

Národní referenční laboratoř

Bulletin 2019

Ročník XXIII, číslo 3/2019

Brno 2019

- 1 Vytvoření nového postupu pro stanovení obsahu celkového selenu metodou ICP-OES v minerálních krmivech a premixech.**
Helena Holcová, Jaroslav Kroutil
spolupráce: ONRL Brno; Eva Čižmárová, Eva Fojtlová
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ONRL Opava
Jaselská 16, 746 23 Opava 1

- 2 Převedení stanovení persistentních organických polutantů na nový GC-MS/MS systém**
Petra Kosubová, Marta Seifertová
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ONRL Brno
Hroznová 2, 656 06 Brno 10

- 3 Verifikace postupu a tvorba JPP pro stanovení obsahu inhibitoru nitrifikace DMPSA v hnojivech metodou HPLC**
Eva Čurdová, Ladislava Benešová
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, OdNRL Praha
Za Opravnou 4, 150 06 Praha 5-Motol 15

- 4 Stanovení barevného kvocientu Q4/Q6**
David Čižmár, Elena Obdržálková
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ONRL Brno
Hroznová 2, 656 06 Brno 26

Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

Vytvoření nového postupu pro stanovení obsahu celkového selenu metodou ICP–OES v minerálních krmivech a premixech.

Helena Holcová, Jaroslav Kroutil

1 Úvod

Selen je důležitým prvkem ve výživě zvířat, který má blahodárný vliv na jejich zdraví, spolu s vitamínem E se podílí na odstraňování volných radikálů z buněk, má velmi dobré antioxidační účinky, má vliv na kardiovaskulární systém, pozitivně působí na plodnost a je spojen se svalovou činností zvířat. Se je charakterizován jako doplňková látka v krmivech a obsah Se je sledován v rámci úřední kontroly krmiv z hlediska dodržování maximálních limitů a dodržování deklarovaných obsahů výrobcem.

Obsah selenu v minerálních krmivech a premixech se v ONRL Opava stanovuje metodou AAS-HG, v ONRL Brno se stanovuje metodou ICP-MS. Pro vysoké obsahy selenu, které jsou stanovovány v minerálních krmivech a premixech, nejsou tyto citlivé optické analytické metody příliš vhodné, mineralizáty se musí často mnohonásobně ředit, čímž se do tohoto stanovení může vnést významná chyba. Zařízení na generování hydridů, které je používáno v laboratoři ONRL Opava, je zastaralé. Citlivost ICP-OES spektrometru je obvykle dostatečná pro stanovení obsahu selenu v minerálních krmivech a v premixech. Při zachování stávajícího způsobu mineralizace byl vytvořen a validován nový pracovní postup pro stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES.

Pro stanovení nízkých obsahů selenu v krmných směsích se používají citlivé analytické metody např. HG-AAS nebo ICP-MS. Pro stanovení vyšších obsahů je dostačující metoda ICP-OES. Cílem vývojového úkolu bylo na základě měření vybraného souboru vzorků minerálních krmiv a premixů s různými obsahy selenu, které byly mineralizovány podle JPP ZK, postup 10280.1 – Stanovení obsahu selenu metodou AAS-HG a postupem č. 10290.1 – Stanovení obsahu selenu metodou ICP-MS, zpracovat postup měření selenu metodou ICP-OES a tento postup validovat.

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Kyselina dusičná, koncentrovaná, HNO_3 , 65% (m/m).
- 2 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 3 Kyselina sírová, koncentrovaná, H_2SO_4 , 96% (m/m).
- 4 Peroxid vodíku, H_2O_2 , 30% (m/m).
- 5 Základní standardní roztok selenu o koncentraci $c = 1000 \text{ mg/l}$. Dodává se komerčně od ověřeného výrobce, např. Analytika s.r.o. Praha.
- 6 Argon, čistota 4.8 nebo vyšší.

3.2 Přístroje a pomůcky

- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem, případně vybavený zvlhčovačem argonu nebo atomový absorpční spektrofotometr se zařízením na generování hydridů
- 2 Mineralizační zařízení s programátorem teploty a zpětnými vodními chladiči.
- 3 Laboratorní ultraodstředivý mlýn, síta o velikosti ok 0,12 mm, případně 0,5 mm.
- 4 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 5 Automatické dávkovače, (1 – 10) ml.
- 6 Plastové lahvičky, 50 ml nebo 100 ml.
- 7 Filtrační papír střední hustoty.
- 8 Skleněné odměrné baňky se zátkami, (50 – 100) ml.
- 9 Automatické pipety s volitelným objemem (100 – 5000) μl .

3.3 Postup

3.3.1 Příprava vzorku

Vzorek se umele na laboratorním mlýnku s použitím síta 0,12 mm. Pokud to charakter vzorku nedovoluje, použije se síto s velikostí ok 0,5 mm.

3.4 Mineralizace vzorku

3.4.1 Rozklad na mokré cestě v mineralizačním bloku

Do mineralizační trubice se naváží asi 2 g vzorku s přesností 0,0001 g. Do trubice se opatrně pomocí dávkovače přidá 10 ml kyseliny dusičné (1), trubice se umístí do mineralizačního bloku a nasadí se zpětný chladič a vzorky se nechají alespoň 16 h. Potom se směs zahřívá pod zpětným chladičem v mineralizačním bloku postupným nárůstem teplot: 10 min při 100 °C, 10 min při 140 °C a 90 min při 175 °C.

Po ochlazení směsi se opatrně přidají pomocí dávkovače 2 ml kyseliny dusičné (1) a 1 ml kyseliny sírové (3). Směs se opatrně zahřívá pod zpětným chladičem 60 min při teplotě 175 °C. Po ochlazení se po kapkách přidají (3 ± 1) ml peroxidu vodíku (4) a směs se zahřívá 10 min při 140 °C. Po ochlazení se obsah trubice kvantitativně převede přes filtrační papír do 50ml odměrné baňky. Po vytemperování se doplní vodou (2) po značku a promíchá se. Stejným způsobem se připraví slepý pokus bez navážky vzorku.

3.5 Příprava standardních kalibračních roztoků selenu

Pro stanovení obsahu selenu se používá externí kalibrace. Kalibrační standardy se připraví vhodným naředěním základního standardního roztoku selenu o koncentraci 1000 mg/l (5).

5 ml základního standardního roztoku selenu (5) se pipetuje do 50ml odměrné kalibrované skleněné baňky, přidá se 1 ml kyseliny dusičné (1) a doplní se po značku vodou (2). Připravený pracovní roztok S1 obsahuje koncentraci selenu 100 mg/l.

Z takto připraveného pracovního roztoku S1 o koncentraci selenu 100 mg/l se do sady 100ml skleněných kalibrovaných odměrných baněk pipetuje (0; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0) ml, do každé baňky se přidá 1 ml kyseliny dusičné (1) a baňky se doplní po značku vodou (2). Stejným způsobem se připraví nulový kalibrační roztok o koncentraci selenu 0 mg/l bez pipetování pracovního roztoku S1. Připravené kalibrační roztoky obsahují koncentrace selenu (0; 0,2; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0) mg/l.

Tabulka 1. Příprava standardních kalibračních roztoků selenu pro přípravu kalibrační křivky.

Koncentrace Se v kalibračních bodech (mg/l)	Pipetovaný objem (ml) pracovního roztoku S1 (100 mg/l) do 100ml odměrných baněk
0	0
0,2	0,2
0,5	0,5
1,0	1,0
5,0	5,0
10,0	10,0

3.6 Měření metodou ICP-OES

Přístroj se nastaví podle doporučení výrobce. Pro každý přístroj je třeba optimalizovat zejména průtoky plynů, optimální výšku pozorování, výkon plazmy, výběr vhodné vlnové délky a odečet pozadí. Tyto parametry mohou významně ovlivnit míru možných interferencí při měření.

Obsah selenu se měří na vlnové délce atomové čáry 196,090 nm.

Tabulka 2. Podmínky měření pro simultánní ICP-OES spektrometr SpectroBlue (SPECTRO, Německo) s radiálním uspořádáním plazmatu – příklad nastavení.

