	těžké kovy,
TOX	celkový obsah organicky vázaných halogenů,
UV-VIS spektrofotometrie	spektrofotometrie ve viditelné a blízké ultrafialové oblasti spektra,
UV	ultrafialová oblast spektra,
V/m	objemová jednotka vztažená na hmotnostní jednotku (obdobné označení i v jiných kombinacích),
VOX	těkavé organicky vázané halogeny,
WHO	Světová zdravotnická organizace, World Health Organisation.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 2 – Možné zdroje kontaminace	Revize	0

MOŽNÉ ZDROJE KONTAMINACE

V průběhu celého analytického procesu je stále nebezpečí kontaminace vzorků stanovovanými prvky. Pro vzorkování, přepravu a úpravu vzorků i pro další kroky analýzy je nezbytné vybírat materiály, které nekontaminují vzorek. Jsou vhodné kovové nástroje z hliníku nebo nelegované oceli. Legovaná ocel obsahuje chrom, nikl, molybden a mangan, rychlořezná ocel obsahuje navíc kobalt, vanad a wolfram. Mlecí zařízení s noži z karbidu wolframu kontaminuje významně kobaltem, který se používá jako fixativum při jeho výrobě. Nejvhodnější mlecí elementy jsou z nelegované oceli nebo z titanu. Galvanizované součástky obsahují nikl, chrom, měď, kadmium, zinek. Měď a její slitiny by se pokud možno neměly používat vůbec.

Barvy mohou být zdrojem barya, titanu, zinku, kadmia ap. PVC a polystyren mohou obsahovat kadmium, olovo a cín. Obecně platí, že polyolefiny (polyetylen, polypropylen) neobsahují tyto kontaminanty stejně jako silikonová pryž a teflon (polytetrafluoretylen). Kaučuk a buničitá vata (používaná např. na osoušení pipet) obsahují často vysoké koncentrace zinku.

Použité chemikálie mohou být také zdrojem kontaminace, proto je třeba mít stálý přehled o šarži používaných chemikálií, o filtračních papírech atd., aby bylo možné na základě zvýšených hodnot slepých pokusů vysledovat zdroj kontaminace. Při zvlášť vysokých požadavcích na čistotu je nezbytné používat zvláště čistou vodu (čistota stupeň 1 dle ČSN ISO 3696 – viz. dodatek 3) a používat kyseliny přečištěné podvarovou destilací.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 2 – Možné zdroje kontaminace	Revize	0

Tabulka 1. Možné zdroje kontaminace.

Kontaminující materiál	Kontaminanty	Opatření
Prach, nedostatečně umyté laboratorní sklo	Zvláště složky anorganických solí	Zlepšit práci laboratoře a zaškolení pracovníků
Omítka, stavební prach	Ca, Si	Zamezit kontaktu
Čisticí materiály	Oleje, vosky, Ca, Si, Na, P, Cl	Pečlivě opláchnout, pokrývat pracovní plochy
Rez a galvanické povlaky	Fe, Pb, Al, Cu, Zn	Odstranit zkorodované součásti, nátěry
Sklo	Na, Ca, Si, Zn, B	Pečlivě opláchnout před použitím
Laboratorní rozvody	Cu, Zn, Fe, Pb, Cr	Používat vodu z nekontaminujících rozvodů
Venkovní prach	Ca, P, Mg atd.	Zamezit jeho vstupu do laboratoře (filtrace vzduchu)
Pracovní oděvy	Ca, P, B	Prát bez dodatečné úpravy
Tabákový kouř a popel	Různé anorganické látky	Nepřipustit kouření v laboratořích (týká se i přilehlých prostor)
Kosmetika	Zn, Ca, Mg, tuky	Zamezit nadměrnému používání
Pracovníci	Na, Cl, organické látky	Zlepšit ventilaci, používat rukavice
Mýdlo a detergenty	Na, Ca, P, Cl	Používat detergenty bez fosfátů, pečlivě opláchnout

Literatura

1. Stewart E. Allen: Chemical Analysis of Ecological Materials. Blackwell Scientific Publications, second revised ed. London 1989 .
2. B.J. Alloway: Heavy Metals in Soils. Blackie and Son, London, 1990.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 3 – Příprava vody pro analytické účely	Revize	0

PŘÍPRAVA VODY PRO ANALYTICKÉ ÚČELY

Tato kapitola byla napsána ve spolupráci s firmou Millipore a je v příkladech orientována na produkty této firmy. Obdobná zařízení nabízí však i další dodavatelé a výrobci.

Podle normy ČSN ISO 3696 jsou tři stupně jakosti vody:

1. stupeň jakosti

Bez rozpuštěných nebo koloidních anorganických a organických nečistot a vyhovující přísným analytickým požadavkům včetně požadavků vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC); má být získávána další úpravou vody 2. stupně jakosti.

2. stupeň jakosti

Velmi málo anorganických, organických nebo koloidních nečistot a vhodná pro citlivé analytické účely, včetně atomové absorpční spektrometrie (AAS) a stanovení složek ve stopových koncentracích.

3. stupeň jakosti

Vhodná pro většinu laboratorních prací mokrou cestou a přípravu roztoků činidel. Pokud není dáno jinak, používá se pro běžnou analytickou práci.

Tabulka 1. Požadavky.

Ukazatel	1. stupeň	2. stupeň	3. stupeň
Hodnota pH při 25 °C, včetně rozmezí	Neměří se ⁽¹⁾	Neměří se ⁽¹⁾	5,0 až 7,5
Konduktivita, mS/m při 25 °C, max.	0,01 ⁽²⁾	0,1 ⁽²⁾	0,5
Oxidovatelné látky, kyslík (O) mg/l, max.	Neměří se ⁽³⁾	0,08	0,4
Absorbance při 254 nm v kyvetě s optickou drahou 1 cm, hodnota absorbance, max.	0,001	0,01	Není určeno
Zbytek po odpařování při zahřívání na 110 °C, mg/kg, max.	Neměří se ⁽³⁾	1	2
Oxid křemičitý (SiO ₂) mg/l, max.	0,01	0,02	Není určeno

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 3 – Příprava vody pro analytické účely	Revize	0

Legenda k tabulce 1

¹ Pro obtíže s měřením hodnoty pH vysoce čisté vody a nepřesnost získané hodnoty, nebyly mezní hodnoty pro 1. a 2. stupeň jakosti vody stanoveny.

