

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Lucie Šatrová

# Stanovení rubidia ve vybraných rostlinných extraktech pomocí atomové absorpční spektrometrie

Determination of rubidium in selected plant extracts  
by atomic absorption spectrometry

Diplomová práce

Vedoucí práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2019

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne

## Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucímu práce panu RNDr. Jakobovi Hraníčkoví, Ph.D., za obrovskou ochotu, vstřícnost a pomoc při tvorbě mé diplomové práce. Také bych ráda poděkovala RNDr. Elišce Novákové, Ph.D., a Mgr. Evě Jeníkové za pomoc, rady a čas, který mi věnovaly při práci v laboratoři a při psaní diplomové práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině, která mě podporovala při mých studiích.

## ABSTRAKT

Cílem této diplomové práce bylo stanovení rubidia v poskytnutých rostlinných extraktech z ovoce a zeleniny pomocí atomové absorpční spektrometrie. Stanovení rubidia bylo pro srovnání provedeno na dvou různých atomových absorpčních spektrometrech (GBC 933 AA a ContrAA 700). Bylo nutné vybrat vhodný způsob atomizace, proto byly prováděny optimalizace pro plamenový atomizátor a elektrotermický atomizátor.

Na přístroji GBC 933 AA byla testována pouze atomizace pomocí plamene. Pro tento přístroj byly provedeny optimalizace průtokové rychlosti směsi acetylen-vzduch, vertikálního a horizontálního plamenového profilu, šířky spektrálního intervalu.

Pro přístroj ContrAA 700 byly optimalizovány podmínky pro plamenovou atomizaci a také podmínky pro elektrotermickou atomizaci. Mezi optimalizované parametry patřily opět průtoková rychlost směsi acetylen-vzduch a vertikální plamenový profil. Pro elektrotermickou atomizaci byla optimalizována teplotní závislost pyrolýzy a teplotní závislost atomizace.

Za experimentálně zjištěných optimálních podmínek bylo provedeno stanovení rubidia ve vzorcích ovocných a zeleninových šťáv metodou kalibrační křivky.

Rubidium obvykle doprovází ostatní alkalické kovy a je přijímáno a zpracováváno rostlinnými i živočišnými buňkami, jako ionty draslíku.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Atomová absorpční spektrometrie

Plamenová atomizace

Elektrotermická atomizace

Rubidium

Rostlinné extrakty

## **ABSTRACT**

In this diploma thesis, rubidium in plant material samples was determined by atomic absorption spectrometry. Determination of plant material rubidium was performed on two different atomic absorption spectrometers (GBC 933 AA and ContrAA 700) for comparison. The selection of a proper method of atomization was essential, therefore optimizations for the flame atomizer and electrothermal atomizer were performed.

On the GBC 933 AA, flame atomization was tested. The flow rate of the acetylene-air, vertical and horizontal flame profile, spectral interval width was optimized for the instrument.

On the ContrAA 700, the conditions for flame atomization were optimized as well as for electrothermal atomization. The optimized parameters included the acetylene-air flow rate and the vertical flame profile again. For the electrothermal atomization, the temperature dependence of pyrolysis and the temperature dependence of atomization were optimized.

Under experimentally determined optimal conditions, the determination of rubidium in fruit and vegetable juice samples was performed by the method of calibration curve.

Rubidium usually accompanies other alkali metals. In the absence of essential biogenic elements important for plant growth, rubidium is able to help out and take on the role of potassium.

## **KEY WORDS**

Atomic absorption spectrometry

Flame atomization

Electrothermal atomization

Rubidium

Plant extracts

# Obsah

1. ÚVOD .....	- 9 -
1.1. Cíle diplomové práce .....	- 9 -
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	- 10 -
2.1 Atomová absorpční spektrometrie .....	- 10 -
2.1.1 Historický vývoj AAS.....	- 10 -
2.2 Princip techniky AAS .....	- 11 -
2.2.1 Základní vztahy.....	- 11 -
2.3 Instrumentace v AAS .....	- 12 -
2.3.1 Zdroje primárního záření .....	- 13 -
2.3.2 Atomizátor .....	- 14 -
2.3.3 Monochromátor.....	- 17 -
2.3.4 Detektor.....	- 18 -
2.4 Interference .....	- 19 -
2.5 Atomový absorpční spektrometr GBC 933 AA .....	- 19 -
2.6 Atomový absorpční spektrometr ContraAA 700 .....	- 20 -
2.7 Kontinuální zdroje záření.....	- 22 -
2.8 Alkalické kovy .....	- 23 -
2.8.1 Rubidium.....	- 23 -
2.8.2 Stanovení rubidia .....	- 24 -
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	- 25 -
3.1 Použité přístroje a zařízení .....	- 25 -
3.2 Použité chemikálie .....	- 25 -
3.3 Pracovní postup.....	- 27 -
3.3.1 Příprava roztoků pro optimalizace .....	- 27 -
3.3.2 Příprava kalibračních roztoků .....	- 27 -
3.4 Příprava reálných vzorků .....	- 28 -
3.5 Statistické zpracování .....	- 30 -

<b>4. VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUSE</b> .....	- 31 -
4.1 Optimalizace přístroje GBC 933 AA s plamenovou atomizací .....	- 31 -
4.1.1 Optimalizace průtoku acetylenu.....	- 31 -
4.1.2 Optimalizace vertikálního plamenového profilu.....	- 32 -
4.1.3 Optimalizace horizontálního plamenového profilu.....	- 33 -
4.1.4 Optimalizace šířky spektrálního intervalu .....	- 34 -
4.1.5 Opakovatelnost měření .....	- 35 -
4.1.6 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia .....	- 37 -
4.2 Optimalizace na přístroji ContrAA 700 s plamenovou atomizací .....	- 39 -
4.2.1 Optimalizace průtoku acetylenu.....	- 39 -
4.2.2 Optimalizace vertikálního plamenového profilu.....	- 40 -
4.2.3 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia .....	- 41 -
4.3 Optimalizace na přístroji ContrAA 700 s elektrotermickou atomizací.....	- 43 -
4.3.1 Optimalizace teploty pyrolýzy .....	- 43 -
4.3.2 Optimalizace teploty atomizace .....	- 44 -
4.3.3 Opakovatelnost měření .....	- 44 -
4.3.4 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia .....	- 45 -
4.4 Shrnutí optimalizovaných podmínek .....	- 47 -
4.5 Výsledné stanovení koncentrace rubidia v reálných vzorcích .....	- 48 -
<b>5. ZÁVĚR</b> .....	- 51 -
<b>POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	- 52 -

## Seznam uvedených zkratek a symbolů

AAS	atomová absorpční spektrometrie
A	absorbance
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
HCL	výbojka s dutou katodou
HR-CS-AAS	atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením
EDL	bezelektrodová výbojka
FWHM	šířka píku změřená v polovině jeho výšky
LOD	limit detekce metody ( $3\sigma$ )
LOQ	limit stanovitelnosti metody ( $10\sigma$ )
SD	směrodatná odchylka měření
RSD	relativní směrodatná odchylka
$\sigma$	směrodatná odchylka šumu základní linie stanovená opakovaným měřením vzorku o velice nízké koncentraci
R	rozpětí
n	počet měření
$\nu$	frekvence záření (Hz)
E	energie (J)
$\Phi_0$	původní tok záření
$\Phi$	tok záření po absorpci
$\lambda$	vlnová délka (nm)
$\nu_{ac}$	průtok acetylenu ( $L \cdot \text{hod}^{-1}$ )
$\nu_{vz}$	průtok vzduchu ( $L \cdot \text{hod}^{-1}$ )
I	napájecí proud výbojky (mA)
$\Delta\lambda$	šířka spektrálního intervalu (nm)
h	výška



# 1. ÚVOD

Tato práce je věnována stanovení rubidia technikou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou a elektrotermickou atomizací. Pomocí vypracované metody dokážeme s vyšší účinností stanovit množství rubidia v rozmanitých vzorcích bez předcházející separace. AAS se řadí mezi techniky srovnávací, měřenou veličinou je absorbance. Absorbance je přímo úměrná koncentraci stanovovaného prvku. Pomocí této techniky jsme v dnešní době schopni stanovit přes 60 prvků, a je velmi využívána pro sledování množství toxických prvků v životním prostředí.

Plamenová atomizace se používá pro stanovení prvků o vyšší koncentraci ve vzorku ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ).

Elektrotermická atomizace se používá pro stanovení prvků o nižších koncentracích ve vzorku. Při tomto druhu atomizace dochází k absorpci záření z celého objemu vzorku. Dávkovaný objem vzorku je v řádech  $\mu\text{l}$ .

Velká část této práce je věnována optimalizovaným parametrům s cílem dosáhnout co největší citlivosti. Byly optimalizovány parametry pro užití plamenového a elektrotermického atomizátoru. Pro stanovení rubidia v reálných vzorcích byla využita technika ET-AAS. Výsledky byly vyhodnocovány na základě kalibrační křivky, která byla sestrojena po proměření absorbancí kalibračních roztoků o známých koncentracích.

## 1.1. Cíle diplomové práce

- Optimalizace parametrů pro stanovení rubidia na spektrometru GBC 933 AA s plamenovou atomizací
- Optimalizace parametrů pro stanovení rubidia na spektrometru ContrAA 700 s plamenovou atomizací
- Optimalizace parametrů pro stanovení rubidia na spektrometru ContrAA 700 s elektrotermickou atomizací
- Stanovení koncentrace rubidia ve vzorcích ovocných a zeleninových šťáv vhodnou technikou atomizace na základě provedených optimalizací

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) se řadí mezi vysoce výkonné, citlivé a rychlé spektrální metody. AAS je využívána pro kvantitativní stanovení prvků pomocí absorpce elektromagnetického záření volných atomů nacházejících se v plynném stavu. Tato technika nachází uplatnění v mnoha odvětvích, například ve farmacii, klinické analýze, nebo v potravinovém průmyslu<sup>1,2</sup>.

#### 2.1.1 Historický vývoj AAS

AAS je poměrně moderní technologií mezi analytickými metodami, v roce 1955 byla popsána Walshem.

Vývoj optických metod sahá do 2. poloviny 17. století. Zakladatelem optiky a spektroskopie byl český lékař, matematik a fyzik Jan Marek Marci z Kronlandu. Zabýval se lomem a odrazem světla ještě před Isaacem Newtonem. V roce 1666 použil Isaac Newton optický hranol k důkazu, že je světlo složeno z barevného spektra. A barevné spektrum rozdělil na sedm základních barev. Tyto poznatky uvedl ve svém díle Optika. V roce 1802 bylo na Newtonův experiment navázáno. Anglický fyzik a chemik William Hyde Wollaston, objevil při zkoumání slunečního spektra tmavé čáry.

V roce 1817 se tmavými čárami začal zabývat německý fyzik, chemik a astronom Joseph von Fraunhofer, který jich přes 500 rozlišil a označil. Do dnes nesou jeho jméno. Vysvětlením Fraunhoferových čar se zabýval Gustav Kirchhoff a Robert Wilhelm Bunsen. Popsali, že tmavé čáry byly způsobeny absorpcí záření v chladnějších povrchových vrstvách hvězd v atmosféře. Také popsali obecné zákony emise a absorpce světla<sup>3,4</sup>.

