

	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

ANALÝZA EXTRAKTU PODLE MEHLICHA 3 METODOU ICP-OES

1 Účel a rozsah

Postup je určen především pro stanovení obsahu základních živin vápníku, hořčíku, draslíku, fosforu a dále nutričně významných prvků jako je síra, měď, zinek, železo, hliník, mangan, případně bor v extraktech půd podle Mehlicha 3 (postup č. 30068.1). Při dostatečné citlivosti použitého ICP-OES spektrometru je možné v extraktu stanovit také obsah některých rizikových prvků (As, Cd, Cr, Ni, Pb, Co, Be, V, Mo). Postup je možné použít i pro extrakty podle Mehlicha 2 (postup č. 30080.1) po úpravě matrice kalibračních roztoků.

2 Princip

Aerosol vzorku se proudem argonu přivede do argon-argonového plazmatu, ve kterém dojde vlivem vysoké teploty k termické excitaci a ionizaci atomů prvků. Při jejich přechodu do stavu s nižší energií (následně de-excitaci) dojde k vyzáření charakteristických kvant, která odpovídají záření o určité vlnové délce. Měřením intenzity emitovaného záření na vhodné vlnové délce stanovovaného prvku se určí koncentrace daného prvku ve vzorku metodou kalibrační křivky.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Základní standardní roztoky fosforu, draslíku, hořčíku, síry, železa, hliníku, manganu, mědi, zinku a boru, c(P, K, Mg, S, Fe, Al, Mn, Cu, Zn, B) = 1 g/l dodané od ověřeného výrobce (např. Analytika s.r.o. Praha).
- 2 Uhličitan vápenatý, CaCO₃.
- 3 Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná, HCl, ρ = 1,19 g/ml.
- 4 Kyselina chlorovodíková, zředěná V/V = (1 : 1).
Příprava: Kyselina chlorovodíková (3) se ředí vodou (10) v poměru (1 : 1), (V/V).
- 5 Základní standardní roztok vápníku, c(Ca) = 10 g/l.

Příprava: 6,2432 g uhličitanu vápenatého (2) se rozpustí ve vysoké 250ml kádince pod hodinovým sklem ve 20 ml kyseliny chlorovodíkové (4). Po rozpuštění se obsah kádinky kvantitativně převede do odměrné 250ml baňky a po vytemperování se baňka doplní vodou (10) po značku. Také je možné použít komerčně dodávaný roztok od ověřeného výrobce.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

- 6 Směsný pracovní standardní roztok boru a mědi, $c(\text{B}, \text{Cu}) = 100 \text{ mg/l}$.
Příprava: Roztok se připraví desetinasobným naředěním příslušných základních standardních roztoků (1) vodou (10).
- 7 Koncentrovaný extrakční roztok podle Mehlicha 3 (pětinásobná koncentrace), viz postup 30068.1.
- 8 Základní standardní jednoprvkové roztoky rizikových prvků As, Cd, Cr, Ni, Pb, Be, Co, V, Mo - $c(\text{As}, \text{Cd}, \text{Cr}, \text{Ni}, \text{Pb}, \text{Be}, \text{Co}, \text{V}, \text{Mo}) = 1 \text{ g/l}$ nebo lépe vhodný směsný standardní roztok těchto prvků od ověřeného výrobce, např. CZ 9089 (MIX 008) o koncentraci $c(\text{Cd}, \text{Pb}, \text{Cr}, \text{Ni}, \text{Co}, \text{V}) = 100 \text{ mg/l}$, (Analytika s.r.o. Praha).
- 9 Argon, čistota 4.6 nebo vyšší.
- 10 Voda (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 11 Kyselina dusičná, koncentrovaná, HNO_3 , $c(\text{HNO}_3) = 14,4 \text{ mol/l}$, $\rho = 1,4 \text{ g/ml}$ (pro stabilizaci kalibračních standardních roztoků rizikových prvků).

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem, případně vybavený zvlhčovačem argonu.
- 2 Zařízení pro přípravu vysoce čisté demineralizované vody (např. Millipore, USA).