² Hodnoty konduktivity vody 1. a 2. stupně jakosti se vztahují k čerstvě připravené vodě, během uchovávání může docházet ke znečištění vzdušným oxidem uhličitým a alkáliemi vylučovanými ze skleněných zásobníků, doprovázenému změnami konduktivity.

³ Mezní hodnota pro oxidovatelné látky a zbytek po odpařování pro vodu 1. stupně jakosti není určen pro obtížnost zkoušení při úrovni této jakosti. Jakost vody 1. stupně je zajištěna vyhověním ostatním požadavkům a její metodou přípravy.

UCHOVÁVÁNÍ

Během uchovávání může dojít ke znečištění vody rozpuštěním rozpustných složek ze skleněné nebo plastové nádoby nebo absorpcí atmosférického oxidu uhličitého a dalších nečistot přítomných ve vzduchu v laboratoři. Z tohoto důvodu se nedoporučuje uchovávání vody 1. a 2. stupně jakosti. Voda se připravuje k přímému použití. Nicméně voda 2. stupně jakosti může být připravena v přiměřeném množství a skladována ve vhodné inertní, čisté, vzduchotěsné, zcela zaplněné nádobě, předem dokonale vypláchnuté vodou stejného stupně jakosti. Uchovávání vody 3. stupně jakosti je málo problematické, ale nádoby a skladovací podmínky jsou stejné, jako při uchovávání vody 2. stupně jakosti. Doporučuje se, aby jednotlivé skladovací nádoby byly rezervovány výhradně pro uchovávání vody určitého stupně jakosti.

Např. firma Millipore pro účely skladování vody 2. a 3. stupně jakosti vyvinula zásobníky tak, aby byla ochráněna kvalita vody.

Zásobníky Millipore mají tyto základní vlastnosti:

- 100% vypustitelné s kónickým dnem (pro kompletní a snadné čištění a opláchnutí),
- neprůhledné (k omezení bakteriálního růstu),
- materiál je polyethylen (pro nízkou extrahovatelnost),
- dýchací filtr pro odstranění těkavých organických látek, bakterií a CO₂ ze vzduchu,
- chráněný přepad (k zabránění zpětné kontaminace z odpadu),
- možnost germicidní UV lampy pro efektivní prevenci bakteriálního růstu a tvorby biofilmu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 3 – Příprava vody pro analytické účely	Revize	0

PŘÍPRAVA

1. stupeň jakosti

Úspěšná produkce vody 1. stupně jakosti závisí na pečlivé integraci provedení systému, čisticích procesů, periodické údržby a kontroly parametrů kvality. Systémy Milli-Q mají velmi přesné měření rezistivity (konduktivity) pro měření stopového množství iontových kontaminantů a vestavěný TOC monitor pro in-line měření obsahu celkového organického uhlíku ve vodě 1. stupně jakosti. Třístupňový purifikační proces a periodická recirkulace vody zajišťují dodávku vody 1. stupně jakosti podle potřeby k přímému použití. Systémy Millipore mají také integrovaný podsvětlený displej na kterém jsou zobrazovány monitorované parametry kvality a informace o potřebné údržbě systému. Komponenty systémů Milli-Q jsou vyrobeny z vysoce čistých materiálů pro minimalizaci extrahovatelných kontaminantů.

2. stupeň jakosti

Voda 2. stupně jakosti může být získána z vodovodní vody reverzní osmózou s následnou elektrodeionizací. Systémy Elix spojují komplementární purifikační technologie:

- předčisticí modul obsahující filtr 1µm, aktivní uhlí na odstranění volného chloru a koloidů a antiusazovací činidlo,
- pokroková reverzně osmotická membrána,
- elektrodeionizační modul,
- germicidní UV lampa.

Parametry důležité pro kvalitu vody se kontrolují po každém purifikačním kroku (vstupní tlak, konduktivita vstupní vody, tlak na reverzně osmotické membráně, konduktivita reverzně osmotické vody, účinnost reverzně osmotické membrány, rezistivita (konduktivita) a teplota produkované vody). Systémy Elix mají automatickou kontrolu a údržbu. Všechny informace o kvalitě vody a potřebné údržbě se zobrazují na podsvětleném displeji.

3. stupeň jakosti

Voda 3. stupně jakosti může být získána z vodovodní vody reverzní osmózou. Systémy RiOs spojují komplementární purifikační technologie:

- předčisticí modul obsahující filtr 1 µm, aktivní uhlí na odstranění volného chloru a koloidů a antiusazovací činidlo,

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 3 – Příprava vody pro analytické účely	Revize	0

- pokroková reverzně osmotická membrána,
- germicidní UV lampa.

Parametry důležité pro kvalitu vody se kontrolují a zobrazují na podsvětleném displeji (vstupní tlak, konduktivita vstupní vody, tlak na reverzně osmotické membráně, konduktivita produktu, účinnost reverzně osmotické membrány a teplota vody). Systémy RiOs mají automatickou kontrolu a údržbu.

Autor kapitoly: Mgr. Radka Kejlová, Millipore s.r.o., Říčanova 21, 169 00 Praha 6.

Více informací na www.millipore.com

Literatura

1. ČSN ISO 3696. Jakost vody pro analytické účely. Specifikace a zkušební metody. ČSNi Praha, 1994.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 4 – Filtrační papíry	Revize	0

FILTRAČNÍ PAPIRY

Tabulka 1. Nejrozšířenější Filtrační papíry.

	Velmi hustý	Hustý	Střední	Řídký
Filtrak	(1)391 modrý	(1) 390 zelený	(1)389 bílý	(1)388 černý
Macherey Nagel	MN 640 dc	MN 640 d	MN 640 m	MN 640 w
Schleicher Schüll	S/S 589/3	S/S 589/5	S/S 589/2	S/S 589/1
Whatman ¹	42 (542)		40 (540)	41 (541)

Čísla v závorce platí pro tvrzené papíry vhodné pro Büchnerovy filtrační nálevky. (Küster-Thiel: Chemicko-analytické výpočetní tabulky, str. 303–305, Academia)

Tabulka 2. Použití kvantitativních filtrů FILTRAK.