## 2.2 Princip techniky AAS

Technika AAS využívá schopnosti volných atomů v základním stavu absorbovat elektromagnetické záření o jisté energii, a tedy i vlnové délce. Při absorpci nebo emisi záření dochází k přesunu elektronů mezi energeticky nižšími a vyššími hladinami <sup>2</sup>. Stanovení daného prvku je prováděno na rezonanční čáře. Jedná se o absorpční čáru odpovídající obvykle nejvyšší pravděpodobnosti. Pro atom každého prvku je charakteristické uspořádání energetických hladin v elektronovém obalu, a tedy i energetické rozdíly odpovídající přechodům elektronu mezi těmito hladinami. Odpovídající absorbované vlnové délky jsou pak charakteristické pro atom každého prvku, čímž je zajištěna vysoká selektivita techniky AAS. Množství absorbovaných fotonů je úměrné množství atomů nacházejících se v základním stavu. Excitované atomy jsou stabilní velmi krátkou dobu ( $10^{-8}$  až  $10^{-9}$  s) <sup>5</sup>. Množství stanovovaných atomů je úměrné úbytku primárního záření, které bylo absorbováno těmito volnými atomy <sup>2</sup>.

### 2.2.1 Základní vztahy

Při absorbování či emitování elektromagnetického záření (tj.fotony) atomy dochází k přechodu valenčních elektronů mezi jednotlivými energetickými hladinami. Při tomto přechodu foton přenáší energii <sup>6</sup>. Energie je rovna úbytku nebo přírůstku energie atomu  $\Delta E$  podle Planckova vztahu <sup>7</sup>:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h \cdot \nu$$

$E_2$ a $E_1$	energie atomů ve vyšším a nižším energetickém stavu
$h$	Planckova konstanta ( $6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s)
$\nu$	frekvence záření (Hz)

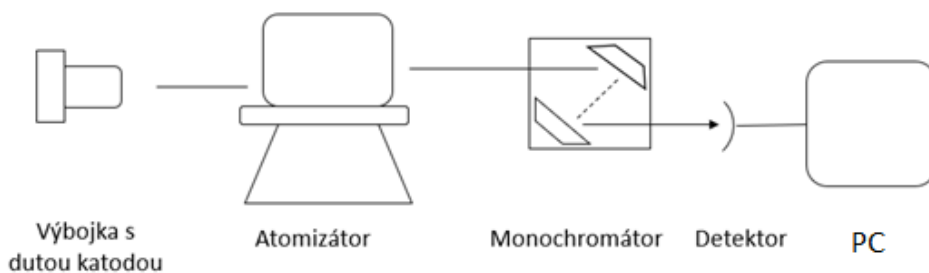
Atomy jsou schopny absorbovat elektromagnetické záření o své charakteristické vlnové délce. Při absorpci záření, dochází k potlačení paprsku záření v souladu s absorpčním zákonem, známým jako Lambert-Beerův zákon <sup>5</sup>.

$$\Phi = \Phi_0 \cdot e^{-a \cdot b \cdot N}$$

$\Phi$	tok záření propuštěné absorpčním prostředím
$\Phi_0$	tok záření vstupujícího do absorpčního prostředí
$a$	monochromatický absorpční koeficient
$b$	tloušťka absorbujícího prostředí
$N$	počet absorbujících částic v objemové jednotce

### 2.3 Instrumentace v AAS

Atomový absorpční spektrometr je kombinace optických i mechanických částí, potřebných ke správnému stanovení. Mezi části spektrometru patří: zdroj primárního záření, atomizátor, monochromátor, detektor a počítač<sup>2</sup>. Pro emisi záření charakteristické vlnové délky se využívá výbojka s dutou katodou, která je vyrobená ze stanovovaného prvku. V atomizátoru dochází k disociaci molekul na volné atomy. Volné atomy absorbují rezonanční záření o určité vlnové délce, absorpcí dochází ke snížení intenzity dopadajícího paprsku na detektor. Pomocí monochromátoru izolujeme požadované rezonanční záření, které dopadá na fotonásobič<sup>8</sup>. Základní uspořádání atomového absorpčního spektrometru je na obr. 2.1.



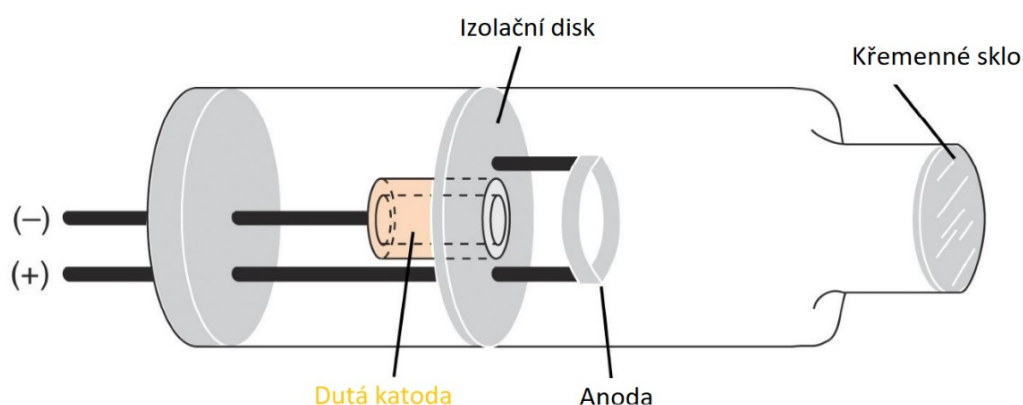
Obr. 2.1: Základní uspořádání atomového absorpčního spektrometru

### 2.3.1 Zdroje primárního záření

Zdroje primárního záření používané se v AAS, jsou většinou výbojky s dutou katodou (HCL), bezelektrodové výbojky (EDL) nebo zdroje v podobě laseru. U zdrojů záření se klade důraz na stabilitu, cenu a životnost. Funkcemi primárního zdroje záření je poskytovat světlo o specifické vlnové délce<sup>9</sup>. V AAS se preferují čárové zdroje záření, jež soustřeďují intenzivní energii do úzkého spektrálního intervalu<sup>10</sup>. Zdroje jsou využívány k emisi spektrálních čar, které odpovídají energii potřebné k přechodu ze základního stavu do excitovaného stavu atomů<sup>11</sup>.

#### *Výbojka s dutou katodou*

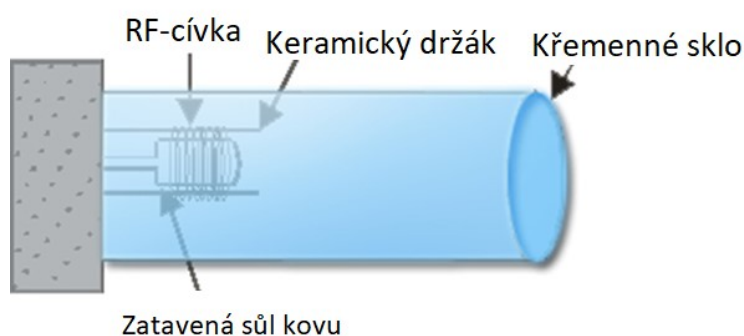
HCL (hollow cathode lamps) emituje čárové spektrum o vhodné pološifce čar. Výbojky jsou vyrobeny z optického skla a uvnitř se nachází dvě elektrody. Katoda je tvořena z prvku, jehož emisní čáry jsou potřeba ke stanovení daného prvku. Výplň katody je vyráběna z čistého materiálu daného prvku nebo se využívá nosič. Nosič je dutý váleček do něhož je vložena folie kovu nebo je nanesen kov v podobě prášku pomocí sinitrace<sup>9, 12</sup>. Prostor výbojky je vyplněn inertním plynem neonem nebo argonem pod tlakem 130-700 Pa. Výbojka je napájena proudem 2-30 mA a na elektrody je vloženo napětí 500 V. Po vložení napětí dochází k ionizaci plynu srážkami s urychlenými elektrony. Kationty udeří na povrch katody a dojde k vyražení atomů kovu. Atomy kovu jsou excitovány srážkami s ionty, po vyzáření fotonu se vrací zpět do základního stavu. Životnost výbojky je závislá na plnicím plynu<sup>12, 13</sup>. Na obr. 2.2 je vyobrazena výbojka s dutou katodou.



Obr. 2.2: Výbojka s dutou katodou. Převzato a upraveno<sup>12</sup>.

### ***Bezelektrodová výbojka***

Další volbou zdroje primárního záření je EDL. Výbojka funguje na principu výboje ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli. Výbojka je tvořena z křemenného skla, naplněna vzácným plynem obsahující těžké sloučeniny stanovovaného prvku. Výbojka je umístěna do vysokofrekvenčního zdroje, po přívodu energie se vytvoří stabilní prstencový výboj a dojde k emisi spektrálních čar. Frekvence těchto zdrojů je okolo 27 MHz<sup>14</sup>. Životnost těchto výbojek je vyšší než u HCL, stejně tak je to s intenzitou záření. Pomocí této výbojky lze stanovit jen omezené množství prvků, stanovit se dá Se, Sn, Sb, As, Bi, ale také P, Pb, Zn. V klasických přístrojích AAS tento zdroj není zabudován, a zdroj je nutné zakoupit<sup>15</sup>. Na obr. 2.3 je vyobrazena bezelektrodová výbojka.



Obr. 2.3: Bezelektrodová výbojka. Převzato a upraveno<sup>15</sup>.

### **2.3.2 Atomizátor**

Pomocí atomizátoru dochází k převedení vzorku na volné atomy prvku v plynném stavu. U atomizátoru předpokládáme dostatečnou teplotu (1900 - 3000 °C), aby k atomizaci došlo, ale nezamezilo se výraznější excitaci atomů<sup>2</sup>.

#### ***Plamenový atomizátor***

U plamenového atomizátoru se ve většině případů používá předmíchávaný hořák, jde o část atomizátoru, ve které dochází ke smíšení paliva s oxidačním činidlem<sup>16</sup>. Vzorek je pomocí podtlaku vtáhnut do pneumatického zmlžovače. Kapalný vzorek dosáhne vysoké lineární rychlosti a je nasměrován proti skleněné tříštící kuličce. Výsledkem je vznik aerosolu, avšak účinnost převodu vzorku na aerosol se obvykle pohybuje do 10 %. Ten je rozprášen

do směsi paliva a oxidovadla a je dál unášen do plamene přes přepážky, které podporují další míchání těchto tří složek a zabraňují vstupu větších kapiček do plamene hořáku. Přebytečná kapalina se hromadí na dně zmlžovací komory a je odváděna do odpadní nádoby<sup>12, 17</sup>.

Nejběžnějšími kombinacemi paliva a oxidačního činidla je acetylen-vzduch pokud je pro atomizace zapotřebí plamen o vyšší teplotě využívá se směs acetylen-oxid dusný<sup>12</sup>. Na obr. 2.4 je periodická tabulka s vhodnou kombinací paliva a oxidačního činidla pro daný prvek.