Typ zmlžovače	Crossflow
Výkon plazmatu	1400 W
Průtok chladicího plynu Ar	14,50 l/min
Průtok pomocného plynu Ar	1 l/min
Průtok Ar ve zmlžovači	1 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	30 ot/min (rychlý mód 63 ot/min)
Promývací čas vzorku	40 s celkem (rychlý mód 10 s, normální mód 30 s)
Strategie integrace signálu	standard mode 3 × 36 s

Tabulka 3. Podmínky měření pro simultánní ICP-OES spektrometr Agilent 5100 s radiálním uspořádáním plazmatu – příklad nastavení.

Typ zmlžovače	Koncentrický zn. Meinhard
Výkon plazmatu	1200 W
Průtok chladicího plynu Ar	12 l/min
Průtok pomocného plynu Ar	1 l/min
Průtok Ar ve zmlžovači	0,7 l/min
Otáčky peristaltické pumpy	12 ot/min (rychlý mód 80 ot/min)
Promývací čas vzorku	20 s celkem
Strategie integrace signálu	Radiál 3 × 5 s

ICP-OES spektrometr snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar a pozadí v jejich spektrálním okolí. Je potřeba nastavit polohu odečtu pozadí, které se řídí vzhledem samotného píku analytu a jeho okolí. Odečet píku analytu a jeho pozadí se upraví pro kalibrační standardní roztoky. Poté se vyladí pro reálné vzorky, u kterých bývá obvykle pík analytu

významně ovlivněn matricí vzorku.

Po teplotní stabilizaci plazmatu se přístroj kalibruje s použitím připravené sady kalibračních standardů postupným měřením jednotlivých roztoků s rostoucí koncentrací selenu. Kalibrační křivka je zpravidla v celém koncentračním rozsahu lineární.

Mineralizáty vzorků se měří obvykle přímo bez ředění. Při překročení rozsahu kalibrační křivky se mineralizáty vzorků ředí matricí použitých kyselin při mineralizaci vzorků.

3.7 Výběr vzorků a mineralizace

Byly vybrány vzorky minerálních krmiv a premixů s různými obsahy selenu. Obsahy selenu se pohybují v rozmezí 9,68 - 98,0 mg/kg. Jako koncentračně extrémně vysoké vzorky byly vybrány 2 vzorky premixů s deklarovanou hodnotou obsahu selenu 600 a 30 000 mg/kg.

Vybrané vzorky byly mineralizovány v laboratořích podle JPP ZK postup č. 10280.1, paralelně ve várkách současně se vzorkem minerálního krmiva IRM 1001 (interní referenční materiál) a 1-2 slepými pokusy.

3.8 Měření

Obsahy selenu byly v mineralizátech měřeny na ICP – OES spektrometru SpectroBlue s radiálním uspořádáním plazmatu, na ICP – OES spektrometru Agilent 5100 s radiálním uspořádáním plazmatu a pro převod metody z AAS – HG na ICP – OES byly obsahy selenu v mineralizátech měřeny dle JPP ZK, postup č. 10280.1 - Stanovení selenu metodou AAS – HG na přístroji Varian 200 s použitím zařízení na generování hydridů firmy Labtech. Výsledky měření obsahu selenu jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4. Výsledky obsahů selenu naměřené na jednotlivých přístrojích.

Označení vzorku	Se mg/kg ICP-OES Agilent 5100	Se mg/kg ICP-OES SpectroBlue	Se mg/kg AAS-HG Varian 200
SL.1 V. 509	0,145	0,228	-0,0158
SL2 V. 509	0,088	0,088	-0,03
SL1 V. 575	0,215	0,185	-0,038
SL2 V. 575	0,393	0,065	-0,145
SL1 V. 582	0,248	0,148	-0,109
SL2 V. 582	0,398	0,103	-0,142

IRM 1001/1 V. 509	33,75	36,89	35,03
IRM 1001/2 V. 509	34,17	36,96	35,25
IRM 1001/1 V. 575	33,92	35,34	35,92
IRM 1001/2 V. 575	35,11	37,18	36,35
IRM 1001/1 V. 582	34,90	36,35	39,7
IRM 1001/2 V. 582	34,69	36,22	34,62
1374/1 V. 509	26,08	28,73	25,02
1374/2 V. 509	27,53	31,38	25,13
1357/1 V. 509	41,26	50,43	41,07
1357/2 V. 509	41,29	49,42	40,07
1368/1 V. 509	87,38	95,04	91,85
1368/2 V. 509	91,16	97,815	87,37
200/1375/1 V. 509	23255	22194	21077
200/1375/2 V. 509	22358	21283	24275
1580/1 V. 575	29,37	31,57	28,75
1580/2 V. 575	30,34	32,86	30,22
1582/1 V. 575	71,14	71,67	79,22
1582/2 V. 575	67,32	69,61	69,4
1595/1 V. 582	8,41	9,674	nestanoveno
1595/2 V. 582	9,68	10,49	nestanoveno
1597/1 V. 582	23,74	25,75	25,64
1597/2 V. 582	23,57	25,06	24,52
10/1598/1 V. 582	648	644	603
10/1598/2 V. 582	667	634	620

4 Validační parametry

Všechny validační parametry byly vypočteny a zpracovány softwarem EffiValidation 3.0.

4.1 T – test na správnost výsledků

Byly porovnávány naměřené výsledky obsahu selenu stejnou metodou na ICP-OES Spectro – Blue a na ICP – OES Agilent 5100.

Závěr: Srovnávané analytické metody poskytují statisticky stejné výsledky.

Dále byly porovnávány naměřené výsledky obsahu selenu metodou ICP OES na přístroji Agilent 5100 a metodou AAS – HG na přístroji Varian 200.

Závěr: Srovnávané analytické metody poskytují statisticky stejné výsledky.

4.2 Opakovatelnost z paralelních stanovení

Pro výpočet opakovatelnosti stanovení byly výsledky naměřených obsahů selenu rozděleny do dvou koncentračních hladin: < 50 mg/kg a > 50 mg/kg. Vypočtené a upravené opakovatelnosti jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Vypočtené a upravené opakovatelnosti.

Vypočtená opakovatelnost pro obsah Se < 50 mg/kg	Vypočtená opakovatelnost pro obsah Se > 50 mg/kg	Upravená opakovatelnost pro obsah Se < 50 mg/kg	Upravená opakovatelnost pro obsah Se > 50 mg/kg
5,37 %	2,15 %	10 %	7,5 %

4.3 Nejistota měření z paralelních stanovení

Pro výpočet nejistoty měření byly výsledky naměřených obsahů selenu rozděleny do dvou koncentračních hladin: <50 mg/kg a >50 mg/kg. Vypočtené a upravené nejistoty jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6. Vypočtené a upravené nejistoty.

Vypočtená nejistota pro obsah Se <50 mg/kg	Vypočtená nejistota pro obsah Se >50 mg/kg	Upravená nejistota pro obsah Se <50 mg/kg	Upravená nejistota pro obsah Se >50 mg/kg
10,53 %	4,21 %	15 %	10 %

4.4 Mez stanovitelnosti

Mez detekce a mez stanovitelnosti byla vypočtena z naměřených hodnot slepých pokusů.

Mez detekce: 0,389 mg/kg

Mez stanovitelnosti: 0,890 mg/kg

Upravená mez stanovitelnosti: 1 mg/kg

4.5 Správnost měření

Správnost měření byla ověřena měřením referenčního materiálu se známým obsahem selenu. Byl použit vzorek minerálního krmiva pro výkrm prasat MK A2 Super IRM – 1302, který prošel MPZ ÚKZÚZ Brno, rok 2013, perioda 2. Vzorek byl mineralizován v šesti navážkách. Výsledky naměřených obsahů selenu jsou uvedeny v tabulce 7.

Jako další ověření správnosti měření byla účast v MPZ ALVA Krmiva 2018. Vzorek č.1. byl mineralizován ve čtyřech navážkách.

Výsledky z účasti v MPZ ALVA jsou uvedeny v tabulce 8.

Tabulka 7. Výsledky obsahů selenu IRM 1302.

Označení vzorku	Se mg/kg ICP- OES Agilent 5100
IRM 1302-1	9,55
IRM 1302-2	8,02
IRM 1302-3	8,59
IRM 1302-4	8,7
IRM 1302-5	8,68
IRM 1302-6	8,8
Referenční hodnota	8,42
Referenční přesnost	0,98

Závěr: Analytická metoda poskytuje pro použitý referenční materiál správné výsledky.