Typ	Značení	Plošná hmotnost (g/m ²)	Filtrační rychlost (s)	Vhodné použití
388	Černá tečka	80	10	Hrubé vločkovité vzorky, hydroxidy Fe, Al a Cr, sulfidy Cu, Bi, Co a Fe, organické železité vzorky, zjišťování silikonu na oceli a surovém Fe
389	Bílá tečka	80	20	Pro analytickou práci, sulfidy Ag, As, Sb, Cd, Pb, Fe a Mn, pro fosfomolybdenan amonný, alkalické zeminy
390	Zelená tečka	80	100	Filtrace jemných vzorků, BaSO ₄ , dioxid olova, Ca(OH) ₂ , CaF ₂ , sulfidy Ni a Zn, atd.
391	Modrá tečka	80	180	Jemnozrné vzorky, za studena srážený BaSO ₄ , pro kyselé a mírně zásadité roztoky.
392	Červená tečka	80	50	Rychlá filtrace jemných vzorků, rutinní laboratorní práce, hrubější vzorky BaSO ₄ , arseničnan hořečnato-amonný a fosfáto-amonný

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 4 – Filtrační papíry	Revize	0

Tabulka 3. Použití kvantitativních filtrů Whatman.

Typ	Plošná hmotnost (g/m ²)	Záchyt částic (μm)	Vhodné použití
Gr.40	92	8	Předfiltrace roztoků pro atomovou absorbní spektrofotometrii. Kontrola znečištění ovzduší.
Gr.41	84	20 – 25	Záchyt velkých částic a gelovitých sraženin, kvantitativní analýza znečištění ovzduší.
Gr.42	100	2,5	Záchyt nejjemnějších částic, např. BaSO ₄ , CaCO ₃
Gr.43	96	16	Analýza potravin a půd, anorganická analýza ve stavebnictví, v důlním a hutním průmyslu.
Gr.44	77	3	Podobný Gr. 42, ale méně účinný při zachytu jemných částic.

Tabulka 4. Kvalitativní filtrační papíry FILPAP KA.

Typ		Barevné značení	Střední filtr. rychlost (s)	Filtrace větších částic nad (μm)	Ekvivalent ve značení FILTRAK	
Nezpevněný	Zpevněný		dle ČSN 500338		Nezpevněný	Zpevněný
KA 1	KA 1-M	červená	15	15	288	1288
KA 2	KA 2-M	žlutá	32	8	289	1289
KA 3	KA 3-M	fialová	70	6	292	1292
KA 4	KA 4-M	modrá	130	4	290	1290
KA 5	KA 5-M	zelená	210	3	291	1291

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 4 – Filtrační papíry	Revize	0

Tabulka 5. Kvalitativní filtrační papíry FILTRAK.

Typ	Barevné značení	Plošná hmotnost (g/m ²)	Filtrační rychlost (s)	Vhodné použití
288	Černá tečka	80	10	Hrubé vločkovité vzorky, hydroxidy Fe, Al a Cr, sulfidy Cu, Bi, Co a Fe, organické železité vzorky, zjišťování silikonu na oceli a surovém železe
289	Bílá tečka	80	20	Analytická práce, sulfidy Ag, As, Sb, Cd, Pb, Fe a Mn, fosfomolybdenan amonný, alkalické zeminy
290	Zelená tečka	80	100	Filtrace jemných vzorků, BaSO ₄ , dioxid olova, Ca(OH) ₂ , CaF ₂ , sulfidy Ni a Zn, atd.
291	Modrá tečka	80	180	Jemnozrnné vzorky, za studena srážený BaSO ₄ , kyselé a jemné zásadité roztoky
292	Červená tečka	87	45	Rychlá filtrace jemných vzorků, rutinní laboratorní práce, hrubější vzorky BaSO ₄ , arseničnan hořečnat-amonný a fosfato-amonný

Tabulka 6. Kvalitativní filtrační papíry WHATMAN.

Typ	Plošná hmotnost (g/m ²)	Záchyt částic (μm)	Vhodné použití
Gr.1	88	11	Rutinní aplikace – analýza půd, testování semen, detekce plynů a znečištění ovzduší
Gr.2	103	8	Např. sledování znečištěných látek v atmosféře a testování půd
Gr.3	187	6	Do Büchnerových nálevek, s vysokou absorpční schopností, pro přenos vzorků
Gr.4	96	20 – 25	Záchyt velkých částic a gelovitých sraženin, např. oxidohydroxidy železa a hliníku, čištění biologických vzorků a organických extraktů
Gr.5	98	2,5	Čištění kalných suspenzí, analýza vod a půd
Gr.6	105	3	2 × rychlejší než Gr. 5, téměř stejný záchyt (analýza vody v kotlích)

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II Dodatek 4 – Filtrační papíry	Vydání	4
		Revize	0

Pro běžné analýzy při stanovení základních živin je možné použít podstatně levnější kvalitativní filtrační papíry. Každou novou šarží je třeba ověřit na obsah stanovovaných prvků. Papíry jsou nejčastěji kontaminovány hořčíkem, vápníkem a amonnými ionty.

Postup úpravy kvalitativních filtrů pro odstranění kontaminantů:

Filtr se promyje třikrát horkým roztokem EDTA. Promývací roztok obsahuje 3,74 g dvojsodné soli EDTA v 1000 ml ($c = 0,01 \text{ mol/l}$) a na promytí jednoho filtru se spotřebuje asi 50 ml roztoku. Tento postup je nepoužitelný při požadavku na stanovení sodíku.