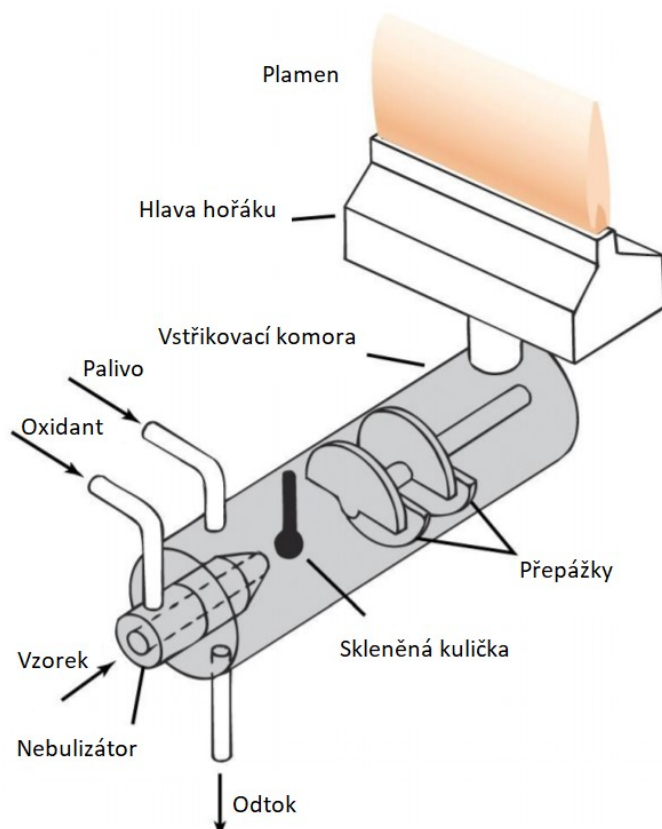
H																He	
Li	Be										B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg										Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba		Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra																
		La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	
		Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr	

Prvky stanovované v plameni acetylen-vzduch

Prvky stanovované v plameni acetylen-oxid dusný

Obr. 2.4. *Vhodná směs paliva a oxidačního činidla pro daný prvek. Vlastní obrázek.*

Různé prvky vyžadují jiné parametry pro stanovení. Mezi parametry patří výška plamene, při které je pozorována maximální atomová absorpce nebo emise, také záleží na průtokových rychlostech paliva a oxidačního činidla<sup>12</sup>. Na obr. 2.5 (str. 16) je schéma plamenového atomizátoru.



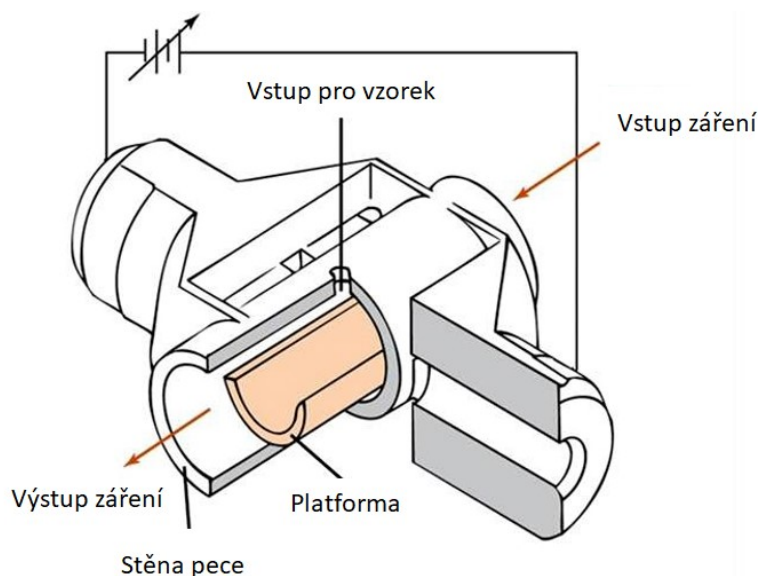
Obr. 2.5: Schéma plamenového atomizátoru. Převzato a upraveno <sup>12</sup>.

### ***Elektrotermický atomizátor***

U elektrotermického atomizátoru se využívá odporově vyhřívaná grafitová kyveta. Kyveta je více citlivá než plamen a vyžaduje tedy menší množství vzorku (10-50  $\mu$ l). Vzorek je aplikován automatickou injekcí do otvoru přímo uprostřed kyvety, tím se zlepšuje reprodukovatelnost metody, dosahuje se také vyšší citlivosti než u plamenové techniky, a to díky tomu, že kyveta zadržuje plynný vzorek v optické dráze několik sekund. Záření z primárního zdroje prochází skrz grafitovou kyvetu <sup>12, 18</sup>. Grafitovou kyvetou proudí argon, aby se zabránilo oxidaci grafitu <sup>12</sup>. Pro elektrotermický atomizátor se mohou použít různé typy grafitových kyvet. Vzorek může být aplikován na stěnu kyvety, na platformu, nebo na sondu <sup>2</sup>. Na obr. 2.6 (str. 17), schéma grafitové kyvety s L'vov platformou.

Vzorek je injekčně nadávkován na platformu. Dochází ke třem krokům sušení, po ukončení sušení dochází ke dvojité pyrolýze, adaptaci plynu a následné atomizaci. Po atomizaci následuje krok čištění grafitové kyvety, která se vypálí vysokou teplotou 2450 °C.



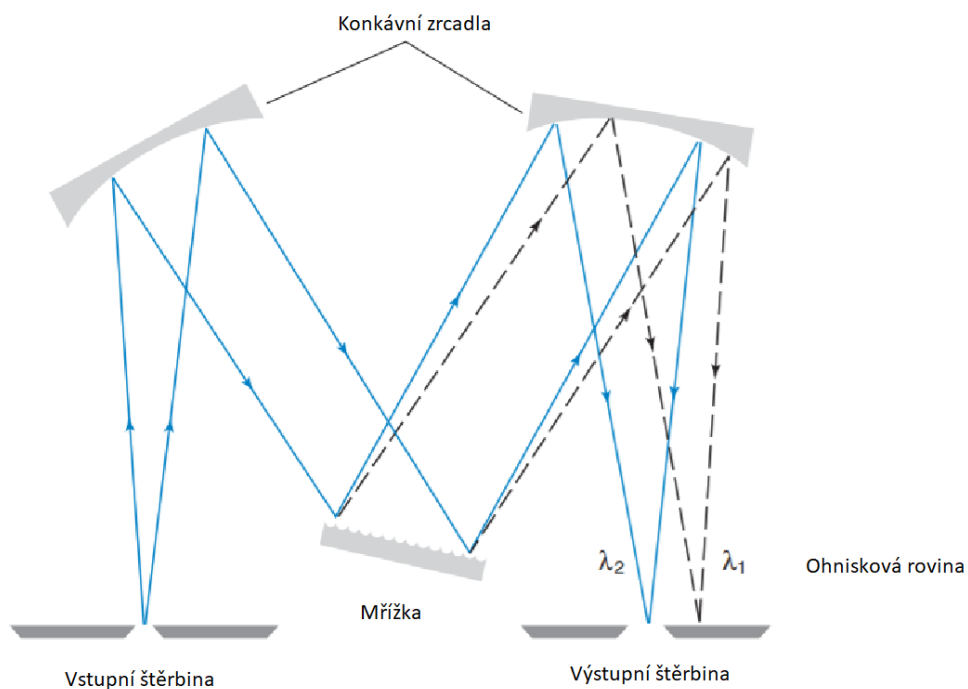


Obr. 2.6: Grafitová kyveta s L'vov platformou. Převzato a upraveno <sup>12</sup>.

### 2.3.3 Monochromátor

Monochromátor má funkci izolovat z dopadajícího záření úzký spektrální interval, který obsahuje příslušnou rezonanční čáru stanovovaného prvku. Izolované záření poté dopadá na detektor <sup>19</sup>. Monochromátor se skládá ze vstupních a výstupních štěrbin, zrcadel a mřížky. Mřížky jsou v dnešní době nahrazovány optickými hranoly. Různé vlnové délky světla se od mřížky odráží v různých úhlech. Pokud se paprsek odrazí od mřížky dochází k tzv. difrakci. Odrazu paprsku od hranolu se říká refrakce <sup>12, 20</sup>.

Nejčastěji používané uspořádání monochromátoru je tzv. Czerny-Turner (viz obr. 2.7, str 18). Světlo ze zdroje vstupuje do monochromátoru skrz vstupní štěrbinu a dopadá na konkávní zrcadlo, které kolimuje světlo a odráží ho na mřížku. Dochází k difrakci a dopadu rozptýleného světla na další konkávní zrcadlo, které zaostruje světlo na výstupní štěrbinu <sup>21</sup>. Pomocí vstupní a výstupní štěrbin jsme schopni regulovat šířku spektrálního intervalu od 0,1 nm až 2,0 nm. Šířka profilu rezonanční čáry je 0,001 nm. Šířku spektrálního intervalu volíme tak, aby spolu s rezonančním zářením nedopadalo na detektor neabsorbující záření čar s blízkými vlnovými délkami <sup>9, 22</sup>.



Obr. 2.7: Schéma monochromátoru Czerny-Turner. Převzato a upraveno <sup>12</sup>.

### 2.3.4 Detektor

K detekci toku záření se za výstupní štěrbinu monochromátoru zařazuje detektor. Jde obvykle o fotonásobič. Fotonásobič se většinou skládá z anody, fotokatody a soustavy dynod. Fotokatoda má citlivost pro sledování v oblasti spektra 190-900 nm. Při dopadu fotonů na fotoemisní povrch (fotokatodu) dochází k uvolnění elektronů, které jsou následně urychlovány elektrickým polem k anodě. Dynody jsou umístěny mezi fotokatodou a anodou, když elektrony dopadnou na dynodu vyrazí z ní sekundární elektrony. Pomocí dynod je zvyšován proud mezi fotokatodou a anodou <sup>12, 23</sup>.

## 2.4 Interference

Interference mohou být definovány jako rušivé vlivy matrice při stanovení analyzovaného prvku. V AAS se jako interferenční jev považuje vliv, jenž způsobí systematické chyby a odchylky v měření signálu. Interference v AAS dělíme na spektrální a nespektrální.

### *Spektrální interference*

Nejběžnější spektrální interferencí je překryv spektrálních čar, které leží velice blízko sebe a detektor není schopen je od sebe oddělit. Interferenční vliv je tak veliký, jako je poměr intenzit obou překrývajících se čar a také poměr koncentrace měřený a interferující prvek<sup>24</sup>.

### *Nespektrální interference*

Mezi nespektrální interference patří jevy ovlivňující informaci díky odlišným chemickým nebo fyzikálním vlastnostem analyzovaného roztoku. Mezi takové jevy patří tvorba nerozpustných solí, rozdílná viskozita analyzovaného vzorku, ionizační jevy. K ionizačním jevům dochází při stanovení prvků s nízkým ionizačním potenciálem (alkalické kovy, kovy alkalických zemin)<sup>24</sup>.