Tabulka 8. Výsledky obsahů selenu v MPZ ALVA.

Vzorek	Se mg/kg ICP- OES SpectroBlue	Se mg/kg ICP- OES SpectroBlue	Se mg/kg ICP- OES SpectroBlue	Se mg/kg ICP- OES SpectroBlue	Median ICP- OES SpectroBlue	Median (ALVA)	Zscore (ALVA)
1	60,1	62,0	60,4	60,7	60,6	63,1	-0,43

Závěr: Výsledky laboratoře vyhovují vyhodnocení poskytovatelů MPZ.

4 Závěr

Na souboru vzorků minerálních krmiv a premixů s různými obsahy selenu byla potvrzena dostatečná citlivost metody ICP-OES pro stanovení selenu v těchto vzorcích. Byly splněny všechny požadavky na validační parametry. Na základě statistického zpracování výsledků naměřených obsahů selenu je metoda ICP-OES vhodná pro stanovení selenu v minerálních krmivech a premixech a postup č. 10282.1 Stanovení obsahu selenu metodou ICP-OES je zařazen do Jednotných pracovních postupů ÚKZÚZ – zkoušení krmiv.

5 Literatura

1. JPP ÚKZÚZ – Zkoušení krmiv.
2. Návod k obsluze ICP-OES spektrometru SpectroBlue.
3. Návod k obsluze ICP-OES spektrometru Agilent 5100.

Převedení stanovení persistentních organických polutantů na nový GC-MS/MS systém

Petra Kosubová, Marta Seifertová

1 Úvod

Analýza persistentních organických polutantů se prováděla na ÚKZÚZ od roku 2008 s využitím systému Trace GC Ultra spojeným s MS ITQ 1100 od firmy Thermo Scientific, který byl počátkem roku 2017 nahrazen novým systémem, plynovým chromatografem Trace 1310 spojeným s hmotnostním spektrometrem TSQ 8000 Evo (Thermo Scientific). Cílem práce bylo převedení stávajících metod na nový systém a jeho ověření analýzou referenčních materiálů a účastí v testech způsobilosti.

Systém GC-MS ITQ 1100 je vybaven hmotnostním analyzátozem typu iontová past a umožňuje identifikaci zkoumané látky pomocí opakované fragmentace. V roce 2017 byla zmiňovaná instrumentace nahrazena systémem GC-MS TSQ 8000 Evo s trojnásobným kvadrupólovým analyzátozem, který pracuje v režimu tandemové MS/MS a umožňuje velice selektivní způsob detekce označovaný jako MRM (multiple reaction monitoring), tj. sledování vybraných iontů vzniklých při sekundární fragmentaci v kolizní cele. Uvedený měřicí mód je určený pro stopovou kvantitativní analýzu a je rutinně využíván při stanovení reziduí pesticidních látek, organických polutantů a dalších látek v komplexních maticích jakými jsou krmiva, rostliny, půdy, kaly, aj.

Ověření správnosti funkce tohoto nového přístroje bylo provedeno pomocí analýzy referenčních materiálů IRM-776 (sediment), CRM-115 (krmivo) obsahující rezidua polychlorovaných bifenyly (PCB) a organochlorových pesticidů (OCP) a dále SRM-2585 (domovní prach) s certifikovanými obsahy polybromovaných difenyletherů (PBDE) a dalších POP. Zároveň byly pomocí tohoto systému analyzovány vzorky sedimentů dodané v rámci testu způsobilosti SETOC 2017/1 na obsah polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH).

3 Praktická část

3.1 Materiál a metody

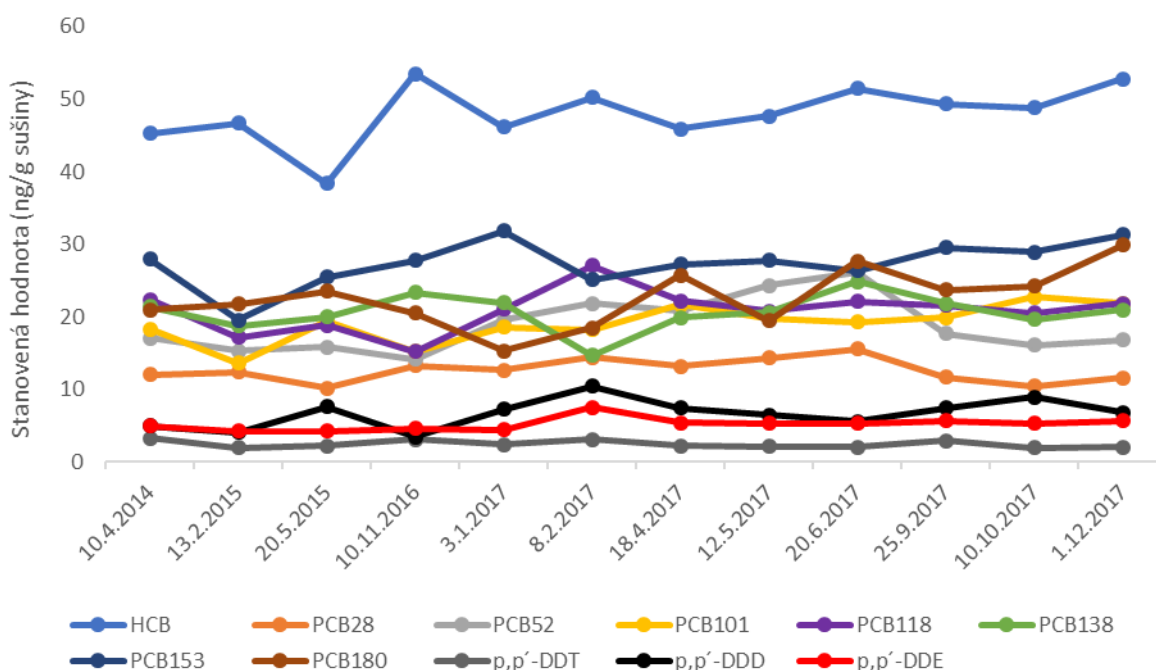
Standards, chemikálie, laboratorní pomůcky a vybavení pro přípravu vzorků, postupy přípravy vzorku, přístrojové vybavení a podmínky pro koncové stanovení jsou uvedeny v příslušných JPP ÚKZÚZ, postup č. 10580.1, 10590.1 a JJP ÚKZÚZ, Analýza půd II kap.

4.3 a 4.4 (PCB, OCP), kap. 4.5 (PBDE) a kap. 4.2 (PAH). V rámci VÚ byl použit GC-MS/MS systém s detektorem: ITQ 1100 vybavený kolonou DB-XLB (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) a TSQ 8000 Evo podle typu analytů vybavený dvěma kolonami DB-XLB (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) a DB-5MS (15 m × 0,25 mm × 0,10 µm).