Poznámky

- 1 *Při požadavku na stanovení boru je třeba zamezit kontaminaci vzorků i standardních roztoků tímto prvkem. Je doporučeno používat v celém postupu přípravy kalibrace výhradně plastové nádoby. Kalibrační roztoky s obsahem boru je vhodné připravovat nejlépe v plastových kalibrovaných odměrných baňkách nebo se roztoky ihned po úpravě objemu přelévají do plastových nádob. To platí i pro pomocné roztoky pro přípravu extrakčního činidla.*
- 2 *Stanovení fosforu touto metodou dává výsledky vyšší než stanovení spektrofotometrické, protože se stanovuje celkový obsah fosforu v extraktu. Při spektrofotometrickém stanovení se stanovuje pouze fosfor přítomný jako fosforečnan. Pro vyhodnocení je vždy nutné použít kritéria vypracovaná pro konkrétní metodu stanovení. Ta jsou zpracována jak pro stanovení spektrofotometrické, tak pro stanovení metodou ICP-OES.*
- 3 *Zvlhčovač argonu není pro měření nezbytný, ale významně snižuje zanášení zmlžovače.*

	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

- 4 *Obsahy rizikových prvků v připravených půdních extraktech ze vzorků běžného AZPP mohou být velmi nízké a mohou se nacházet pod mezí stanovitelnosti optické instrumentace ICP-OES. Citlivost přístroje ICP-OES je vhodné pro tyto účely stanovení předem ověřit.*

5 Postup

5.1. Kalibrační standardní roztoky pro měření obsahu základních živin a významných nutričních mikroprvků

Pro analýzu půdních extraktů Mehlich 3 se připraví sada kalibračních směsných roztoků pro následující analyty: P, K, Mg, Ca, případně společně s Al, Fe, Mn, Cu, Zn, B, S. Přehled směsných kalibračních roztoků a jejich koncentrací pro jednotlivé prvky uvádí Tabulka 1.

Tabulka 1. Standardní kalibrační roztoky pro běžně sledované prvky (mg/l).

Prvek	STDM3 H	STDM3 3	STDM3 2	STDM3 1	STDM3 L
Ca	1000	500	250	100	0
K	100	50	25	10	0
Mg	100	50	25	10	0
P	40	20	10	4	0
Al	200	100	50	20	0
Fe	100	50	25	10	0
Mn	40	20	10	4	0
Cu	4,0	2,0	1,0	0,4	0
Zn	10	5,0	2,5	1,0	0
B	4,0	2,0	1,0	0,4	0
S	20,0	10,0	5,0	2,0	0

	Národní referenční laboratoř	Strana	4
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Příprava směšného kalibračního standardu STDM3 H, nulového kalibračního standardu STDM3 L a pomocného kalibračního standardu STDM3H-POM

Do dvou 100ml odměrných baněk se pipetují paralelně standardní kalibrační roztoky (1), (5), (6) podle schématu Tabulky 2.

Do první odměrné baňky se přidá 20 ml koncentrovaného extrakčního roztoku (7) a baňka se doplní po značku vodou (10) (STDM3 H). Druhá odměrná baňka se doplní po značku pouze vodou (10) (STDM3H-POM) a tento roztok se použije na přípravu dalších kalibračních bodů.

Do samostatné 100ml odměrné baňky se pipetuje 20 ml koncentrovaného extrakčního roztoku (7) a baňka se doplní po značku vodou (10) (STDM3 L), slouží jako nulový kalibrační bod.

Tabulka 2. Příprava směšného kalibračního standardu STDM3H a STDM3H-POM.

Prvek	Základní standardní roztoky – koncentrace (g / l)			Směšný kalibrační standard koncentrace (mg/l)
	10,0	1,0	0,1	
	Pipetovaný objem (ml)	Pipetovaný objem (ml)	Pipetovaný objem (ml)	
Al (1)		20 ml		200
Ca (5)	10 ml			1000
Fe (1)		10 ml		100
K (1)		10 ml		100
Mg (1)		10 ml		100
P (1)		4 ml		40
Mn (1)		4 ml		40
Cu, B (6)			4 ml	4
Zn (1)		1 ml		10
S (1)		2 ml		20

	Národní referenční laboratoř	Strana	5
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Příprava kalibračních standardů STDM3 3, STDM3 2 a STDM3 1

Do tří 100ml odměrných baněk se pipetuje (50; 25; 10) ml pomocného směšného standardu STDM3H-POM. Přidá se 20 ml koncentrovaného extrakčního roztoku Mehlich 3 (7) a baňky se doplní po značku vodou (10).