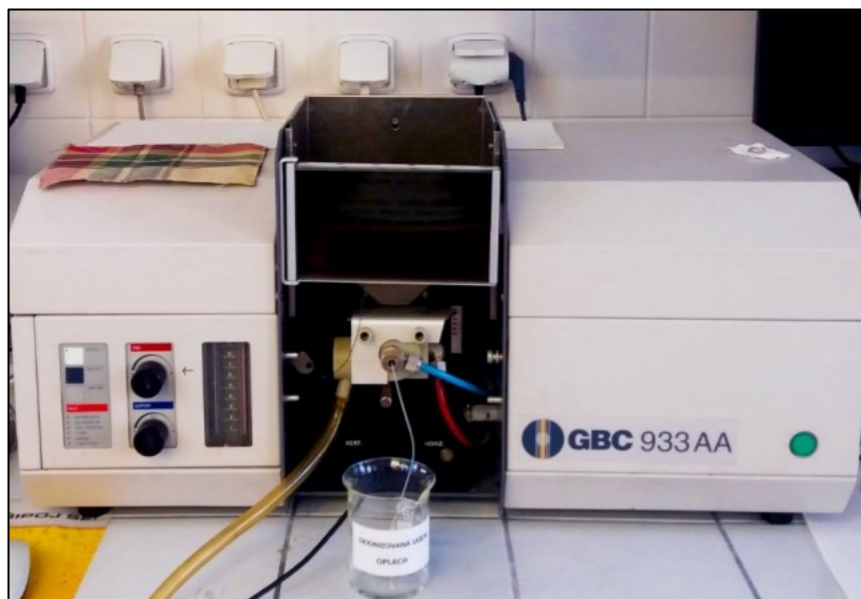
## 2.5 Atomový absorpční spektrometr GBC 933 AA

GBC 933 AA je jednopaprskový model atomového absorpčního spektrometru od GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australia, obr. 2.8 (str.20.) Zdrojem záření je výbojka s dutou katodou, zářivý tok je regulován pomocí elektricky přerušovaného napájecího proudu. Druhý tzv. srovnávací paprsek je tvořen mechanickým rotačním přerušovačem zářivého toku.

V přístroji je zabudován mřížkový monochromátor se střední disperzí s fokální délkou 333 mm, šířka spektrálního intervalu se pohybuje v rozpětí od 0,2 nm do 1 nm. Přístroj k detekci využívá širokoúhlý fotonásobič s rozsahem 185-900 nm.

Přístroj kromě regulování průtoku plynů, je plně řízen softwarem. Mikroprocesorem je řízeno sledování vstupního tlaku oxidovadla a paliva. U přístroje je možnost volby druhu plamene acetylen-vzduch, acetylen-oxid dusný. Při závadě dochází k automatickému zhasnutí plamene a nelze plamen znovu zapálit, dokud není závada odstraněna. Při použití plamene acetylen-oxid dusný je nutné používat hořák se štěrbinou 50 mm. S jiným hořákem

pro vysokoteplotní plamen nelze směs zapálit. Naměřené výsledky absorbance, lze sledovat na grafickém záznamu v počítači <sup>25</sup>.



Obr. 2.8: *GBC 933 AA spektrometr*  
(pořízeno v laboratoři pokročilého analytického praktika)

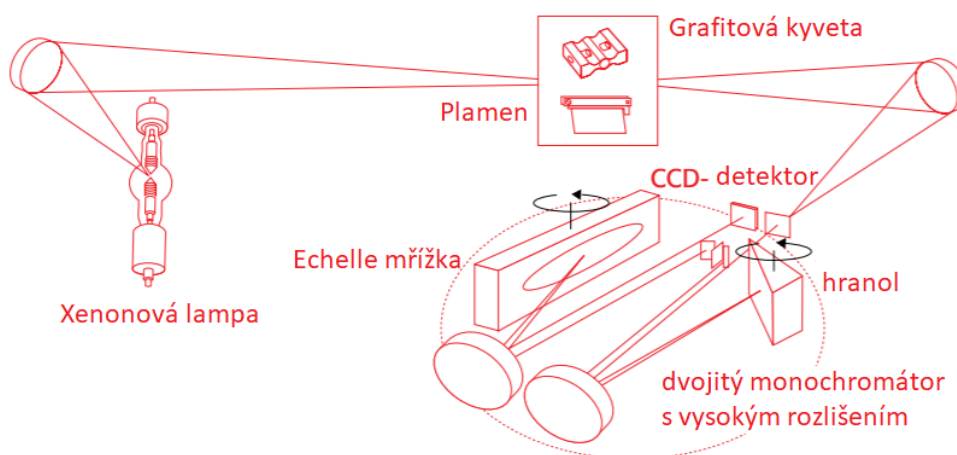
## 2.6 Atomový absorpční spektrometr ContrAA 700

ContrAA 700 je atomový absorpční spektrometr od firmy Analytik Jena AG, Germany, využívající kontinuální zdroj záření. Atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem s vysokým rozlišením (HR-CS AAS) se využívá ke stanovení stopových a ultrastopových koncentrací ve vzorku. Kontinuálním zdrojem záření je xenonová výbojka s koncentrovanou velmi intenzivní zářivou zónou a s krátkým obloukem. AAS s kontinuálním zdrojem se vyznačují dokonalými detekčními limity a nízkým šumem, a to kvůli vysoké intenzitě záření xenonové lampy a kontinuálnímu signálu. Zdroj záření nabízí analytické možnosti pro široký spektrální rozsah, od UV až po infračervené záření <sup>26, 27</sup>.

Optický systém je založen na dvojitým monochromátoru (design DEMON) s hranolovým předmonochromátorem a monochromátorem echelle. Monochromátor s vysokým rozlišením mapuje jednotlivé vlnové délky rozloženého kontinuálního záření na pixely CCD detektoru. Při hodnotách přibližně 0,002 nm na pixel a přibližně 500 pixelů v detekční lince, umožňuje simultánní pozorování spektrálního rozsahu téměř 1 nm. Detekce pomocí CCD detektoru

je založena na fotoefektu. CCD detektor se skládá z fotosenzitivních polovodičových částí, uspořádaných v pixelech o délce několika mikrometrů. Technologie těchto detektorů se používá už dlouho v astronomii, ale také v jakékoli digitální fotografii nebo videokameře<sup>26-29</sup>.

ContrAA 700 kombinuje více technik atomizace (plamen, hydrid, grafitová pec) v jednom přístroji. Data jsou vyhodnocována pomocí softwaru Aspect CS přímo od výrobce Analytik Jena<sup>30</sup>. Na obr. 2.9 je znázorněný spektrometr ContrAA 700 a schéma HR-CS-AAS.



Obr. 2.9: Přístroj ContrAA 700 a schéma HR-CS-AAS. Převzato a upraveno<sup>30</sup>.

## 2.7 Kontinuální zdroje záření

Pro spolehlivé užívání kontinuálního zdroje v AAS je nutné použít současně monochromátor s rozlišením přibližně 2 pikometry, aby došlo k rozdělení spektrální čar a došlo k potlačení spektrálních interferencí. Vysoké požadavky jsou současně kladeny také na dostatečnou intenzitu záření, která by poskytla dobrý poměr signál/šum v takto úzkém intervalu <sup>4</sup>.

Postupně došlo k vývoji kontinuálních zdrojů i monochromátorů. Začaly se používat 300 W xenonové výbojky pracující v režimu hot-spot. V tomto režimu vzniká mezi elektrodami plazmový výboj, tím má xenonová výbojka mnohem vyšší zářivost, a to v celém rozsahu, který se používá v AAS (190-850 nm), ale také v oblasti nacházející se pod 190 nm <sup>26</sup>. Na obr. 2.10 je vyobrazena xenonová výbojka, používaná ve spektrometrech s kontinuálním zdrojem záření.



Obr. 2.10: Xenonová výbojka. Převzato z <sup>30</sup>.

S xenonovou výbojkou jako kontinuálním zdrojem, došlo i k vývoji monochromátoru ve spektrometrech. Začal se používat tzv. DEMON monochromátor, složený z dvojitého echelle monochromátoru s optickým hranolem. V tomto monochromátoru dochází k rozdělení záření s vysokým rozlišením <sup>31,32</sup>. Při 200 nm dosahuje FWHM 2,7 pm, při 500 nm je to 6,7 pm. Tyto hodnoty jsou vhodné pro užití CS-AAS <sup>26</sup>.

## 2.8 Alkalické kovy

Alkalické kovy také označovány jako prvky I.A podskupiny periodické soustavy: *lithium, sodík, draslík, rubidium, cesium a francium*. Mezi charakteristické vlastnosti těchto prvků patří měkký kov, stříbřité barvy. Alkalické kovy tají při poměrně nízkých teplotách. Kovy a jejich slitiny je nutné uchovávat v inertní atmosféře nebo v petroleji. Díky své vysoké reaktivitě se alkalické kovy vyskytují v přírodě pouze ve formě sloučenin<sup>33</sup>.

### 2.8.1 Rubidium

Rubidium bylo objeveno pomocí spektroskopie německými chemiky v 19. století. Patří k prvkům alkalické rodiny, jeho teplota tání je 39°C a teplota varu 688°C. Rubidium je druhým nejelektropozitivnějším prvkem a je považován za 23. nejhojnější prvek v zemské kůře<sup>34,35</sup>.

Přírodní rubidium je složeno ze dvou izotopů, <sup>85</sup>Rb a <sup>87</sup>Rb, z toho vyplývá, že <sup>87</sup>Rb je radioaktivní izotop. <sup>87</sup>Rb se používá v atomových hodinách pro udržení přesnosti, k odhadu stáří hornin, ale také k lokalizaci mozkových nádorů. Radioaktivní izotop rubidia má vlastnost shromažďovat se v nádorových tkáních<sup>36</sup>.

V přírodě je rubidium přítomný ve významném množství v minerálech, jako je lepidolit, polucit a karnalit. Ve stopovém množství se vyskytuje i v jiných minerálech. Rubidium se vyskytuje v půdách bohatých na jíl, nebo v půdách vzniklých sopečnou činností. Rubidium se ročně vyrábí v malém množství. Používá se pro výrobu fotočlánků, odstraňovač kyslíku z vakuových trubic, využití má i jako kapalina pro parní turbíny v termoelektrických generátorech<sup>34,37</sup>.

Rubidium nese oxidační číslo +1 a jako sodík nebo draslík vykazuje biologickou aktivitu podobnou s aktivitou draslíku. Rubidium se koncentruje uvnitř intracelulární tekutiny. Ionty rubidia jsou netoxické pro člověka, u zvířat například u krys dochází ke smrti, pokud výrazně stoupne koncentrace rubidia v srdečním svaly a koncentrace draslíku klesne na polovinu. Chlorid rubidný byl dříve testován, jako léčivo k léčbě deprese. U dobrovolníků ve studiu, bylo zjištěno, že lidé trpící depresemi mají sníženou hladinu rubidia. Rubidium není považováno za nezbytnou složku lidské výživy, ale průměrný člověk má asi půl gramovou zásobu rubidia v těle<sup>34,38</sup>.