3.2 Výsledky a diskuse

3.2.1 Ověření pomocí IRM-776

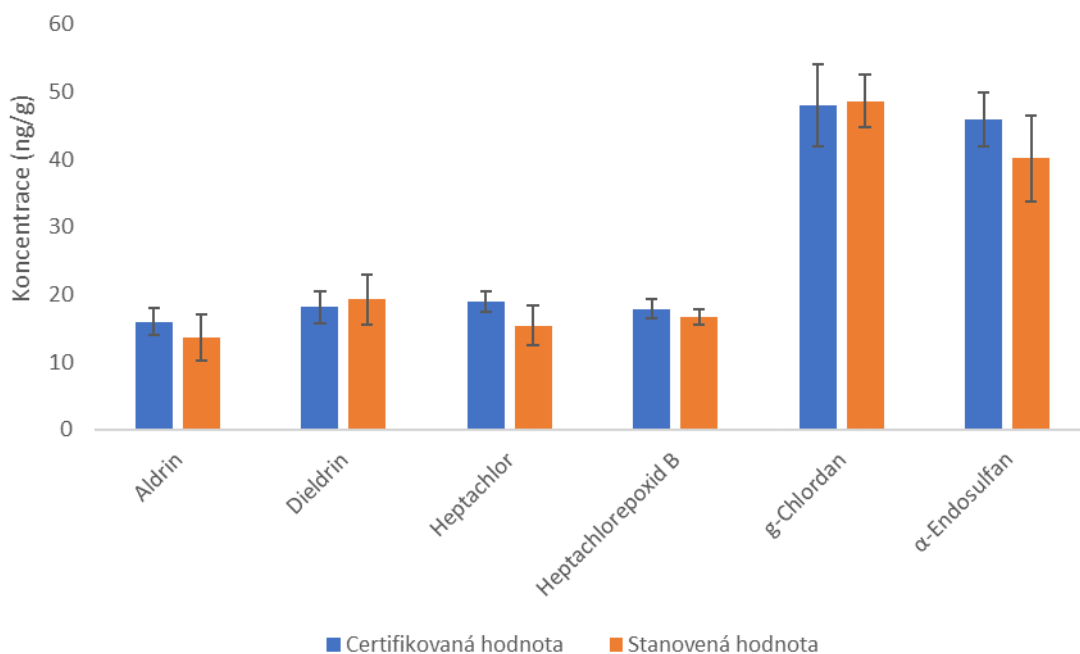
Vzorek sedimentu dodaný do laboratoře v rámci testu způsobilosti SETOC (WEPAL – Wageningen Evaluating Programmes for Analytical Laboratories), je využíván jako interní referenční materiál s obsahem reziduí polychlorovaných bifenylnů a organochlorových pesticidů. Na Obr. 1 je uveden graf znázorňující stanovené hodnoty (ng/g sušiny) PCB a OCP obsažených v IRM-776, které byly získány pomocí původního přístroje GC-MS ITQ 1100 v letech 2014-2016 a nového systému GC-MS TSQ 8000 Evo používaného od roku 2017. Všechny naměřené hodnoty koncentrace jednotlivých analytů nepřesahují horní ani dolní regulační mez v konkrétním regulačním diagramu. Na základě těchto výsledků lze usoudit, že soubor naměřených hodnot koncentrací jednotlivých analyzovaných látek v IRM-776 tvoří stabilní systém, který nebyl ovlivněn ani změnou měřicího zařízení.



Obrázek 1. Graf znázorňující hodnoty (ng/g sušiny) PCB a OCP obsažených v IRM-776 naměřené pomocí GC-MS ITQ 1100 v letech 2014-2016 a GC-MS TSQ 8000 Evo v r. 2017.

3.2.2 Ověření pomocí CRM-115

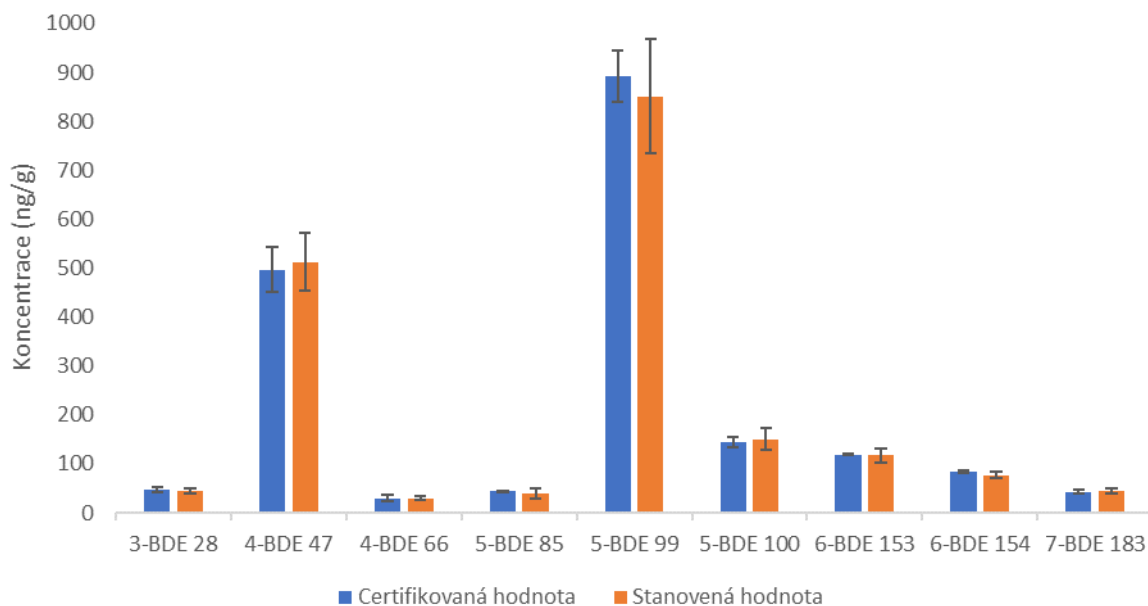
Převodní měřicí metody pro stanovení organochlorových pesticidů bylo ověřeno analýzou certifikovaného referenčního materiálu CRM-115. Výsledky testu ukázaly, že GC-MS systém TSQ 8000 Evo je plně funkční a splňuje požadavky pro poskytování správných výsledků (viz Obr. 2). Shoda (výťažnost) stanovené koncentrace s certifikovanou hodnotou koncentrace organochlorových pesticidů v CRM-115 je průměrně 92%.



Obrázek 2. Graf znázorňující shodu stanovené koncentrace pomocí GC-MS TSQ 8000 Evo s certifikovanou hodnotou koncentrace organochlorových pesticidů v CRM-115.

3.2.3 Ověření pomocí SRM-2585

Převodní měřicí metody pro stanovení PBDE bylo ověřeno analýzou certifikovaného referenčního materiálu SRM-2585. Výsledky testu ukázaly, že GC-MS systém TSQ 8000 Evo je plně funkční a splňuje požadavky pro poskytování správných výsledků (viz. Obr. 3). Shoda (výťažnost) stanovené koncentrace s certifikovanou hodnotou koncentrace PBDE v SRM-2585 je průměrně 98 %.



Obrázek 3. Graf znázorňující shodu stanovené koncentrace pomocí GC-MS TSQ 8000 Evo s certifikovanou hodnotou koncentrace PBDE v SRM-2585.

3.2.4 Účast v mezinárodním testu způsobilosti SETOC 2017/1

Příprava vzorků sedimentů k analýze byla provedena standardním postupem zahrnujícím Soxhletovu extrakci horkým rozpouštědlem pomocí Buchi B-811 a frakcionaci na silikagelové kolonce. Extrakty byly měřeny pomocí GC-MS systému TSQ 8000 Evo v MRM módu a kvantifikace byla provedena s využitím isotopově značených PAH. Získané výsledky poskytovaly vyhovující z-skóre v rozsahu -1,3 až 0,9 (Tab. 1).

Tabulka 1. Hodnocení výsledků (z-skóre) stanovení PAH pomocí GC-MS TSQ 8000 Evo ve 4 vzorcích sedimentů v rámci SETOC 2017/1.

	1	2	3	4
acenaphthene	0,4	-0,7	-0,4	-1,0
acenaphthylene	-0,7	-0,6	-0,7	-0,9
anthracene	0,2	-1,0	-0,2	-0,2
benz(a)anthracene	-0,4	-0,8	-0,9	-0,2
benzo(a)pyrene	0,8	-0,2	0,2	0,3
benzo(b)fluoranthene	-0,9	-0,8	-1,3	-0,4
benzo(ghi)perylene	0,3	0,2	0,1	0,8
benzo(k)fluoranthene	-0,8	-0,9	-0,7	-0,1
chrysene	-0,4	-0,2	-0,8	0,2
dibenz(ah)anthracene	-0,1	-0,2	-0,4	0
fluoranthene	-1,0	-0,9	-1,0	-0,1
fluorene	0,5	-0,1	0,1	-0,1
indeno(1,2,3-cd)pyrene	-0,1	-0,3	-0,2	0,3
naphthalene	0,2	0,9	-0,0	0,6
phenanthrene	-0,3	-0,7	-0,8	0,1
pyrene	-0,6	-0,6	-1,2	-0,3

4 Závěr

V roce 2017 bylo úspěšně provedeno navázání nového systému Trace 1310 GC s hmotnostním spektrometrem TSQ 8000 Evo do vybraných akreditovaných zkoušek založených na měření analytů v MRM módu, tj. AZ 330 (stanovení PCB a OCP), AZ 340 (stanovení PBDE) a AZ 335 (stanovení PAH).