Promývání horkým vyluhovacím roztokem je také možné, ale účinnost nemusí být dostatečná a navíc práce s horkými vyluhovacími roztoky je zpravidla značně nepříjemná, neboť dochází k uvolňování kyselin do ovzduší laboratoře.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 5 – Manipulace se zvláště nebezpečnými kyselinami	Revize	0

MANIPULACE SE ZVLÁŠTĚ NEBEZPEČNÝMI KYSELINAMI

Kyselina fluorovodíková

Kyselina fluorovodíková je nebezpečný dotykový jed. Při potřísnění proniká rychle a bez varovných příznaků hluboko do pokožky. Vždy se musí pracovat v dobře táhnoucí digestoři a v gumových ochranných rukavicích. Při potřísnění se kůže neprodleně omyje proudem vody a otře asi 4M vodným roztokem amoniaku.

Kyselina chloristá

Vlastnosti

Za běžných podmínek je kyselina chloristá stálá do koncentrace 85 % (m/m). Běžně dodávaná kyselina chloristá má zpravidla (60 – 72) % (m/m), $\rho = 1,6 \text{ g/cm}^3$. Azeotropická směs s vodou obsahuje 72,5 % (m/m) kyseliny chloristé a její bod varu je 203 °C. To znamená, že při odpařování vodných roztoků kyseliny chloristé nedochází ke kondenzaci kyseliny v nebezpečné koncentraci. V přítomnosti solí kovů se však nikdy nesmí odpařovat do sucha, protože by mohlo dojít k explozi. Páry kyseliny chloristé ve směsi se zápalnými plyny tvoří explozivní směsi. Horká kyselina chloristá 60% – 72% (m/m) je velmi silné oxidační činidlo, které rozkládá všechny formy organických sloučenin. Studená nebo zředěná kyselina nemá oxidační účinky. Kyselina chloristá a její zředěné roztoky jsou za obvyklých podmínek bezbarvé.

Použití a skladování

Uchovává se ve skleněných nádobách uzavřených skleněnou zátkou. Nádoby jsou umístěny na porcelánové míse dostatečného objemu. Vždy se uchovává odděleně od nádob obsahujících redukcující látky (alkoholy, glycerol apod.). Při rozlití je třeba místo pečlivě opláchnout vodou. Když se kyselina chloristá zbarví, je třeba ji po zředění zlikvidovat.

Při použití kyseliny chloristé k mineralizaci organických materiálů je třeba předem mineralizovat snadno oxidovatelné složky kyselinou dusičnou za nižší teploty. Vzorky obsahující tuky mohou být problematické.

Rozklad musí probíhat v digestoři umožňující oplachování odvodního potrubí. Odtah musí

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 5 – Manipulace se zvláště nebezpečnými kyselinami	Revize	0

být dostatečně účinný, aby se zabránilo kondenzaci kyseliny. Po skončení práce je třeba nechat zapnutý odťah ještě alespoň 30 min.

Literatura

1. V.G.J. Houba, J.J. van der Lee, I. Novozamsky, I. Walinga: Soil and Plant Analysis, part 5. Soil Analysis Procedures.
2. Analytical Methods Committee. Notes on perchloric acid and its handling in analytical work. Analyst 84 214, 1959.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 6 – Kritéria hodnocení vybraných parametrů	Revize	0

KRITERIA HODNOCENÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ

Tabulka 1. Kritéria pro hodnocení obsahu mikroživin v extraktu Mehlich 3, stanovení metodou ICP-OES.

Prvek	Půdní druh	Obsah (mg/kg)		
		nízký	střední	vysoký
B	Lehké	< 0,55	0,56 – 0,75	> 0,75
	Střední	< 0,70	0,71 – 1,00	> 1,00
	Těžké	< 0,85	0,86 – 1,40	> 1,40
Cu		< 1,6 (< 2,0) ¹⁾	1,61 – 4,5	> 4,5
Zn		< 2,2	2,21 – 5,0	> 5,0
Mn		< 30 (< 45,0) ²⁾	30,1 - 200	> 200
Fe		< 60,0	60,0 - 420	> 420

Legenda: 1) Doporučeno pro obiloviny; 2) Hnojení je doporučeno pro obsahy < 45 mg/kg.

Tabulka 2. Kritéria pro hodnocení obsahu Cu, Zn, Mn a Fe v extraktu podle Lindsaye a Norvella a B v extraktu horkou vodou. Tabulka převzata z Komplexní metodiky výživy rostlin, kap. 10, Hnojení mikroživinami, str. 137, (B. Juráni a kol). Vydal ÚVTIZ Praha, r. 1990.

Prvek	Půdní druh	Obsah (mg/kg)		
		nízký	střední	vysoký
B	Lehké	< 0,40	0,40 – 0,70	> 0,70
	Střední	< 0,60	0,60 – 1,00	> 1,00
	Těžké	< 0,80	0,80 – 1,50	> 1,50
Cu		< 0,80 (< 1,0) ¹⁾	0,80 – 2,7	> 2,7
Zn		< 1,0	1,0 – 2,5	> 2,5
Mn		< 10,0 (< 15,0) ²⁾	10,0 - 100	> 100
Fe		< 8,0	8,0 - 75	> 75

Legenda: 1) Doporučeno pro obiloviny; 2) Hnojení je doporučeno pro obsahy < 15 mg/kg.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 6 – Kritéria hodnocení vybraných parametrů	Revize	0

Rizikové prvky v půdách náležejících do zemědělského půdního fondu (Vyhláška MŽP č. 153/2016 Sb. O stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy).

Systém preventivních a indikačních hodnot

První úroveň obsahů prvků a látek tvoří tzv. preventivní hodnoty (tabulka 3, 4), které byly odvozeny od požadovaných hodnot obsahů rizikových prvků a látek v zemědělských půdách ČR (přirozené obsahy prvků v půdotvorných substrátech plus průměrná rozptýlená antropogenní zátěž - mokrá a suchá depozice; v případě POP pouze průměrná rozptýlená antropogenní zátěž).

Jsou to takové obsahy, které nepředstavují žádné zdravotní rizika pro člověka ani pro živočichy, či rizika z pohledu vývoje rostlin, ale při jejich překročení by mohlo dojít k narušení funkcí půdy. Ke stanovení těchto hodnot byly mimo jiné použity výsledky dlouhodobého sledování obsahů prvků a látek v půdě prováděného ÚKZÚZ – Bazální monitoring půd a Registr kontaminovaných ploch.