5.2 Kalibrační standardní roztoky pro měření obsahu rizikových prvků

Při požadavku na stanovení rizikových prvků As, Cd, Pb, Cr, Ni, Co, V, Be, Mo se připraví samostatná sada směšných kalibračních standardních roztoků o uvedených koncentracích v matrici extrakčního činidla Mehlich 3 podle Tabulky 3.

Tabulka 3. Standardní kalibrační roztoky pro rizikové prvky (mg/l).

Standard/ Prvek	As	Cd	Cr	Ni	Pb	Be	Co	V	Mo
M3RP L	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M3RP 1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
M3RP 2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
M3RP 3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
M3RP H	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Příprava kalibračních standardů M3RP L, M3RP 1, M3RP 2, M3RP 3 a M3RP H

Připraví se směšný pomocný kalibrační roztok As, Be, Mo o koncentraci 100 mg/l: Do 50ml odměrné baňky se pipetuje 5 ml z každého jednorvkového základního standardního roztoku As, Be, Mo o koncentraci 1 g/l (8), přidá se 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (11) a baňka se doplní vodou (10) po značku.

Pro přípravu sady kalibračních standardních roztoků se dále použije směšný nejlépe základní standardní roztok MIX 008 (CZ 9089) (8) uvedených prvků (Cd, Cr, Ni, Pb, Co, V) okoncentraci 100 mg/l a pomocný směšný kalibrační roztok As, Be, Mo o koncentraci 100 mg/l.

Do sady 50ml odměrných baněk se pipetují objemy kalibračních standardů o obsahu prvku 100 mg/l podle Tabulky 4.

Do všech baněk se dále přidá 10 ml koncentrovaného extrakčního roztoku (7) a baňky se doplní po značku vodou (10).

	Národní referenční laboratoř	Strana	6
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Kalibrační standard M3RP L slouží jako nulový kalibrační bod. Připraví se pipetováním 10 ml koncentrovaného extrakčního roztoku (7) do 50ml odměrné baňky a doplněním po značku vodou (10).

Tabulka 4. Příprava standardních kalibračních roztoků pro rizikové prvky.

Standard	Pipetovaný objem (μ l)		Extrakční roztok (7) (ml)
	Směsný pomocný As, Be, Mo (100 mg/l)	MIX 008 (8) (100 mg/l)	
M3RP L	0	0	10
M3RP 1	50	50	10
M3RP 2	100	100	10
M3RP 3	1000	1000	10
M3RP H	2500	2500	10

Poznámky

- Pro rutinní stanovení obsahu základních živin (P, K, Ca, Mg) v rámci běžného AZZP se připraví kalibrační křivka o stejných koncentracích uvedených prvků podle Tabulky 1, pouze bez pipetování dalších nutričně významných prvků (Al, Fe, Mn, B, S, Cu, Zn). V každém kalibračním bodě je potřeba vždy zachovat stejnou koncentraci extrakčního činidla jako v měřených vzorcích.
- V případě, že jsou dostupné pouze jednoprvkové základní standardní roztoky rizikových prvků o koncentraci 1 g/l (8), připraví se jeden směsný kalibrační roztok všech uvedených prvků (As, Cd, Pb, Cr, Ni, Be, V, Co, Mo) o koncentraci 100 mg/l. Tento roztok se připraví desetinásobným zředěním příslušných jednoprvkových základních standardních roztoků (8) o koncentraci 1 g/l. Do 50ml odměrné baňky se pipetuje 5 ml z každého základního standardního roztoku prvku o koncentraci 1 g/l (8), přidá se 1 ml koncentrované kyseliny dusičné (11) a baňka se doplní vodou (10) po značku.
- Kalibrační standardy se uchovávají v temnu při laboratorní teplotě. Jejich stálost je nejméně 3 týdny.
- Při přípravě kalibračních standardů je možné vynechat přídavek roztoku fluoridu amonného a EDTA.

	Národní referenční laboratoř	Strana	7
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Měření

Při měření se obvykle vychází z podmínek doporučených výrobcem přístroje. Pro každý přístroj je třeba optimalizovat zejména průtoky jednotlivých plynů, optimální výšku pozorování, výkon plazmy, vybrat vhodné vlnové délky a odečet pozadí. Tyto parametry mohou významně ovlivnit míru možných interferencí při měření.