Literatura

1. JPP ÚKZÚZ, postup č. 10580.1: Stanovení polychlorovaných bifenyly (PCB) metodou GC-MS/MS
2. JPP ÚKZÚZ, postup č. 10590.1: Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) metodou GC-MS/MS
3. JPP ÚKZÚZ, Analýza půd II, Jiří Zbíral a kol., Brno, 2011.
4. SETOC, International sediment exchange for tests on organic contaminants, quarterly report 2017.1, January-March

Verifikace postupu a tvorba JPP pro stanovení obsahu inhibitoru nitrifikace DMPSA v hnojivech metodou HPLC

Eva Čurdová, Ladislava Benešová

1 Úvod

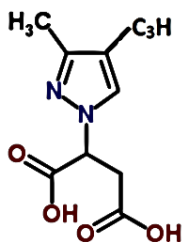
Z Oddělení hnojiv byl vznesen požadavek na stanovení obsahu nitrifikačního inhibitoru 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (DMPSA) metodou HPLC v hnojivech, kam je tento inhibitor dávkován.

Jako vhodný způsob pro stanovení DMPSA byl zvolen postup extrakce vzorku hnojiva s následným stanovením analytu metodou RP-HPLC s UV detekcí. Byl vypracován JPP ÚKZÚZ, postup č. 10274.1, který byl ověřen a validován.

V současné době jsou zemědělské postupy založeny na používání dusíkatých hnojiv, které mohou vést k environmentálním ztrátám. Tyto ztráty mohou nastat jako emise oxidu dusného (N_2O) v důsledku mikrobiálních procesů nitrifikace a denitrifikace. N_2O společně s oxidem uhličitým (CO_2) a metanem (CH_4) jsou nejsilnější skleníkové plyny (GHG) spojené se zemědělskými půdami. Byly vyvinuty inhibitory nitrifikace (NI) s cílem snížit ztráty dusíku (N) a zvýšit účinnost hnojiv. Jedním z nejčastěji používaných NI je 3,4-dimethylpyrazol-fosfát (DMPP), který se ukázal být velmi vhodným i pro doporučený postup ke zmírnění emisí skleníkových plynů při zachování výnosu plodin. V poslední době byl vyvinut další nový inhibitor nitrifikace, 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (DMPSA) jako vhodná alternativa k DMPP (JPP ÚKZÚZ 10273.1). Tento nový inhibitor nitrifikace DMPSA snižuje emise N_2O na úroveň neošetřeného kontrolního stanoviště (síranem amonným), současně poskytuje stejný výtěžek plodin z pole. DMPSA projevuje stejné chování jako DMPP ve vztahu k tokům N_2O , stejně jako výnosu a kvalitě pšenice¹.

Cílem tohoto vývojového úkolu bylo verifikovat navržený analytický postup stanovení DMPSA (Obr. 1) metodou HPLC.

Obrázek 1. Chemický vzorec 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (DMPSA).



3 Materiál a metody

3.1 Princip metody

Obsah DMPSA se stanoví ve vzorku po rozpuštění či extrakci vodou metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) na reverzní fázi s použitím UV detekce (RP-HPLC/ UV).

3.2 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda, čistota HPLC.
- 2 Acetonitril, čistota HPLC.
- 3 Kyselina fosforečná, čistota p.a 85%.
- 4 Standard DMPSA, $C_9H_{12}N_2O_4$, $M_r = 212,205$ (čistota > 99%).
- 5 Mobilní fáze.

Příprava MF: V odměrné baňce se smíchá 900ml vody (1) a 100ml acetonitrilu (2) a přidá se 1ml kyseliny fosforečné (3). Roztok se odvzdušní na ultrazvukové lázni.

- 6 Základní standardní roztok (ZSR) DMPSA, $c(\text{DMPSA})=100\text{mg/l}$

Příprava: Do 1000ml odměrné baňky se s přesností 0,1 mg naváží 100 mg DMPSA (4) a rozpustí se ve vodě (1). Roztok se připravuje vždy čerstvý.

3.3 Přístroje a pomůcky

- 1 HPLC zařízení pro práci v izokratickém režimu a UV detektorem.
- 2 Analytické váhy s přesností 0,1mg.
- 3 Automatická pipeta v potřebném rozsahu.
- 4 Membránový filtr 0,45 μm .
- 5 Magnetická míchačka.
- 6 RP-HPLC separační kolona Phenomenex, LUNA C18; 5 μm ; 250x4,6 mm nebo podobná.

4 Pracovní postup

4.1 Příprava extraktu

Do 1000ml odměrné baňky se naváží asi 30 g zhomogenizovaného vzorku s přesností 0,1 mg. Přidá se asi 900 ml vody (1), vzorek se rozpouští na magnetické míchačce při laboratorní teplotě a poté doplní po značku vodou (1). Část extraktu se přefiltruje přes skládaný papírový filtr do vhodné skleněné nádoby. Vzorek se vhodně zředí vodou (1) tak, aby byl předpokládaný obsah DMPSA v rozsahu kalibrační křivky (5 – 50) mg/l. Před nástřikem na kolonu se vzorek ještě přefiltruje přes membránový filtr 0,45 μm .

4.2 Chromatografické stanovení

Obsah DMPSA se stanoví metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi s použitím UV detekce.

Kalibrace

Příprava kalibračních roztoků

Do sady 100ml odměrných baněk se pipetuje ZSR (6) podle tabulky č. 1, doplní se po značku vodou (1) a důkladně se promíchá. Roztoky se připravují vždy čerstvé.

Tabulka 1. Příprava kalibračních roztoků pro DMPSA.

Kalibrační bod	Objem základního standardního roztoku (6) (ml)	c(DMPSA) (mg/l)
1	5	5
2	10	10
3	25	25
4	50	50

Sada kalibračních roztoků odpovídá koncentraci DMPSA 5; 10; 25 a 50 mg/l. Kalibrační roztoky se postupně dávkuje na chromatografickou kolonu. Z hodnot ploch píků, odpovídajících jednotlivým kalibračním roztokům, se sestrojí kalibrační křivka.

Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č.2.

Tabulka 2. Vstupní data - Kalibrační křivka pro DMPSA v hnojivu.

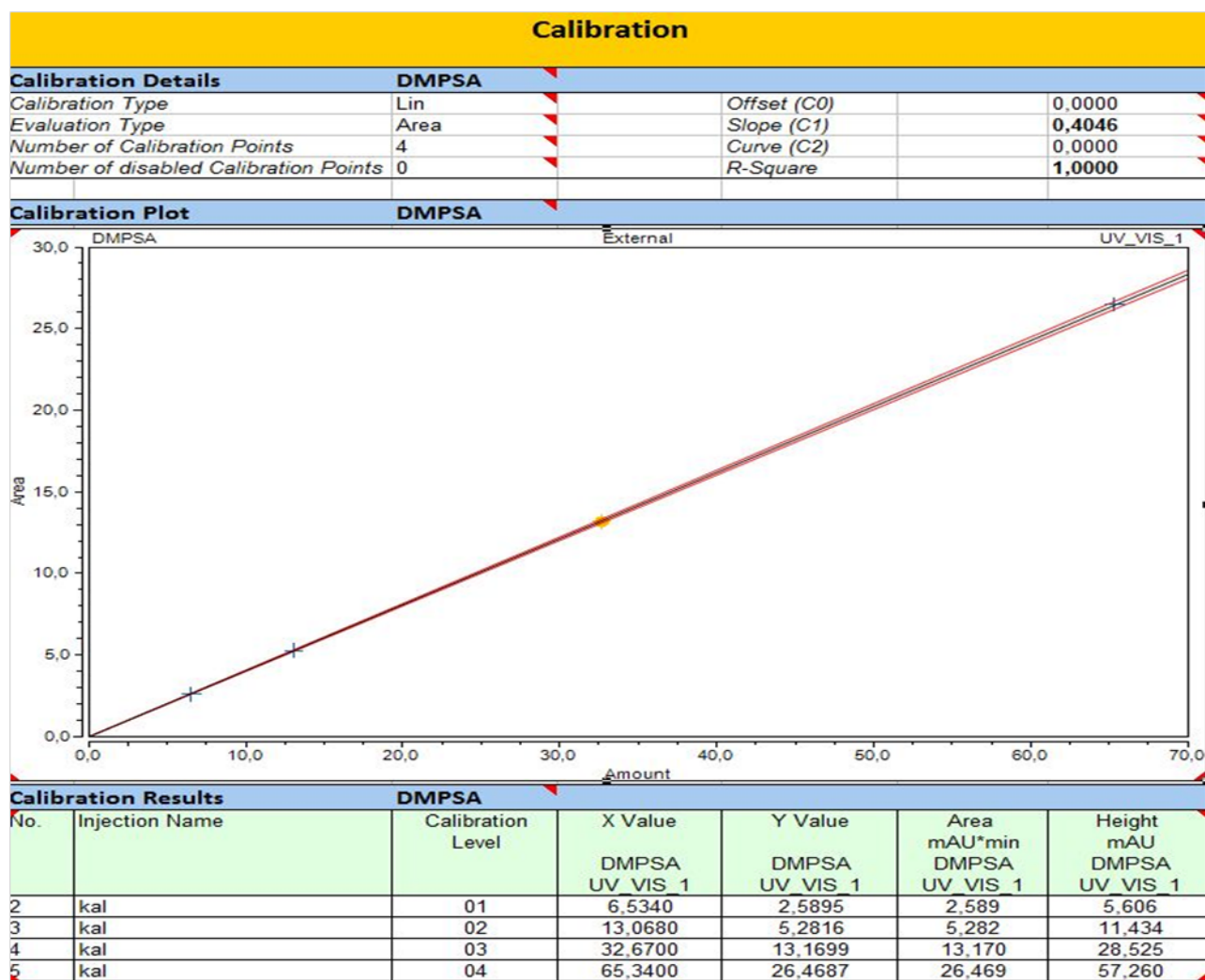
Koncentrace standardu 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (mg/l)	Plocha 1	Plocha 2	Plocha 3	Plocha 4
6,534	2,598	2,713	2,727	2,729
13,068	5,282	5,4	5,433	5,398
32,67	13,17	13,488	13,444	13,376
65,384	26,469	26,622	26,815	26,574