Tabulka 3. Preventivní hodnoty rizikových prvků v zemědělské půdy zjištěné po extrakci lučavkou královskou (mg/kg suš.)

Kategorie půd	As	Be	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	V	Zn
Běžné půdy	20	2.0	0.5	30	90	60	0,3	1200	50	60	130	120
Lehké půdy	15	1.5	0.4	20	55	45	0,3	1000	45	55	120	105

Tabulka 4. Preventivní hodnoty obsahů rizikových látek v zemědělské půdě (mg/kg suš.)

Látka	Preventivní hodnota
Σ PAH ¹	1,0
Σ PCB ²	0,02
Σ DDT ³	0,075
HCB ⁴	0,02
HCH ($\Sigma \alpha+\beta+\gamma$) ⁴	0,01
PCDD/F ⁴	5,05
C10-C40 ⁴	100

1 Σ PAH – anthracene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(ghi)perylene, phenanthrene, fluoranthene, chrysene, indeno(1,2,3-cd)pyrene, naphthalene, pyrene

2 Σ kongenery PCB – 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180

3 Σ DDT, DDE, DDD (o,p'-, p,p'- isomery)

4 HCB, HCH, PCDD/F a C10-C40 se analyzují pouze při důvodném podezření z jejich výskytu (např. předchozí znečištění půdy z výroby)

5 Mezinárodní toxický ekvivalent I-TEQ PCDD/F (ng/kg sušiny)

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 6 – Kritéria hodnocení vybraných parametrů	Revize	0

Druhou úrovní obsahů prvků a látek jsou tzv. indikační hodnoty. Indikační hodnoty zohledňují přestup rizikových prvků z půdy do zemědělských plodin (tabulka 5, 6). Interpretace je založena na porovnání dvou typů výluhů a v případě prvků s vysokou závislostí jejich mobility na pH (Cd, Ni, Cu) přistupuje navíc členění dle pH půdy. Při překročení indikačního limitu je třeba následně provést testování na konkrétních plodinách, které se na daném pozemku pěstují.

Dodatečně byly zařazeny indikační limity pro přímé ohrožení lidského zdraví a zdraví zvířat kontaminovanou půdou při pohybu na zatížených plochách (tabulka 7). Týkají se vybraných perzistentních organických polutantů a významných zootoxicky působících rizikových prvků (As, Cd, Pb, Hg). V případě překročení těchto indikačních limitů musí být na pozemku provedena riziková analýza, respektive následná opatření (zatravnění pozemku, vyjmutí ze ZPF).

Tabulka 5. Indikační hodnoty, při jejichž překročení může být ohrožena zdravotní nezávadnost potravin nebo krmiv (mg/kg sušiny)

Rizikový prvek	Půdní druh	pH/CaCl ₂	Indikační hodnota	
			Lučavka královská	1mol/L NH ₄ NO ₃
As	-	-	40.0	1.0
Cd	Běžné půdy	< 6.5	1.5	-
		> 6.5	2.0	0.1
	Lehké půdy	> 6.5	2.0	0.04
Ni	-	< 6.5	150	-
	-	> 6.5	200	-
	-	-	-	1.0
Pb	-	-	300	1.5
Hgtot	-	-	1.5	-

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 6 – Kritéria hodnocení vybraných parametrů	Revize	0

Tabulka 6. Indikační hodnoty, při jejichž překročení může být podezření z ohrožení růstu rostlin a produkční funkce půdy (mg/kg sušiny)

Prvek	pH/CaCl ₂	Indikační hodnota	
		Lučavka královská	1mol/L NH ₄ NO ₃
Cu	<5	150	-
	5 – 6.5	200	-
	> 6.5	300	-
	-	-	1.0
Ni	≤ 6.5	150	-
	> 6.5	200	-
	-	-	1.0
Zn		400	-
		-	20

Tabulka 7. Indikační hodnoty rizikových prvků a látek, při jejichž překročení může být ohroženo zdraví lidí a zvířat (mg/kg sušiny)

Prvek/Látka	Indikační hodnota
As	40
Cd	20
Hgtot	20
Pb	400
Benzo(a)pyrene	0.5
Σ PAH1	30
Σ PCB2	1.5
Σ DDT3	8.0
HCB	1.0
HCH (Σ α+β+γ)	1.0
PCDD/F ⁴	100.04

1 Σ PAH – anthracene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(ghi)perylene, phenanthrene, fluoranthene, chrysene, indeno(1,2,3-cd)pyrene, naphthalene, pyrene

2 Σ kongenerů PCB – 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180

3 Σ DDT, DDE, DDD (o,p'-, p,p'- isomery)

4 Mezinárodní toxický ekvivalent I-TEQ PCDD/F (ng/kg sušiny)

Stanovené limitní hodnoty se vztahují na směsné vzorky ornice, přičemž způsob odběru vzorků je součástí vyhlášky.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

PROGRAMY ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI (MEZILABORATORNÍ POROVNÁVACÍ ZKOUŠKY)

Od roku 1996 organizuje ÚKZÚZ mezilaboratorní porovnávací zkoušky pro analytické laboratoře (MPZ ÚKZÚZ). Náplň a organizace programů MPZ ÚKZÚZ vychází jednak z požadavků ČIA na akreditované poskytovatele programů zkoušení způsobilosti podle ČSN EN ISO/IEC 17043:2010 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti a jednak z požadavků účastníků. Od roku 2008 je pracoviště NRL – Oddělení mezilaboratorních porovnávacích zkoušek, které programy zkoušení způsobilosti MPZ ÚKZÚZ zajišťuje, akreditováno Českým institutem pro akreditaci jako organizátor programů zkoušení způsobilosti č. 7005.

Účelem těchto testů je především zajistit externí kontrolu kvality analytické laboratoře, pomoc při validaci modifikovaných postupů apod. Cílem testu je ukázat odchylky i rozptyl při standardní práci laboratoře, proto by i vzorky mezilaboratorního porovnání měly být zpracovávány zcela standardním postupem.