Rubidium má své zastoupení v přijímané potravě. V dříve prováděné studii v Německu, bylo zjištěno, že látky bohaté na škrob a cukr, jako je chléb, či jiný druh pečiva nebo cukrovinky, jsou chudé na obsah rubidia. Ve vyšším množství 5-60 mg·kg<sup>-1</sup> se rubidium vyskytuje v ovoci a zelenině. Tepelnou úpravou se koncentrace rubidia snižuje. Drůbež nebo sladkovodní ryby jsou bohaté na rubidium. Káva obsahuje 40 mg·kg<sup>-1</sup> rubidia v sušině, černý čaj obsahuje 100 mg·kg<sup>-1</sup> rubidia v sušině <sup>39</sup>.

## 2.8.2 Stanovení rubidia

Pro stanovení rubidia se nejvíce využívá atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací, při které není potřeba velké množství vzorku a díky níž jsou stanovitelné stopové koncentrace <sup>40</sup>. Své zastoupení má i plamenová atomizace, která je oproti elektrotermické atomizaci citlivější na vliv ionizačních interferencí, i když se používají spektrometry s vysokým spektrálním rozlišením <sup>41, 42</sup>. ET-AAS se používá ke stanovení rubidia o koncentraci stopových prvků, v potravinářském průmyslu, ve zdravotnictví, k analýze půdy, vody, jaderného a průmyslového odpadu nebo ke stanovení v rostlinných vzorcích <sup>40</sup>.

Rubidium lze stanovit i pomocí spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS). Mezi hlavní výhody této metody patří mikrodestruktivnost pro vzorek. Pro stanovení není potřeba složitých úprav vzorku například převedení vzorku do roztoku <sup>43</sup>. Techniky LIBS je využívána v potravinářském průmyslu jako rychlý analytický nástroj, ke stanovení rubidia např. v hovězím mase.

Rubidium může být stanoveno i pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Tato metoda se používá pro stanovení stopového množství ve vzorku. Její využití v laboratořích nemá velkého zastoupení, jde sice o metodu velice citlivou, ale také finančně náročnou <sup>44</sup>.

Rubidium je široce zastoupený prvek jako draslík v rostlinné i živočišné říši. Ke stanovení rubidia a draslíku, který je obsažen v intracelulárním prostředí buněk je stanovení pomocí AAS nežádoucí. Současné metody založené na atomové absorpci vyžadují pro každý kationt oddělenou analýzu. Pro takové stanovení je výhodnější metoda HPLC, která umožňuje kompletní analýzu obou kationtů <sup>45</sup>.



### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použité přístroje a zařízení

Stanovení rubidia bylo prováděno pomocí F-AAS a ET-AAS. Byly využity přístroje:

- atomový absorpční spektrometr GBC 933 AA (GBC Scientific Equipment, Austrálie) s plamenovou atomizací (acetylen-vzduch) vybavený výbojkou s dutou katodou pro stanovení Rb (Varian Techtron, Austrálie) jako zdrojem záření. Vstupní parametry přístroje jsou uvedeny v Tab.3.1 (str.26)
- atomový absorpční spektrometr ContrAA 700 (Analytik Jena AG, Německo) s plamenovou atomizací (acetylen-vzduch) i elektrotermickou atomizací Vstupní parametry přístroje jsou uvedeny v Tab.3.2 a Tab.3.3 (str.26)
- analytické váhy (Sartorius, Česká republika)

Příprava ovocných se zeleninových šťáv:

- odšťavňovací zařízení (ESF 103, AEG, Německo)
- centrifuga (Universal 32R, Hettich Zentrifugen, Německo)

#### 3.2 Použité chemikálie

- standardní roztok Rb o koncentraci  $1,000 \pm 0,002 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Analytika, ČR)
- Deionizovaná voda, připravená zařízením Milli-Qplus (Millipore, USA)
- Kyselina dusičná, Analpure, 65 %, (Analytika, ČR)
- Chlorid draselný, p.a. (Lachner, ČR)
- $\text{CsNO}_3$  (Sigma-Aldrich, USA)
- acetylen (čistý UN 1001, Linde Technoplyn, Praha)
- argon (čistý, Linde Technoplyn, Praha)

Tab. 3.1 Vstupní parametry pro měření Rb technikou F-AAS na přístroji GBC 933 AA

Prvek	Rb
Vlnová délka [nm]	780
Napájecí proud [mA]	10
Počet opakování měření	3

Tab. 3.2 Vstupní parametry pro měření Rb technikou F-AAS na přístroji ContrAA 700

Prvek	Rb
Vlnová délka [nm]	780
Napájecí proud [mA]	15
Rozlišení	5 pixelů
Počet opakování měření	3

Tab. 3.3 Vstupní parametry pro měření Rb technikou ET-AAS na přístroji ContrAA 700

Prvek	Rb
Vlnová délka [nm]	780
Napájecí proud [mA]	15
Rozlišení	5 pixelů
Dávkovaný objem [ $\mu$ l]	20
Počet opakování měření	2
Integrační čas měření [s]	5
Teplota sušení 1 [°C]	110
Teplota sušení 2 [°C]	130
Čištění kyvety [°C]	2450

### 3.3 Pracovní postup

V této části jsou uvedeny postupy, pro přípravu roztoků potřebných pro optimalizace jednotlivých parametrů daného spektrometru a stanovení kalibrační závislosti.

#### 3.3.1 Příprava roztoků pro optimalizace

Pro optimalizace na přístroji GBC 933 AA s plamenovou atomizací, byly použity roztoky rubidia o koncentraci  $1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Ze standardního zásobního roztoku rubidia o koncentraci  $1000 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  bylo odpipetováno  $100 \mu\text{l}$  do  $100 \text{ ml}$  odměrné baňky. Baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku.

Pro přístroj ContrAA 700 ve spojení s plamenovou atomizací byly použity roztoky o koncentraci  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Ze standardního zásobního roztoku rubidia o koncentraci  $1000 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  bylo odpipetováno  $100 \mu\text{l}$  do  $100 \text{ ml}$  odměrné baňky. Baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku. Z takto připraveného roztoku byl odebrán  $1 \text{ ml}$  do  $10 \text{ ml}$  odměrné baňky. Do baňky bylo také přidáno  $0,2 \text{ ml}$  roztoku KCl o finální koncentraci drasených iontů  $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , pro potlačení interferencí a baňka byla doplněna po rysku deionizovanou vodou.

Pro optimalizaci na přístroji ContrAA 700 s elektrotermickou atomizací byly používány roztoky s koncentrací rubidia  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Ze standardního zásobního roztoku rubidia o koncentraci  $1000 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , bylo odpipetováno  $100 \mu\text{l}$  do  $100 \text{ ml}$  odměrné baňky. Baňka byla doplněna deionizovanou vodou po rysku. Z takto připraveného roztoku byl odebrán  $1 \text{ ml}$  do  $100 \text{ ml}$  odměrné baňky, a baňka byla doplněna po rysku deionizovanou vodou.

#### 3.3.2 Příprava kalibračních roztoků

Pro stanovení kalibrační závislosti na přístroji GBC 933 AA byly kalibrační roztoky připravovány ze standardního zásobního roztoku rubidia o koncentraci  $1000 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Množství standardního zásobního roztoku bylo pipetováno do  $10 \text{ ml}$  odměrných baněk a doplněno po rysku deionizovanou vodou. Koncentrace kalibračních roztoků pro měření závislosti pomocí F-AAS byly: 0; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 5; 7  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

K potlačení interferencí stanoveného prvku, byl do jedné sady kalibračních roztoků přidán  $\text{CsNO}_3$  (0,2 ml roztoku na 10 ml kalibračního roztoku) s finální koncentrací cesných iontů  $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$

Pro stanovení kalibrační závislosti na přístroji ContraAA 700 byly kalibrační roztoky připravovány ze standardního zásobního roztoku rubidia o koncentraci  $1000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Množství standardního zásobního roztoku bylo pipetováno do 10 ml odměrných baněk a doplněno po rysku deionizovanou vodou. Koncentrace kalibračních roztoků pro měření závislosti pomocí F-AAS byly: 0; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 5  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  k těmto roztokům byl také přidáván roztok KCl o finální koncentraci draselných iontu  $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Koncentrace kalibračních roztoků pro měření závislosti pomocí ET-AAS byly: 0; 10; 25; 50; 100  $\mu\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

### **3.4 Příprava reálných vzorků**

V rámci této práce bylo měřeno 36 vzorků ovocných a zeleninových extraktů (šťáv), které byly připraveny na katedře biochemie.

K získání extraktu bylo nutné zváženy rostlinný materiál nadrobno nakrájet a následně ho odšťavit. Získaná šťáva byla filtrována přes dvě vrstvy gázy od větších rostlinných zbytků a byl změřen její objem. Filtrát byl centrifugován po dobu 30 minut při zrychlení 9000 g a teplotě  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Připravené extrakty byly skladovány v mikrozkuvkách při teplotě  $-28 \text{ }^\circ\text{C}$ , pro další použití. Tab.3.4 (str. 29), obsahuje názvy použitých rostlinných materiálu, jejich surovou váhu a objem tekutiny po odšťavení a odfiltrování rostlinných zbytků.

Tab. 3.4 Rostlinný materiál pro stanovení rubidia

č.vzorku	Název	Hmotnost [g]	Objem tekutiny [ml]
1.	meruňka	247,1	82,0
2.	malina	127,3	40,0
3.	jahoda	170,4	98,0
4.	broskev	328,7	162,0
5.	červený rybíz	125,0	32,0
6.	višeň	83,8	27,0
7.	kaki	321,8	26,0
8.	nashi	331,6	135,0
9.	máslová dýně	292,1	79,0
10.	kiwi	267,5	144,0
11.	rajče	280,2	148,0
12.	pomeranč	334,7	157,0
13.	citron	229,9	85,0
14.	limetka	214,2	74,0
15.	cuketa	281,9	111,0
16.	mandarinka	217,8	103,0
17.	avokádo	337,6	60,0
18.	pomelo	389,2	95,0
19.	gřep	391,9	164,0
20.	petržel	263,7	76,0
21.	mrkev (obecná,setá)	234,0	92,0
22.	kurkuma (kurkumovník dlouhý)	125,5	75,0
23.	zázvor	230,9	136,0
24.	červená řepa	362,0	146,0
25.	cibule	282,5	141,0
26.	miřík celer	311,8	80,0
27.	hlávkový salát (locika setá)	166,5	79,0
28.	kedluben (brukev zelná)	389,1	122,0
29.	ledový salát (locika setá)	261,3	108,0
30.	čínské zelí (brukev pekingská)	310,1	120,0
31.	brokolice (brukev zelná)	322,1	59,0
32.	galgán červený	183,7	57,0
33.	ředkvička	250,5	96,0
34.	špenát setý	129,0	46,0
35.	ředkev bílá	448,8	159,0
36.	galgán bílý	97,6	48,0

### 3.5 Statistické zpracování

S vyhodnocením analytických měření je také nezbytné zohlednit, s jakou přesností byly veličiny určovány. Každé měření bylo prováděné třikrát. Z naměřených hodnot byl jako výsledek použit medián. Medián je hodnota ležící uprostřed řady získaných hodnot, které jsou seřazené podle velikosti. Při sudém počtu hodnot je medián daný průměrem prostředních hodnot. Pokud  $n < 7$  je výsledkem medián, roven aritmetickému průměru.