Kalibrační přímka DMPSA viz tabulka č. 3 a obrázek 2.

Tabulka 3.

Koncentrace mg/l	6,534	13,068	32,67	65,384
Odezva (plocha) mAU	2,589	5,282	13,170	26,469

Obr. 2. Kalibrační přímka DMPSA.



Separáční podmínky HPLC

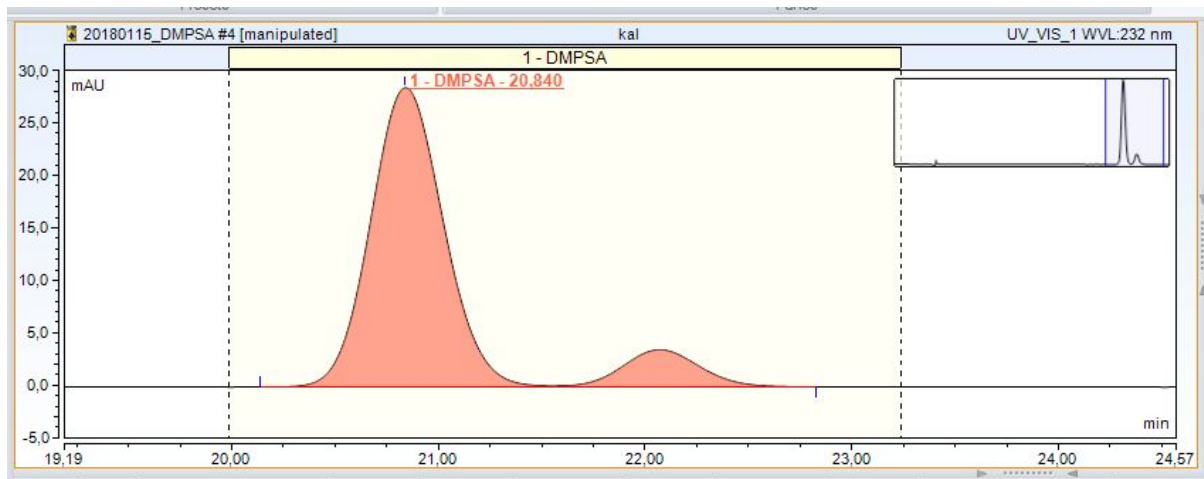
Kalibrační roztoky i extrakty zkušebních vzorků se měří za následujících separáčn ch podmínek chromatografického systému, kter  jsou uvedeny v tabulce č.4.

Tabulka 4. Příklad podmínek chromatografického stanovení.

Kolona	C18, 4,6mm × 250mm, 5μm nebo obdobná
Mobilní fáze	(5)
Průtok	1,0 ml/min
Teplota kolony	laboratorní
Objem nástřiku	20 μl
Retenční čas	20 min
Doba analýzy	27 min
Detekce	UV detektor, vlnová délka 232 nm

Uvedené podmínky jsou doporučené, mohou být použity i jiné podmínky za předpokladu, že poskytnou rovnocenné výsledky.

Obrázek 3. Ukázka chromatogramu DMPSA.



5 Výpočet

Obsah 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (DMPSA) ve vzorku, vyjádřený hmotnostním zlomkem v mg/kg (W_{DMPSA}) se vypočte podle vztahu

$$W_{DMPSA} = c \times V \times V_1/m \times a_1, \text{ kde}$$

c koncentrace 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové v měřeném roztoku vzorku (mg/l),

V celkový objem extraktu (ml),

m hmotnost navážky vzorku (g),

V_1 celkový objem extraktu po naředění (ml),

a_1 alikvotní objem extraktu použitý k ředění (ml).

Pozn.

DMPSA existuje ve dvou izomerech, které mají fixní poměr. Oba izomery jsou stanoveny touto metodou a k výpočtu se vyhodnotí suma ploch obou chromatografických píků, viz obr.3.

6 Výsledky a diskuse

6.1 Validace

Validace metody byla provedena na reálných vzorcích hnojiva s využitím validační zprávy WI 188 TC 260:2016. V rámci validace byly hodnoceny parametry linearita, opakovatelnost (přesnost), správnost, mez detekce a mez stanovitelnosti, citlivost a nejistoty měření.

Linearita

Linearita byla určena z hodnot naměřených kalibračních standardů. Získané hodnoty, které jsou uvedeny v tabulce č. 5, byly vloženy do programu EffiValidation 3.0. Linearita kalibrační závislosti byla testována pomocí metody ANOVA. Linearita byla ověřena v rozsahu koncentrací 6,5 – 65,3 mg/l. Vyhodnocení je uvedeno v tabulce č.5.

Tabulka 5. Linearita kalibrační závislosti: ANOVA.

Zdroj	Suma čtverců	Počet stupňů volnosti	Průměrná suma čtverců	F	F - krit	Hypotéza
Proložení	0,007	2	0,004	0,29	14,38	Přijata
Opakování	0,147	12	0,012	---	---	---

Tabulka 5. Linearita: Korelační a QC koeficient.

Vypočtený korelační koeficient (R)	Testovaný korelační koeficient (R)	Vypočtený QC	Testovaný QC	Hypotéza
0,99985	0,99000	1,53	5,0	Přijata

Závěr: Linearita byla statisticky prokázána v rozsahu 6,5–65,3 mg/l pro 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové na základě metody ANOVA a na základě hodnot korelačních koeficientů.

Přesnost a správnost

Přesnost metody byla ověřena stanovením parametru opakovatelnost: po úrovních z vícenásobného měření, která byla určena z měření 4 vzorků čtyřikrát opakovaných (n = 4). Opakovatelnost analytické metody je uvedena v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6. Vyhodnocení z programu EffiValidation: přesnost (opakovatelnost).

n	Měření 1 (mg/kg)	Měření 2 (mg/kg)	Měření 3 (mg/kg)	Měření 4 (mg/kg)	Průměr (mg/kg)	Opakovatelnost (mg/kg)	Rel. opakovatelnost	Požad. opakovatelnost
4	831,7	850,1	853,4	834,0	842,3	11,01	1,31%	5% rel.
4	1160,4	1152,3	1160,0	1151,8	1156,1	4,70	0,41%	5% rel.
4	1821,0	1834,4	1825,0	1773	1813,3	27,48	1,52%	5% rel.
4	3828,9	3828,9	3944,5	4200,0	3950,6	174,98	4,43%	5% rel.
				Celkový rozsah		88,76	2,44%	5% rel.