Rozsah programů MPZ ÚKZÚZ

MPZ ÚKZÚZ jsou poskytovány v oblasti chemických zkoušek půd, kalů a sedimentů, krmiv a rostlinného materiálu. Jednotlivé akreditované programy probíhají dle ročního plánu, který se připravuje a zveřejňuje na internetových stránkách www.ukzuz.cz (plán včetně termínů a ceníku, přihláška) v měsíci listopadu.

Mezi další programy MPZ ÚKZÚZ jsou zařazeny kvalitativní testy, které jsou organizovány každoročně v různé kombinaci a četnosti dle zveřejněného plánu :

- MPZ ELISA – kvalitativní detekce virové infekce v rostlinných materiálech,
- MPZ PCR AP – detekce fytoplazmy proliferace jabloně metodou PCR,
- MPZ TI – identifikace vybraných druhů snětí rodu *Tilletia* na obilovinách,
- MPZ GI, GD – detekce a identifikace háďátek rodu *Globodera*,
- MPZ DŽP – detekce živočišných proteinů v krmivech,
- MPZ medikovaná krmiva (veterinární léčivé přípravky)

Rozsah MPZ ÚKZÚZ včetně informace o četnosti a o počtu rozesílaných vzorků je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 1. Rozsah MPZ ÚKZÚZ

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Analýza půd	Analýza rostlin	Analýza krmiv	Analýza kalů a sedimentů
Dvě periody ročně, 3 vzorky v každé periodě pro každou matici (kaly a sedimenty dva vzorky v každé periodě).			
P_ICP, P_SP, Ca, K, Mg, Al, B, Cu, Fe, Mn, S, Zn v extraktu dle Mehlich 3, pH/CaCl₂, EC (specifická elektrická vodivost). As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V, Zn v extraktu lučavkou královskou, Hg (celkový obsah). Jednou ročně: půdní dusík (NO₃⁻ a NH₄⁺ forma).	Celkový obsah Ca, Mg, K, P, Na, N, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V, Zn, Hg, Fe, Mn, B, Al, stanovení obsahu NO₃⁻.	Základní parametry - vlhkost, popel, N-látky, škrob, sacharóza, vláknina, tuk, celkový obsah Ca, K, P, Mg, Na, Mn, Zn, Fe, Cu, NaCl. 18 jednotlivých aminokyselin. Jednou ročně: ADF, NDF, S, Se, As, Cd, Cr, Hg, Pb.	As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb, V, Zn, Na, Ca, Mg, K, P, Fe, Mn, Al v extraktu lučavkou královskou, LOI (ztráta žiháním) a stanovení Hg a N (celkové obsahy).

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Tabulka 1. Rozsah MPZ ÚKZÚZ (pokračování)

Analýza semen olejnin	Doplňkové látky v krmivech	Mykotoxiny	*Elisa	*Detekce živočišných proteinů
Jednou ročně, 3 vzorky.	Dva programy ročně, 1 krmná směs, 1 premix pro každý parametr.	Jednou ročně, 2 vzorky.	Jednou ročně, 4 vzorky.	Jednou ročně, 4 vzorky.
Tuk, N-látky.	Kokcidistatika – salinomycin, monensin, nikarbazin, narasin, lasalocid, robenidin. Vitamíny – A, E, D3.	Deoxynivalenol, zearalenon, ochratoxin A, T-2 a HT-2 toxin, fumonisin B1 a B2, aflatoxin B1, B2, G1, G2, enniatin A, A1,B, B1, nivalenol, beauvericin.	Kvalitativní detekce virové infekce.	Kvalitativní detekce komponent živočišného původu v krmivech.

*označené programy MPZ nejsou akreditovány

Příprava vzorků

Přípravu materiálů pro MPZ ÚKZÚZ včetně testů homogenity a stability zajišťuje ÚKZÚZ. Způsob úpravy pro jednotlivé matrice je uveden v Tabulce 2. Množství rozesílaného vzorku je dostatečné pro provedení všech analýz zahrnutých v MPZ ÚKZÚZ. Rozšíření testu o další parametry je možné při získání dostatečného počtu zájemců, v tomto případě se dodávané množství vzorku zvýší.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Tabulka 2. Příprava vzorků pro MPZ ÚKZÚZ.

Půdy	Rostlinný materiál	Krmiva	Kaly a sedimenty
Vzorky půd se odebírají z homogenních ploch. Po odběru se vzorek rozložený do tenké vrstvy usuší na vzduchu při teplotě nižší než 40 °C. Po odstranění větších částí skeletu a případných kořenů se vzorek prosévá za současného rozrušování hrud na speciální půdní prosévače, která nedrtí částice skeletu. Upravený vzorek obsahuje částice o velikosti menší než 2 mm.	Vzorky rostlinného materiálu se odebírají z druhově a případně i odrůdově homogenních ploch. Větší části se rozřežou na řezačce, vzorky hlíz nebo bulv se nakrájejí na plátky. Takto upravený materiál se suší rozprostřený v tenké vrstvě v horkovzdušné sušárně při teplotě do 60 °C. Po usušení se rostlinný materiál mele na nožovém mlýnku se sítem s otvory o průměru 1 mm. Vzorky se dosuší v sušárně při (105 ± 2) °C.	Vzorky krmiv a krmných směsí se získávají většinou nákupem z mísen krmných směsí. Upravují se pomletím shodně jako rostlinný materiál (bez sušení).	Vzorky kalů se odebírají z čistíren odpadních vod, vzorky sedimentů z různých přírodních lokalit. Vzorky kalů se ošetří γ zářením (dávkou 25 kGy), aby se snížilo hygienické riziko. Vzorky se suší při 60 °C, potom se pomelou, zhomogenizují a prosejí přes síto o velikosti otvorů 0,5 mm.
Homogenizace: Po promíchání se každý vzorek rozdělí kvartací a následnou kvartací na 16 dílčích vzorků. Z nejméně 12 těchto dílčích vzorků se odeberou vždy dva analytické vzorky (tedy nejméně 24 analytických vzorků) pro test homogenity. Pokud vzorek nevyhoví v testu homogenity, opakuje se celý postup homogenizace a pro nově odebrané analytické vzorky se provede nový test homogenity. Pokud ani tentokrát materiál nevyhoví, je z použití v MPZ ÚKZÚZ vyřazen.			
Pravidelně se rovněž testuje stabilita vzorků.			