Aritmetický průměr je dán vztahem

$$x = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

kde  $x_i$  představuje naměřenou hodnotu v daném pořadí,  $n$  je počet provedených měření. Aritmetický průměr je více citlivý k odchylce od střední hodnoty pro menší počet naměřených hodnot  $n$ . Z tohoto důvodu je pro nižší počet měření využíván medián. Při malém počtu naměřených hodnot na jednom vzorku, se počítá směrodatná odchylka z daného vztahu:

$$s = k_n \cdot R$$

kde  $R$  je hodnota rozpětí nejvyšší a nejnižší hodnoty získaných výsledků a  $k_n$  je tabelovaný koeficient.

$$R = x_{max} - x_{min}$$

Vypočtené směrodatné odchylky jsou v grafech uvedeny jako chybové úsečky.

Interval spolehlivosti udává, že daná hodnota leží s určitou pravděpodobností uvnitř stanoveného intervalu.

Mez detekce (LOD) je nejnižší koncentrace analytu, jejíž signál je spolehlivě odlišitelný od analytického šumu a lze ji detekovat. Hodnota meze detekce je získána trojnásobkem směrodatné odchylky nízkého (šumového) signálu. Šum základní linie je vypočítán jako směrodatná odchylka vícekrát opakovaného měření stejného vzorku s velmi nízkou koncentrací analytu. Mez stanovitelnosti (LOQ) je nejnižší koncentrace, při níž může být analyt spolehlivě detekován. Hodnota meze stanovitelnosti je získána desetinásobkem směrodatné odchylky nízkého (šumového) signálu.

## 4. VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUSE

Pro účely stanovení rubidia v rostlinných vzorcích byly prováděny především optimalizace experimentálních parametrů za účelem získání co nejvyšší citlivosti stanovení. Byly optimalizovány parametry pro spektrometr s výbojkou s dutou katodou (GBC 933 AA) s plamenovou atomizací a pro spektrometr s kontinuálním zdrojem záření (ContrAA 700) s plamenovou i elektrotermickou atomizací. Mezi optimalizované parametry pro F-AAS patří: průtoková rychlost paliva a oxidovadla, optimalizace plamenového profilu (vertikálního i horizontálního), šířka spektrálního intervalu. Mezi optimalizované parametry pro ET-AAS patří: teplota pyrolýzy a atomizace.

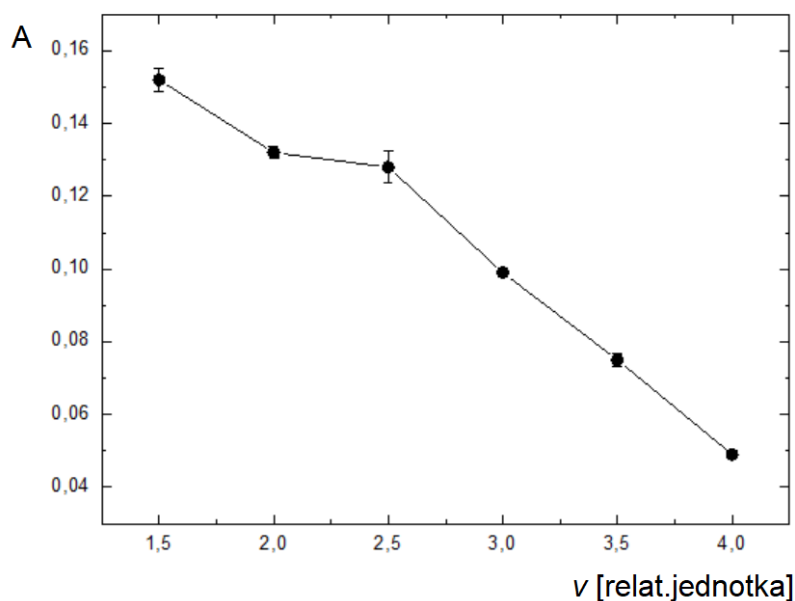
Základní charakteristiky získané za optimálních podmínek posloužily pro porovnání obou přístrojů a ke zvolení vhodnějšího přístroje pro stanovení rubidia v rostlinných vzorcích.

### 4.1 Optimalizace přístroje GBC 933 AA s plamenovou atomizací

#### 4.1.1 Optimalizace průtoku acetylenu

Mezi parametry ovlivňující citlivost stanovení rubidia, patří průtoková rychlost paliva. Pro stanovení rubidia se jako palivo používá acetylen. Pro optimalizování podmínek byl použit roztok o koncentraci  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  rubidia. Byl naměřen analytický signál při vlnové délce 780 nm, v závislosti na stoupající průtokové rychlosti acetylenu v rozmezí 1,5 až 4 relativní jednotky.

Jak je patrné z obr. 4.1 (str. 32), nejvyššího analytického signálu bylo dosaženo při průtoku 1,5 relativních jednotek. Je použita relativní jednotka, jelikož průtok je regulován integrovaným rotametrem, jenž má jednotky v dílkách, modernější přístroje mají jednotky průtoku např.  $\text{l} \cdot \text{h}^{-1}$ .



Obr. 4.1: *Závislost absorpance na průtoku acetyleny*

$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;

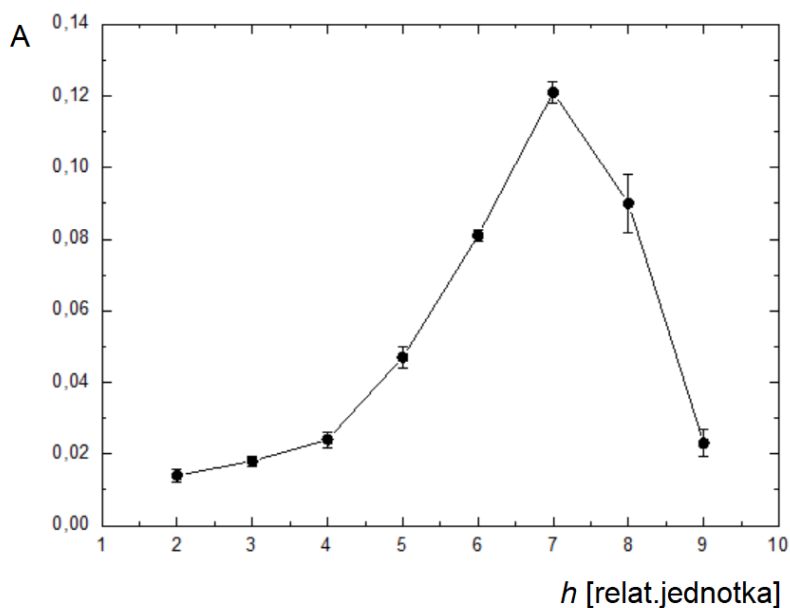
$h = 6$  relativní jednotky

Hodnota průtoku acetyleny 1,5 relativní jednotky byla pro další stanovení zvolena jako optimální. Při nižších průtokových jednotkách acetyleny, docházelo ke zhasínání plamene, proto nebylo možné měřit signál při průtocích nižších než 1,5 relativní jednotky. Nevylučuje se že by citlivost přístroje byla ještě vyšší, kdybychom se dostali pod hodnotu 1,5 relativní jednotky, což z technických důvodů není možné. Naopak při zvyšování průtokové rychlosti paliva docházelo ke snižování analytického signálu. Nízký průtok acetyleny byl očekávaný. Pro stanovení rubidia se používá více oxidovaný plamen <sup>46</sup>.

#### 4.1.2 Optimalizace vertikálního plamenového profilu

Dalším optimalizovaným parametrem je tzv. plamenový profil, výška paprsku primárního záření nad hranou hořáku. Teplota a složení plamene se mění s výškou. Pro každý prvek se zóna, kde je koncentrace volných atomů největší, nachází v jiné výšce nad ústím hořáku. Pro optimalizaci byl použit roztok s koncentrací rubidia  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Výška byla proměřena v rozmezí 2 až 9 relativních jednotek. Výsledek optimalizace tohoto parametru je vidět na obr. 4.2 závislost absorpance na výšce hořáku.





Obr. 4.2: Závislost absorbance na výšce hořáku

$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{act}} = 1,5 \text{ relativní jednotky}$ ;

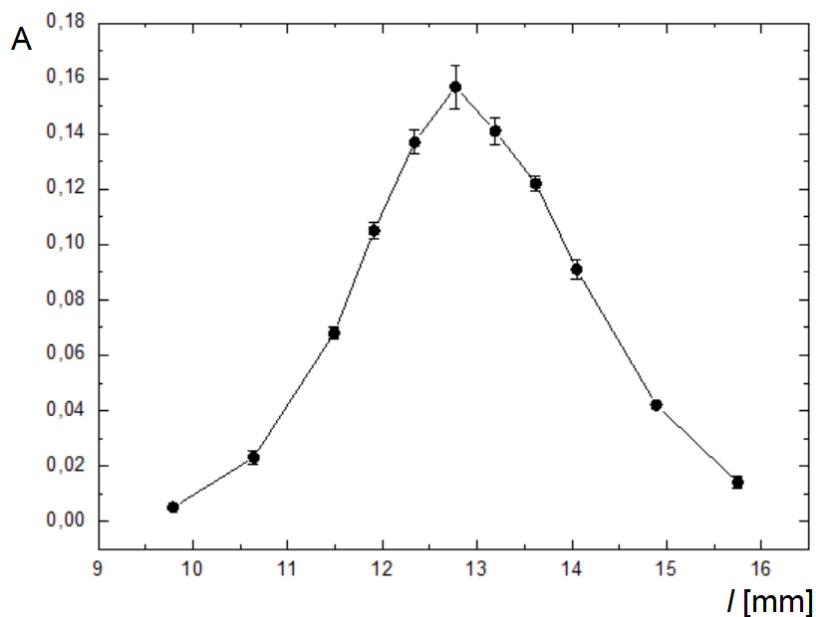
$v_{\text{vzd}} = 7,5 \text{ relativní jednotky}$ .

Z grafu závislosti absorbance na výšce hořáku je patrné, že analytický signál se zvyšující výškou hořáku lehce stoupá, při výšce 7 relativních jednotek byl zaznamenán nejvyšší analytický signál. Pokud se hořák nacházel ve výšce pod 7 relativních jednotek nebyla teplota ani složení plamene dostačující k vytvoření nejvyšší koncentrace volných atomů rubidia v základním stavu. Dále s rostoucí výškou docházelo k poklesu analytického signálu. Pro další měření byla používána výška 7 relativních jednotek, jako optimální výška, při které dochází k nejvyšší absorpci primárního záření volnými atomy prvku v základním stavu.