Závěr: Přesnost (opakovatelnost) analytické metody pro celý rozsah je 88,76 mg/kg, tj. 2,44% rel.

Správnost charakterizuje shodnost výsledků měření validované vlastnosti s deklarovanou referenční hodnotou. Správnost metody byla ověřena ve validační studii CEN/TC260/WG7:WI 00260188 - Determination of the nitrification inhibitor DMPSA, 2016 opakovaným měřením 3 vzorků s deklarovaným obsahem na třech koncentračních hladinách. Z naměřených dat byla zpětně vypočtena výtěžnost celé metody. Vypočtené hodnoty z údajů uvedených v tabulce č.6 jsou shrnuty v tabulce č. 7.

Naměřená data byla vyhodnocena pomocí programu EffiValidation za použití možnosti - Správnost: Omezený koncentrační rozsah - rekonstituce možná.

Tabulka č. 7. Správnost – vstupní data.

Popis	Deklarováno	Naměřeno	Naměřeno	Naměřeno	Naměřeno
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
Hladina 1	834	850,06	853,38	834,0	831,72
Hladina 2	1772	1834,4	1825,03	1772,0	1820,96
Hladina 3	4203	3828,90	3828,91	3944,47	4200,0

Tabulka č. 8. Vyhodnocení – Správnost: Omezený koncentrační rozsah-rekonstituce možná.

Popis	Deklarováno	Naměř.	Výtěžnost	Přesnost	n	t - vyp.	t - krit.	Hypotéza
	(mg/kg)	(mg/kg)	[%]					
Hladina 1	834	842,3	100,99 %	11,01	4	1,51	3,18	Přijata
Hladina 2	1772	1813,1	102,33 %	27,48	4	3,01	3,18	Přijata
Hladina 3	4203	3950,6	93,99 %	174,98	4	2,89	3,18	Přijata

Závěr: Analytická metoda poskytuje statisticky správné výsledky. Hypotéza o normalitě byla potvrzena.

Závěr: Analytická metoda poskytuje statisticky přesné a správné výsledky.

Mez detekce a stanovitelnosti

Mez detekce (MD resp. LOD) je úroveň, nad kterou lze odezvu vzorku věrohodně odlišit od odezvy slepého pokusu, tzn., že nad ní lze provést kvalitativní stanovení. Mez stanovitelnosti (MS, resp. LOQ) je minimální hodnota, nad kterou lze provést kvantitativní

stanovení. Meze (MD a MS) by měly být vypočteny z velikosti hodnoty signálu slepého pokusu. Bohužel pracoviště nemělo k dispozici matici hnojiva stejného složení ale bez NI. Proto meze byly stanoveny z kalibrační křivky standardu (viz tabulka č. 2). Naměřené hodnoty byly zpracovány programem EffiValidation 3.0 za použití možnosti: Meze z kalibrační přímky. Jako MS byl zvolen výpočet z trojnásobné hodnoty MD.

Vypočtené hodnoty z údajů uvedených v tabulce č. 2 jsou shrnuty v tabulce č. 9.

Tabulka č. 9. Vyhodnocení z programu EffiValidation.

Měření na mezi detekce (plocha) MD	Měření na mezi stanovitelnosti (plocha) MS	Validovaná vlastnost na mezi detekce (mg/l) MD	Validovaná vlastnost na mezi stanovitelnosti MS (mg/l)	Vypočtená MS jako: MS= (3x MD) (mg/l)	MS mg/kg	MS %
0,307	0,347	0,6074	0,7058	1,8222	60,74	0,0061

Vyhodnocení:

Mez detekce – LOD = $(0,60741 \times 1000)/30 = 20,247$ mg/kg

Mez stanovitelnosti – LOQ = $(0,7058 \times 1000)/30 = 23,527$ mg/kg

Vypočtená Mez stanovitelnosti – LOQ = $(3 \times \text{LOD}) = 60,741$ mg/kg, respektive 0,0061 %.

Závěr:

LOD je 20,25 mg/kg a LOQ je 60,74 mg/kg, respektive 0,0061 % ve vzorku při navážce 30 g a celkovém objemu výluhu 1000 ml.

Citlivost

Citlivost je změna odezvy vyvolaná jednotkovou změnou koncentrace. Je dána směrnici kalibrační přímky. K určení citlivosti byla použita data uvedená v tabulce č. 2 a byla vyhodnocena pomocí programu EffiValidation 3.0.

Závěr: Citlivost analytické metody daná směrnici kalibrační přímky je 0,406.

Nejistoty

Relativní standardní nejistota a relativní rozšířená nejistota byly stanoveny z hodnot výsledků vícenásobného stanovení vzorků hnojiv. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 6. Výpočet byl proveden v programu EffiValidation 3.0 - Nejistoty z přesnosti-paralelní měření k dispozici. Vypočtené nejistoty pro stanovení obsahu DMPSA jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tabulka č. 10. Vyhodnocení z EffiValidation: Nejistoty: z přesnosti – vícenásobná měření k dispozici.

Charakteristika	Hodnota
St. nejistota (mg/kg)	88,76
Rel. st. nejistota (%)	4,57
Faktor pokrytí	1,96
Rozšířená st. nejistota (mg/kg)	173,98
Rel. rozšířená nejistota (%)	8,97

Závěr: Rozšířená standardní nejistota je 173,98 mg/kg, relativní rozšířená nejistota je 8,97% rel.

7 Závěr

V rámci vývojového úkolu č. 20.03/2018 byla v laboratoři ONRL Praha zavedená nová metoda stanovení pro 2-(3,4-dimethyl-1H-pyrazolu-1-yl) kyseliny jantarové (DMPSA) v hnojivech technikou HPLC s UV detekcí, a to pro obsahy nad 300,0 mg/kg, resp. nad 0,03% DMPSA s rozšířenou nejistotu 10%..

Byly stanoveny validační parametry linearita, přesnost a správnost, mez detekce, mez stanovitelnosti, citlivost a nejistoty měření. Bylo prokázáno, že ověřovaná metoda stanovení DMPSA je způsobilá k používání pro zkoušení hnojiv na obsah nitrifikačních inhibitorů.

8 Literaratura

1. Ximena Huérfano – Salinas: The new nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole succinic (DMPSA) as an alternative to DMPP for reducing N₂O emissions from wheat crops under humid Mediterranean conditions. European Journal of Agronomy 80:78-87. July 2016.
2. JPP ÚKZÚZ, postup č. 10274.1
3. CEN/TC260/WG7: Collaborative validation study for CEN standard on determination of DMPSA 2016.
4. Centner, V.: Uživatelská příručka EffiValidation 3.0.

Stanovení barevného kvocientu Q4/Q6

David Čížmár, Elena Obdržálková

1 Úvod

Pro stanovení barevného kvocientu Q4/Q6 v půdách bylo použito 101 vzorků s rozdílným obsahem a kvalitou organické hmoty, které byly vybrány z monitoringu půd. Byla provedena extrakce půd, poté byla stanovena hodnota barevného kvocientu Q4/Q6 spektrofotometricky. Následně byla ověřena závislost mezi obsahem barevného kvocientu a spektry NIRS vytvořením vhodných kalibračních modelů. NIR kalibrační model byl vytvořen z dat laboratorní referenční metody, která využívala pro svá stanovení vlnové délky 465 a 665 nm. Huminové a fulvové kyseliny obsažené v půdě barví pyrofosfátový alkalický půdní výluh. Intenzita zbarvení se měří spektrofotometricky při 400 a 600 nm (případně 465 a 665 nm) a barevný kvocient Q4/Q6 se stanoví jako poměr absorbancí extrakčního roztoku 400/600 nm nebo 465/665 nm.

Je známo, že existuje průkazná korelace mezi barevným kvocientem Q4/Q6 a poměrem huminových kyselin k obsahu fulvokyselin (HK:FK). Zjištěné závislosti lze využít k hrubému hodnocení jakosti humusových látek.

2 Experimentální část

2.1 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Demineralizovaná voda.
- 2 Pyrofosforečnan sodný dekahydrát ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$).
- 3 Hydroxid sodný (NaOH).
- 4 1M NaOH:
Příprava: Ve 30 ml vody (1) se rozpustí 2 g NaOH (3) a upraví se na výsledný objem 50 ml.
- 5 Extrakční roztok 0,05M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$:
Příprava: V asi 600 ml vody (1) se rozpustí 22,3 g pyrofosforečnanu sodného (2). Je-li potřeba upravíme na pH 12 pomocí 1M NaOH (4). Doplňme výsledný objem 1000 ml.