Webové rozhraní WebApps pro organizaci programů MPZ

Pro všechny činnosti týkající se mezilaboratorního porovnání (předávání a vkládání výsledků od účastníků, statistické vyhodnocení, databáze vzorků se všemi analyzovanými parametry, databáze účastníků, přehled výsledkových zpráv, dlouhodobé vyhodnocení výsledků jednotlivých laboratoří atd.) se využívá webové rozhraní WebApps - počítačový program speciálně vytvořený pro účely MPZ ÚKZÚZ.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Přihlašování účastníků do programu na daný rok se provádí přes webové rozhraní, do kterého se stávající účastníci mohou dostat přímo z internetových stránek ÚKZÚZ (www.ukzuz.cz). Noví zájemci nejprve osloví poskytovatele (OMPZ NRL ÚKZÚZ), který je vyzve k vyplnění aktuálního formuláře přihlášky na daný kalendářní rok, který je k dispozici na internetu. Poskytovatel vloží údaje do databáze účastníků MPZ a poté nové laboratoři přidělí přihlašovací jméno (kódové číslo laboratoře) a heslo pro vstup do webového rozhraní WebApps. Na internetových stránkách je uveden odkaz „MPZ“ v sloupečku „Registry a aplikace“, kde se otevře přihlašovací stránka pro vložení přihlašovacího jména a hesla. V rámci MPZ ÚKZÚZ je zaručena úplná anonymita účastníků systémem číselného kódování. Přidělené kódové číslo je platné po celou dobu účasti laboratoře ve všech programech poskytovaných OMPZ ÚKZÚZ a slouží k předávání výsledků laboratoře poskytovateli MPZ ke statistickému vyhodnocení. Výsledky se vkládají po přihlášení laboratoře přes webové rozhraní do předem připravených tabulkových protokolů.

Každá laboratoř může stanovit libovolný počet hodnocených parametrů. Použitá varianta stanovení (mineralizace nebo extrakce a analytického stanovení) se uvádí formou šestimístního kódového označení ve výsledkovém protokolu. V rámci MPZ ÚKZÚZ se nevyhodnocují paralelní stanovení.

Statistické zpracování dat

Statistické zpracování výsledků od účastníků je prováděno přímo v programu webového rozhraní WebApps a nabízí volbu statistické metody dle charakteru dodaných dat.

Statistické zpracování výsledků provádí OMPZ zpravidla na základě konsenzu výsledků dodaných účastníky MPZ za použití robustních statistických metod, aby byl vyloučen vliv odlehklých výsledků na určení vztažné hodnoty.

Jako primární statistická metoda pro většinu programů MPZ ÚKZÚZ se používá robustní statistika - algoritmus A (dle ČSN ISO 13528 : 2017) s vyhodnocením robustního průměru x^* a robustní směrodatné odchylky s^* , pro malý počet účastníků (4 - 7) se používá hodnocení dle Hornova postupu.

Vztažná hodnota pro parametry MPZ ÚKZÚZ mykotoxiny se vypočítá dle algoritmu pro robustní analýzu (dle ČSN ISO 13528:2017) jako robustní průměr hodnot získaných od účastníků, kteří stanovení prováděli chromatografickými metodami. Hodnota směrodatné odchylky pro vypočtenou vztažnou hodnotu koncentrace se vypočítá dle Horwitzovy rovnice rovnice. Výsledky z diagnostických metody (ELISA, ROSA) jsou zpracovány u mykotoxinů

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Po statistickém zpracování výsledků je zpracována výsledková zpráva, která obsahuje stručné informace o programu, popis vzorků rozeslaných v dané periodě, abecední seznam účastníků, seznam kódů analytických metod, princip statistického vyhodnocení výsledků, kopii průvodního dopisu zaslaného společně se vzorky k danému MPZ ÚKZÚZ a případně další potřebné informace. Ve výsledkové části jsou uvedeny všechny zaslané výsledky včetně označení odlehklých výsledků a hodnoty ze statistického zpracování – výsledky robustní statistiky a hodnoty z-score doplněné o grafické vyjádření průběhu z- score. Tato výsledková zpráva ve formátu *PDF je umístěna na webové rozhraní do sekce výsledkové zprávy a účastníkům MPZ ÚKZÚZ, kteří se testu aktivně zúčastnili, tj. poskytli svoje výsledky.

Ve výsledkové zprávě jsou výsledky jednotlivých účastníků uvedeny pod čtyřmístným identifikačním číslem platným po celý kalendářní rok a pro všechna porovnání poskytovaná OMPZ ÚKZÚZ.