### 4.1.3 Optimalizace horizontálního plamenového profilu

Nutné bylo také optimalizovat horizontální plamenový profil, který může mít vliv na stanovení rubidia. Je nutné, aby paprsek procházel nad štěrbinu hořáku v celé její délce. Pro optimalizaci byl použit roztok rubidia o koncentraci  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Závislost absorbance na vzdálenosti hořáku je uvedeno na obr. 4.3. Vhodná délka hořáku od zadní stěny krytu hořáku byla hledána v rozmezí 9,75-15,75 mm.



Obr. 4.3: Závislost absorpance na horizontální vzdálenosti hořáku

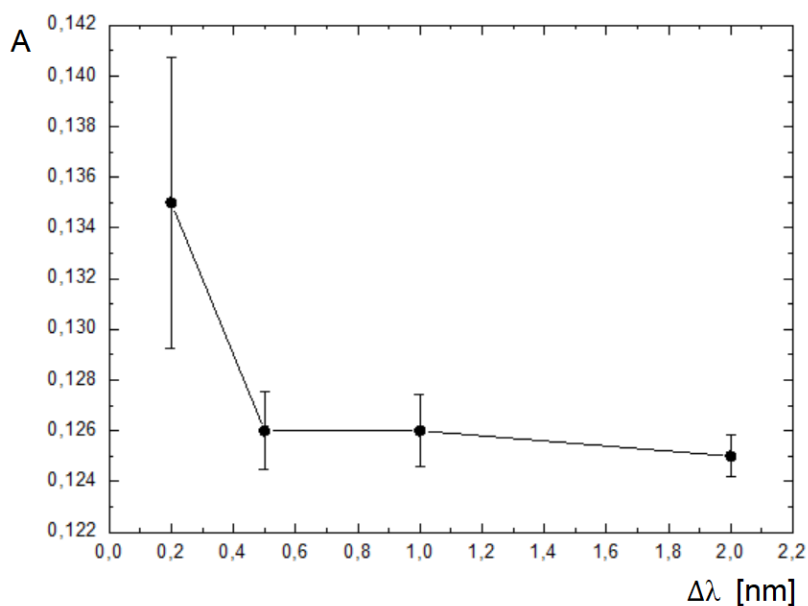
$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $\nu_{\text{act}} = 1,5$  relativní jednotky;

$\nu_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;  $h = 7$  relativních jednotek

Z grafu je patrné, že paprsek ze zdroje primárního záření vede nad celou šířkou štěrbinu hořáku při vzdálenosti 12,77 mm od zadní stěny krytu hořáku. Při vychýlení hořáku mimo vzdálenost 12,77 mm od zadního krytu hořáku docházelo k prudkému snížení analytického signálu. To je dáno tím, že paprsek primárního záření nevede nad celou šířkou štěrbinu hořáku. Lépe se tento parametr definovat nedá, a to kvůli staršímu typu přístroje, kde není možné jiného horizontálního nastavení.

#### 4.1.4 Optimalizace šířky spektrálního intervalu

Další důležitým parametrem ovlivňujícím stanovení, je vhodná šířka spektrálního intervalu. Tento parametr se volí tak, aby na detektor nedopadalo spolu s rezonančním zářením, plamenem emitované záření o blízkých vlnových délkách. Docházelo by k zakřivení koncentrační závislosti absorpance. Pro optimalizaci byl použit roztok o koncentraci  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  rubidia. Šířka byla proměřena v rozmezí 0,2 nm až 2 nm. Na obr. 4.4 je znázorněná závislost absorpance na šířce spektrálního intervalu.



Obr. 4.4: *Závislost absorpance na šířce spektrálního intervalu*

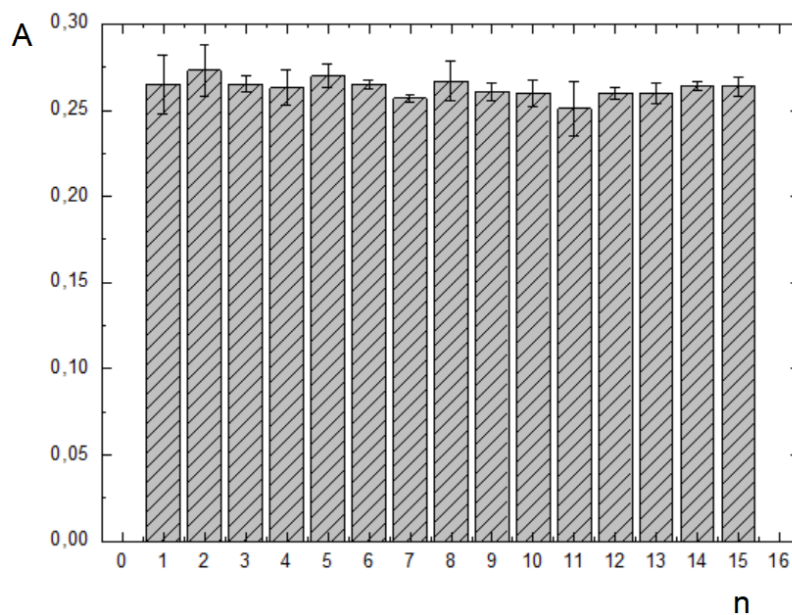
$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{act}} = 1,5$  relativní jednotky;

$v_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;  $h = 6$  relativní jednotky.

Z grafického znázornění závislosti je patrné, že nejvhodnější šířka, při které je analytický signál nejvyšší odpovídá 0,2 nm. Při dalších měření byla hodnota 0,2 nm spektrálního intervalu brána jako optimální pro stanovení, jelikož při dalším zvětšování šířky spektrálního intervalu docházelo ke snížení analytického signálu. Snížení analytického signálu je také dáno tím, že na detektor dopadalo rezonanční záření i plamenem emitované záření podobných vlnových délek.

#### 4.1.5 Opakovatelnost měření

Opakovatelnost měření představuje shodu několika měření za podmínek opakovatelnosti. Podmínkami opakovatelnosti měření jsou: stejný postup měření, stejná osoba obsluhující přístroj, stejný měřicí systém a stejné pracovní místo, podmínky a opakované měření v krátkém časovém intervalu. Pro měření byl použit roztok rubidia o koncentraci  $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Tento roztok byl proměřen kontinuálně patnáctkrát. Výsledky jsou uvedeny na obr. 4.5 (str. 36).



Obr. 4.5: *Opakovatelnost měření*

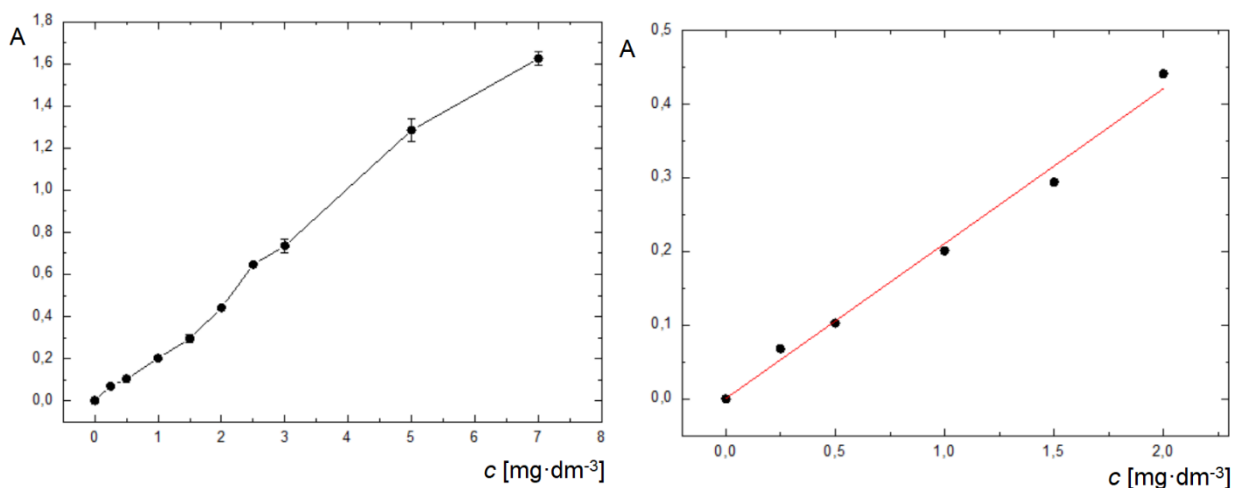
$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{act}} = 1,5$  relativní jednotky.;

$v_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;  $h = 6$  relativní jednotky

Z grafu je patrné, že jednotlivá měření prováděna v krátkém časovém úseku, a po dodržení podmínek opakovatelnosti, vykazují shodu. Měření byla využita ke stanovení meze opakovatelnosti, která je uvedena v Tab. 4.1 (str. 38)

#### 4.1.6 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia

Za uvedených optimalizovaných hodnot (viz. Tab. 4.5, str. 47) vhodných pro stanovení rubidia byla sestrojena kalibrační závislost. Bylo proměřeno 10 roztoků o zvyšující se koncentraci rubidia, a to v rozmezí 0 až  $7 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Kalibrační závislost je uvedena na obr. 4.6.



Obr. 4.6: Závislost absorbance na koncentraci rubidia

$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{act}} = 1,5$  relativní jednotky.;

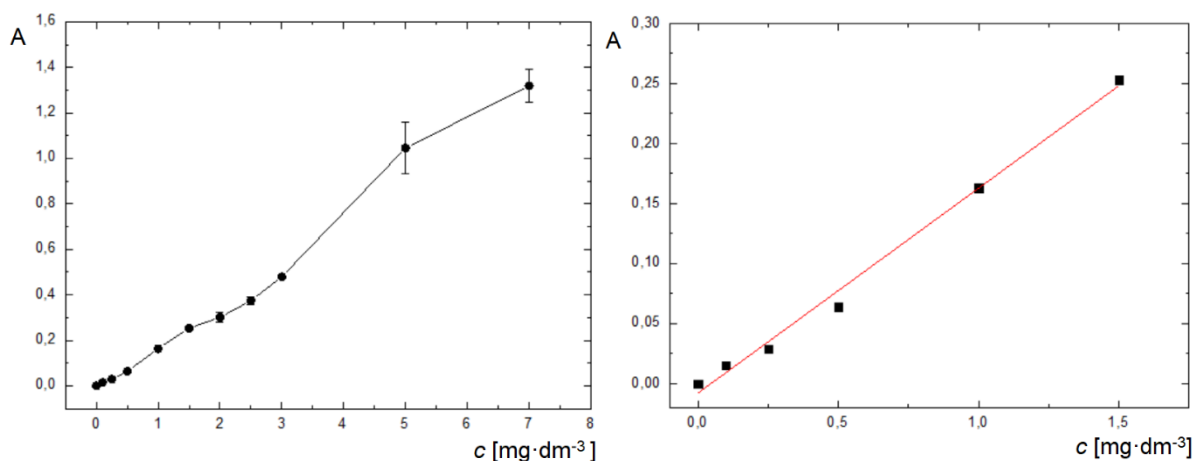
$v_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;  $h = 6$  relativní jednotky

Z kalibrační závislosti a dalších provedených měření byly zjištěné základní charakteristiky pro stanovení rubidia. Byla stanovena mez detekce (LOD), která byla vypočítána jako trojnásobek směrodatné odchylky, mez stanovitelnosti (LOQ), vypočítána jako desetinásobek směrodatné odchylky z dvacetkrát měřeného roztoku o koncentraci  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  rubidia, vydělená směrnici kalibrační závislosti. Hodnoty jsou uvedeny v Tab. 4.1(str. 38).