Tabulka 5 uvádí podmínky měření pro simultánní ICP-OES spektrometr SpectroBlue s radiálním uspořádáním plazmatu- příklad nastavení.

Tabulka 5. Pracovní podmínky měření pro ICP-OES spektrometr SPECTROBLUE s radiálním uspořádáním plazmatu.

Typ zmlžovače	Crossflow
Výkon plazmy	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 - makro, mikroelementy	fast mode, 3 × 5 s
Strategie integrace signálu rizikové prvky	standard mode, 3 × 36 s

ICP-OES spektrometr snímá simultánně intenzitu profilu spektrálních čar a pozadí v jejich spektrálním okolí. Pro každý prvek je potřeba nastavit polohu odečtu pozadí, které se řídí vzhledem samotného píku analytu a jeho okolí. Úpravu odečtu píku analytu a jeho pozadí je nutné provést pro kalibrační standardy a zejména poté upravit pro reálné vzorky, u kterých bývá obvykle pík analytu významně ovlivněn maticí vzorku.

Po dostatečně dlouhé době teplotní stabilizace plazmatu (asi 30 min) po zapnutí přístroje se přístroj kalibruje s použitím připravených sad kalibračních standardů. Poté se po důkladném promytí systému měří reálné vzorky extraktů. Extrakty vzorků se měří obvykle bez ředění. Při překročení rozsahu kalibračních křivek je nutné extrakty vzorků ředit přímo extrakčním roztokem Mehlicha 3 (viz postup 30068.1).

	Národní referenční laboratoř	Strana	8
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Tabulka 6. Vybrané vlnové délky pro měření prvků na ICP-OES spektrometru SPECTROBLUE.

Prvek	Vlnová délka (nm)	Typ čáry
P	177,495	I
Mg	279,553	II
Ca	317,933	II
K	766,491	I
B	249,773	I
Zn	213,856	I
Mn	259,373	II
Fe	261,187	II
Cu	324,754	I
Al	308,215	I
S	182,034	I
As	189,042	I
Cd	228,802 214,438	I II
Pb	220,353	II
Ni	231,604	II
Cr	267,716	II
Be	313,042	II
Co	228,616	II
V	292,464	II
Mo	202,095	II

Legenda: I – atomová čára daného prvku
II – iontová čára daného prvku

	Národní referenční laboratoř	Strana	9
	Jednotné pracovní postupy – Analýza půd I 30074.1 – Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES	Vydání	4
		Revize	2

Poznámky

- 9 Při požadavku na stanovení obsahu prvků (P, K, Mg, Ca, případně Al, Fe, Mn, B, S, Cu, Zn) v extraktech Mehlich 3 probíhá integrace signálu ve fast modu (3 × 5 s). Při požadavku na stanovení rizikových prvků, které se v těchto extraktech nacházejí ve velmi nízkých koncentracích, je potřeba prodloužit dobu integrace signálu ve standardním modu (3 × 36 s). Uvedený způsob integrace signálu platí pro přístroj SpectroBlue. Způsob integrace měřeného signálu je potřeba vždy optimalizovat pro dané nastavení použitého ICP-OES spektrometru.

Kalibrační křivky

Kalibrace se provádí postupným měřením jednotlivých kalibračních standardních roztoků s rostoucí koncentrací prvků. Kalibrace je zpravidla v celém rozsahu kalibračních křivek lineární. Při měření vzorků o nižší koncentraci stanovovaných prvků je vhodné metodu upravit tak, že se pro kalibraci nepoužije nejvyšší kalibrační roztok.

6 Výpočet

Obsah prvku ve vzorku v mg/kg se vypočítá podle vztahu

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

- 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).

7 Literatura

- 1 A. Mehlich: Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Commun. Soil Sci. Plant Anal., 15, 1409– 416. 1984.
- 2 J. Zbíral a kol.: Porovnání extrakčních postupů pro stanovení základních živin v půdách ČR. ÚKZÚZ Brno, 2001.
- 3 K. Trávník a kol. Agrochemické zkoušení zemědělských půd. Metoda Mehlich III. ÚKZÚZ Brno. 1999.
- 4 Návod k obsluze ICP-OES spektrometru SPECTROBLUE (SPECTRO, Německo).