Organizace validačních studií

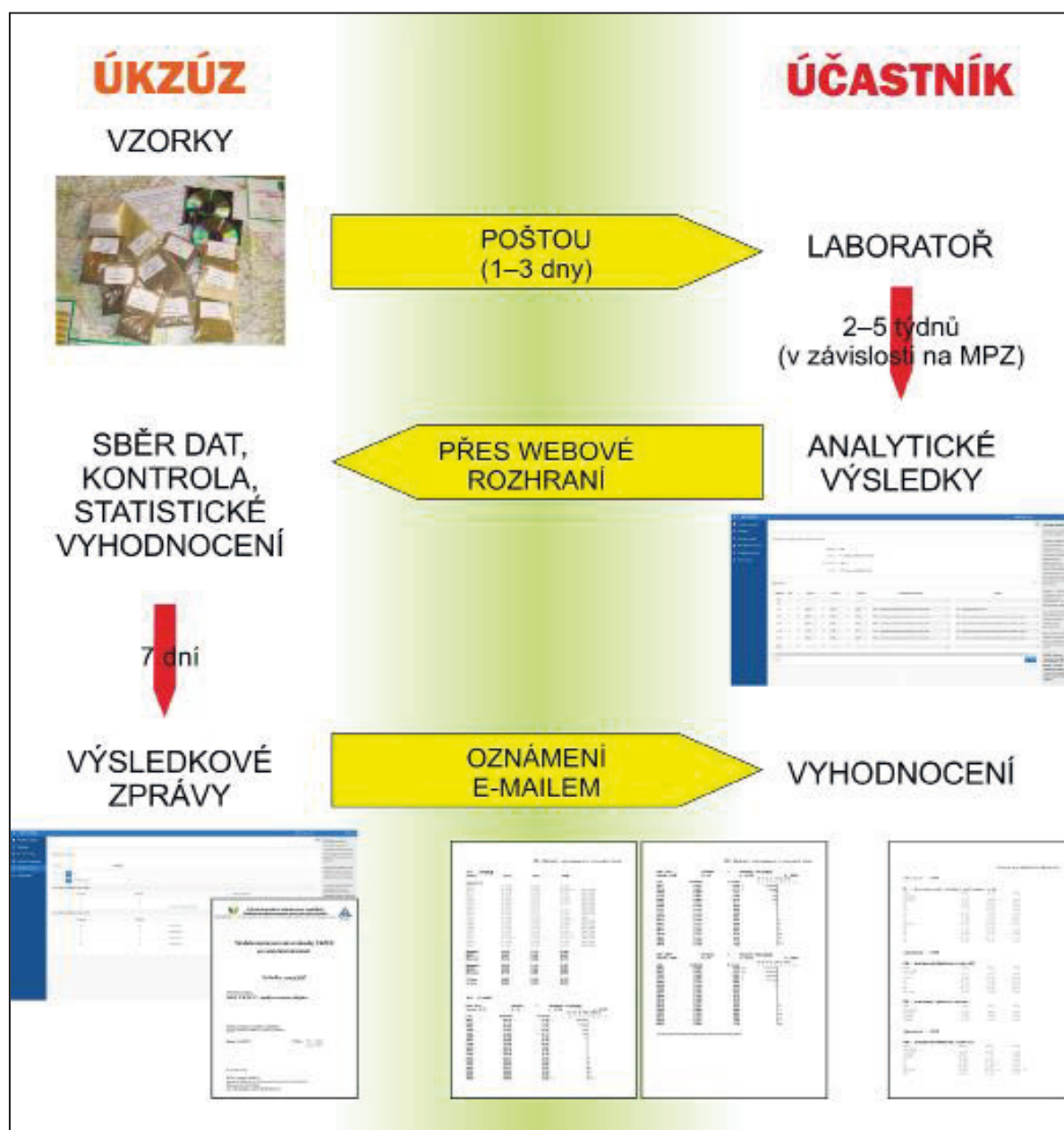
V souvislosti s aktivní účastí specialistů NRL ÚKZÚZ v technických a pracovních skupinách zahraničních normalizačních institucí a připomínkování návrhů a normotvorné činnosti, je pracoviště NRL OMPZ také významně zapojeno do organizace mezinárodních validačních studií.

Využívá se zkušeností s poskytováním programů zkoušení způsobilosti pro organizaci validačních studií za účelem ověřování evropských (CEN) a mezinárodních norem (ISO). Pro tuto další činnost OMPZ, je program webového rozhraní WebApps velmi vhodný a slouží zejména pro sběr výsledků od účastníků, statistické zpracování dat a vytvoření databáze kontaktů oslovených laboratoří, které jsou do validačních projektů zapojeny. Nedílnou součástí je i příprava, homogenizace, případně spikování zkušebních položek, balení, výběr poštovní služby a distribuce vzorků pro účastníky studií.

Na Obrázku 1 je znázorněn časový harmonogram MPZ ÚKZÚZ – analýza půd, kalů a sedimentů, rostlinného materiálu a krmiv. Pro ostatní MPZ platí vždy speciální časový harmonogram včetně zadání přesné doby na analýzu.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Obrázek 1. Časový harmonogram MPZ ÚKZÚZ v rámci jedné periody.



	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd II	Vydání	4
	Dodatek 7 – Mezilaboratorní porovnávací zkoušky ÚKZÚZ	Revize	0

Literatura

1. ČSN EN ISO/IEC 17043:2010 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti
2. Metodické pokyny pro akreditaci PA 20-01-08. Akreditace organizátorů programů zkoušení způsobilosti. ČIA Praha, 2008.
3. ISO/IEC Guide 43 (1,2), second edition. International Standard Organization, 1997.
4. ILAC – G13: 2007 – Guidelines for the Requirements for the Competence of Providers of Proficiency Testing Schemes.
5. V.G.J. Houba, J. Uittenbogaard, P. Pellen: Wageningen evaluating programmes for analytical laboratories (WEPAL), organization and purpose. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 1996, 27(3&4), 421–431.
6. ČSN ISO 13528:2017 Statistické metody používané při zkoušení způsobilosti mezilaboratorním porovnáním.
7. M. Meloun, J. Militký: Statistické zpracování experimentálních dat. EAST PUBLISHING Praha, 1998, str. 176–178.
8. M.A.J. van Montfort: Statistical remarks on round robin data of IPE & ISE. Wageningen Agricultural University, 1992.
9. Horn, P.S.: Some Easy Statistics. Journal of the American Statistical Association, December 1983, Volume 78, Number 384, Theory and Methods Section
10. Mezilaboratorní porovnávací zkoušky pro analytické laboratoře. ÚKZÚZ Brno 2015.

Kontakt

Adresa: ÚKZÚZ, NRL-OMPZ, Hroznová 2, 656 06 Brno

Tel. 543 548 220

E-mail: mpz@ukzuz.cz

Kontaktní osoba:

Mgr. Martin Váňa, vedoucí Oddělení mezilaboratorních porovnávacích zkoušek

Jednotné pracovní postupy – ANALÝZA PŮD II

Vydání čtvrté, rozšířené a přepracované

Vydal: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno v roce 2019

Autoři: Jiří Zbíral a kol.

Odpovědný redaktor: Jiří Zbíral

Počet výtisků: 150

Počet stran: 221

Tisk: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
Hroznová 2, 656 06 Brno
Tel. 543 548 111

e-mail: ukzuz@ukzuz.cz

Texty neprošly jazykovou úpravou.

ISBN 978-80-7401-172-6