Citronan sodný ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$), 50mM.

2.2 Přístroje a zařízení

- 1 Analytické váhy.
- 2 Rotační třepačka.
- 3 Centrifuga
- 4 UV-VIS spektrofotometr
- 5 pH metr
- 6 FT-NIR Nicolet Antaris II

3 Materiál a metody

Kalibrace byla provedena na 101 vzorcích půd odebraných v letech 2008 až 2011 v rámci monitoringu mikrobiálních parametrů zemědělských půd. Sada rovněž obsahovala i vzorky minerálního horizontu půd trvalých travních porostů (TTP). Půdy byly skladovány v suchém stavu při laboratorní teplotě.

3.1 Postup referenční metodou

Do uzavíratelné plastové nádoby o objemu 200 ml se naváží 5,0 g upraveného půdního vzorku (jemnozem I). Dávkovacím zařízením nebo odměrným válcem se přidá $(100 \pm 0,5)$ ml extrakčního roztoku (5) a po uzavření se extrahuje na rotační třepačce 60 min. Po extrakci se suspenze převede do centrifugačních zkumavek a odstředí se 15 min. při 3800 ot./min. Připravené půdní výluhy musí být před měřením na spektrofotometru čiré.

3.1.2 Měření

Srovnávacím roztokem je čistý extrakční roztok (5). Jeho proměření před měřením vzorků se získá základní čára. Měříme při vlnových délkách 400 a 600 nm. Extrační roztoky jsou měřeny v simultánním módu měření absorbance. Po nasátí roztoku UV-VIS spektrofotometr odečítá postupně hodnoty absorbancí při 400, 465, 600, 665 nm. Pokud je absorbance při 400 (465) nm příliš vysoká ($> 1,3$), půdní výluhy naředíme extrakčním roztokem (obvykle 5 ×, 10 ×, příp. 20 ×) a měříme opakovaně. Ze získaných hodnot absorbancí vypočítáme hodnotu barevného kvocientu $Q_{4/6}$.

Tabulka 1 uvádí podmínky měření absorpance na uvedených vlnových délkách v připravených půdních alkalických extraktech.

Tabulka 1. Podmínky měření na spektrofotometru UV-VIS Cary 50 Varian s průtočnou kyvetou.

Ordinate mode	Abs
Ave Time (sec)	3
Replicates	3
Sample averaging	off
External sipper fill time	(sec) 7
External sipper delay time	(sec) 5

3.1.3 Výpočet

$$Q_{4/6} = A_{400}/A_{600} \text{ (nebo } Q_{4/6}=A_{465}/A_{665}\text{)}$$

Poznámky

- 1 *Poměr zemina: extrakční činidlo 1:20 (w: v).*
- 2 *Čím vyšší hodnota barevného kvocientu, tím horší je kvalita humusu. Pravděpodobnou hranicí mezi kvalitním a nekvalitním humusem je hodnota $Q_{4/6}$ okolo 4.*

3.2 Využití NIR spektroskopie pro stanovení barevného kvocientu Q4/Q6

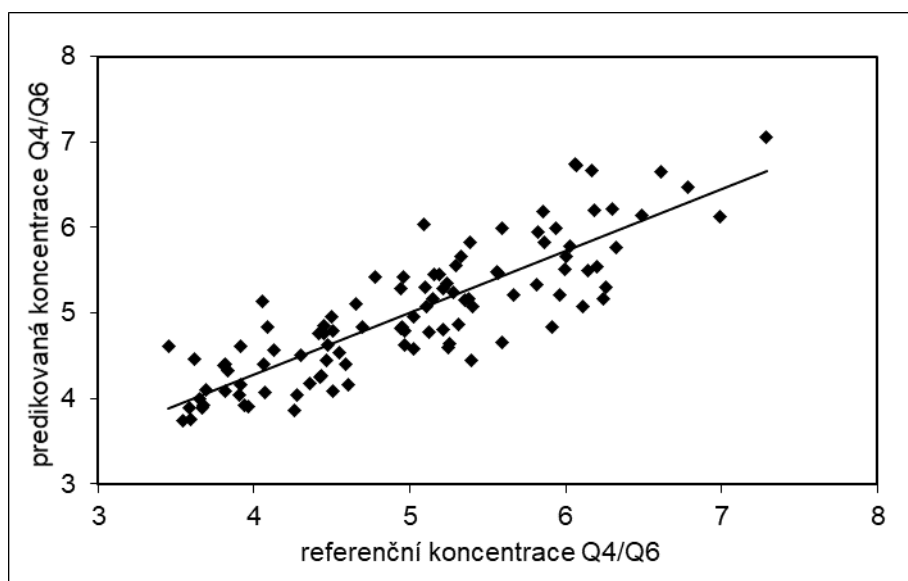
Vytvoření NIR kalibračního modelu pro daný parametr spočívá ve vztažení informace získané absorpcí v NIR oblasti s hodnotou stanovenou laboratorní referenční metodou (LRM) do vzájemného poměru a získání regresní závislosti.

Pro vytvoření přesného NIR kalibračního modelu je obecně základním požadavkem dostatečný počet stanovených vzorků analyzovaných klasickými laboratorními metodami (LRM). ÚKZÚZ je v rámci ČR zcela ojedinělým pracovištěm zaměřeným na tento typ laboratorního testování. Požadavek na dostatečné množství vzorků pro vytvoření robustních kalibračních modelů byl spolehlivě splněn. Pro správný vývoj NIR kalibračního modelu je důležité, aby koncentrační rozsah kalibrovaného parametru byl co možná nejvyšší.

Metodou blízké infračervené spektroskopie byly proměřeny vzorky půd na přístroji FT-NIR Nicolet Antaris II s rozsahem vlnových délek 1000–2500 nm s rozlišením 0,5 nm. Vzorky byly měřeny v kompresních kyvetách o průměru 3 cm. Spektra vzorků půd byly vyhodnoceny softwarem TQ Analyst 8.0 a byl vytvořen a optimalizován vhodný kalibrační model pro predikci obsahu barevného kvocientu Q4/Q6. Kvalitativní parametry (R; RMSECV) vytvořeného kalibračního modelu byly (0,85; 0,47).

Legenda: R – korelační koeficient, RMSECV – střední kvadratická chyba křížové validace

Graf kalibrační závislosti je zobrazen na Obr.1



Obr.1. Kalibrační závislost – Barevný kvocient Q4/Q6.

4 Výsledky a diskuse

Z prezentovaných výsledků je zřejmé, že metodu blízké infračervené spektroskopie FT-NIR je možné využít pro predikci obsahu barevného kvocientu Q4/Q6. Aby bylo možné metodu NIR spektroskopie využít pro predikci sledovaného parametru, bylo nutné provést potřebnou kalibraci, která vychází z využití výsledků získaných laboratorní referenční metodou. V této práci byla taktéž zavedena a optimalizována laboratorní referenční metoda pro stanovení barevného kvocientu. Optimalizací laboratorní referenční metody a metody NIR spektroskopie bylo zjištěno, že výběr vlnových délek 465 a 665 nm jsou vhodnější než vlnové délky 400 a 600 nm.

5 Závěr

Na základě prezentovaných výsledků kvalitativních parametrů (R , $RMSECV$) kalibračního modelu bylo prokázáno, že metodou NIR spektroskopie lze predikovat obsah barevného kvocientu Q_4/Q_6 ve vzorcích půd.

6 Literatura

1. P. Javorský a kol.: Chemické rozbory v zemědělských laboratořích, MZV ČR, 1987.
2. M. Podsedníková: Stanovení barevného kvocientu $Q_{4/6}$. ÚKZÚZ Brno, 1992.
3. M. Valla, J. Kozák, J. Drbal: Cvičení z půdoznalství – II, VŠZ Praha, 1983.

Bulletin Národní referenční laboratoře XXIII 2019/3

Ročník: XXIII, č. 3

Vydal: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v roce 2019

Odpovědný redaktor: Ing. Iva Strížová

Počet stran: 30

Texty neprošly jazykovou úpravou.

ISSN 1801-9196