Tab. 4.1 Základní charakteristika metody stanovení rubidia technikou FAAS, GBC 933 AA

Charakteristika	Rb
Mez detekce ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,03
Mez stanovitelnosti ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,09
Opakovatelnost (%)	2,1
Korelační koeficient	0,9924
Lineární dynamický rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	2,0
Pracovní rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	7,0

Jelikož se rubidium řadí mezi alkalické kovy, které jsou při jejich stanovování F-AAS doprovázeny ionizačními interferencemi, bylo provedeno měření kalibrační závislosti, také s roztokem o koncentraci  $1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia s přidavkem cesných iontů s finální koncentrací  $1 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  v roztoku. Po změření kalibrační závislosti bylo zjištěno, že stanovení rubidia je ovlivněno interferencemi jen v malém rozsahu. Kalibrační závislost s přidávanými cesnými ionty v roztoku je uvedena na obr. 4.7. V Tab. 4.2 (str. 39), jsou pro porovnání uvedeny základní charakteristika metody s přidávanými cesnými ionty i základní charakteristika metody bez přidávaných cesných iontů.



Obr. 4.7: Závislost absorbance na koncentraci rubidia s přidávanými cesnými ionty v roztoku

$I = 10 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{act}} = 1,5$  relativní jednotky.;

$v_{\text{vzd}} = 7,5$  relativní jednotky;  $h = 6$  relativní jednotky

Tab. 4.2 Porovnání základních charakteristik metody

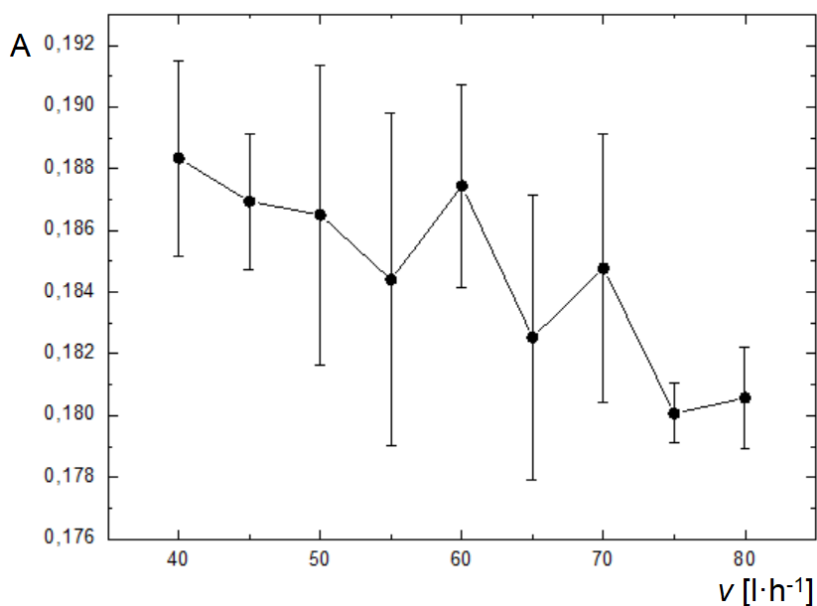
<b>Charakteristika</b>	<b>bez cesia</b>	<b>s cesiem</b>
Mez detekce ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,03	0,02
Mez stanoviteľnosti ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,09	0,07
Opakovateľnosť (%)	2,1	2,3
Korelační koeficient	0,9924	0,9814
Lineární dynamický rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	2,0	1,5
Pracovní rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	7,0	7,0

S přidáním cesných iontů v roztoku došlo ke zlepšení meze detekce i meze stanoviteľnosti. Změna nebyla příliš velká. Pokud by se dále rubidium stanovovalo pomocí plamenové atomizace na přístroji GBC 933 AA, bylo by vhodné do roztoků ke stanovení přidat cesné ionty k potlačení ionizačních interferencí a zlepšení citlivosti metody.

## 4.2 Optimalizace na přístroji ContrAA 700 s plamenovou atomizací

### 4.2.1 Optimalizace průtoku acetyleny

Mezi parametry ovlivňující citlivost stanovení rubidia, patří průtoková rychlost paliva. Pro optimalizování podmínek byl použit roztok o koncentraci  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia s přidáním roztokem KCl o finální koncentraci draselných iontů v roztoku  $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Byl naměřen analytický signál při vlnové délce 780 nm, v závislosti na stoupající průtokové rychlosti acetyleny v rozmezí 40 až  $80 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$ . Na obr. 4.8. (str.40) Závislost absorbance na zvyšující se průtokové rychlosti paliva.



Obr. 4.8: Závislost absorpance na průtoku acetyleny

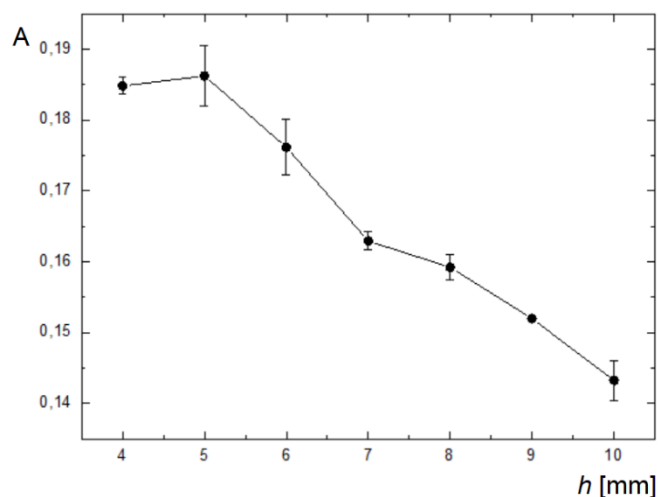
$I = 15 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $v_{\text{vzd}} = 470 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$ ;  $h = 5 \text{ mm}$

Jak je patrné z grafu, nejvyššího analytického signálu bylo dosaženo při průtoku paliva  $40 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$ . Při vyšších průtocích acetyleny, docházelo ke snižování analytického signálu. Proto hodnota  $40 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$  byla zvolena jako optimální pro stanovení rubidia. Také to potvrzuje, že pro stanovení rubidia se pomocí plamenové atomizace používá více oxidovaný plamen <sup>46</sup>.

#### 4.2.2 Optimalizace vertikálního plamenového profilu

Dalším optimalizovaným parametrem je výška paprsku primárního záření nad hranou hořáku. Pro optimalizování byl použit roztok s koncentrací rubidia  $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  s přidaným roztokem KCl o koncentraci draselných iontů  $2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Výška byla proměřena v rozmezí 4 až 10 mm. Výsledek optimalizace tohoto parametru je uveden na obr. 4.8 (str.41), závislost absorpance na výšce hořáku.





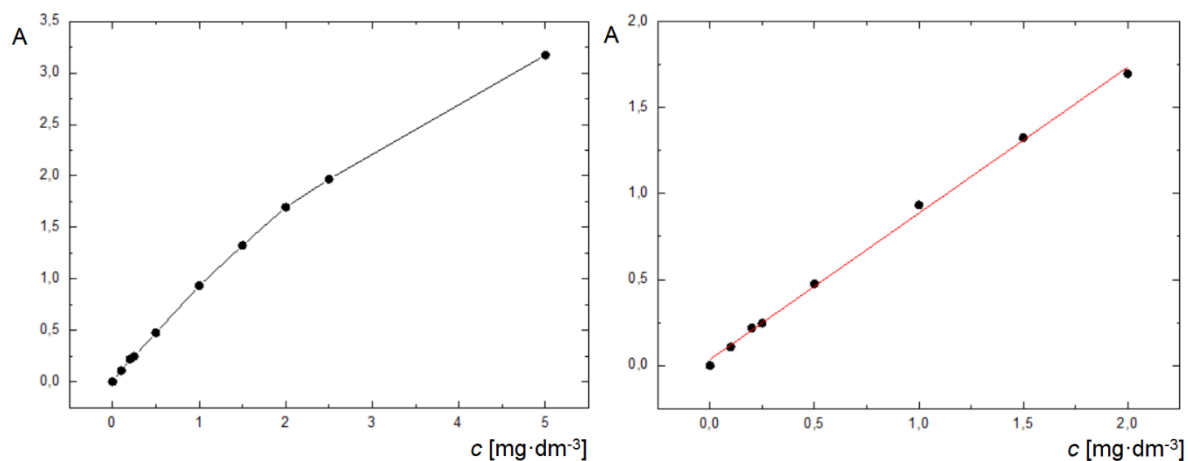
Obr. 4.8: Závislost absorpance na výšce hořáku

$$I = 15 \text{ mA}; \lambda = 780 \text{ nm}; v_{\text{act}} = 40 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}; v_{\text{vzd}} = 470 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$$

Z grafu závislosti absorpance na výšce hořáku je zřejmé, že analytický signál je nejintenzivnější při výšce 5 mm. Při této výšce dochází k nejvyšší absorpci primárního záření volnými atomy prvku v základním stavu. Dále s rostoucí výškou docházelo k poklesu analytického signálu, a tedy k poklesu citlivosti metody. Výška 5 mm byla vzata, jako optimální hodnota pro následující měření.

### 4.2.3 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia

Za optimalizovaných parametrů uvedených v Tab. 4.6 (str. 47), vhodných pro stanovování rubidia byla sestrojena kalibrační závislost. Bylo proměřeno 10 roztoků o zvyšující se koncentraci rubidia, a to v rozmezí 0 až  $5 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Do kalibračních roztoků byl přidán ještě roztok KCl, o finální koncentraci draselných iontů  $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , k potlačení ionizačních interferencí, s cílem zlepšení citlivosti metody. Kalibrační závislost je uvedena na obr. 4.9 (str.42). V Tab. 4.3 (str. 42) jsou uvedeny základní charakteristické parametry této metody.



Obr. 4.9: Závislost absorbance na koncentraci rubidia

$$I = 15 \text{ mA}; \lambda = 780 \text{ nm}; v_{\text{act}} = 40 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}; v_{\text{vzd}} = 470 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}; h = 5 \text{ mm}$$

Z kalibrační závislosti a dalších provedených měření byly zjištěné základní charakteristiky pro stanovení rubidia. Byla stanovena mez detekce (LOD), která byla vypočítána jako trojnásobek směrodatné odchylky, mez stanovitelnosti (LOQ), vypočítána jako desetinásobek směrodatné odchylky z desetkrát měřeného roztoku o koncentraci  $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia, vydělená směrnici kalibrační závislosti. Hodnoty jsou uvedeny v Tab. 4.3.

Tab. 4.3 Charakteristika metody stanovení rubidia pomocí F-AAS

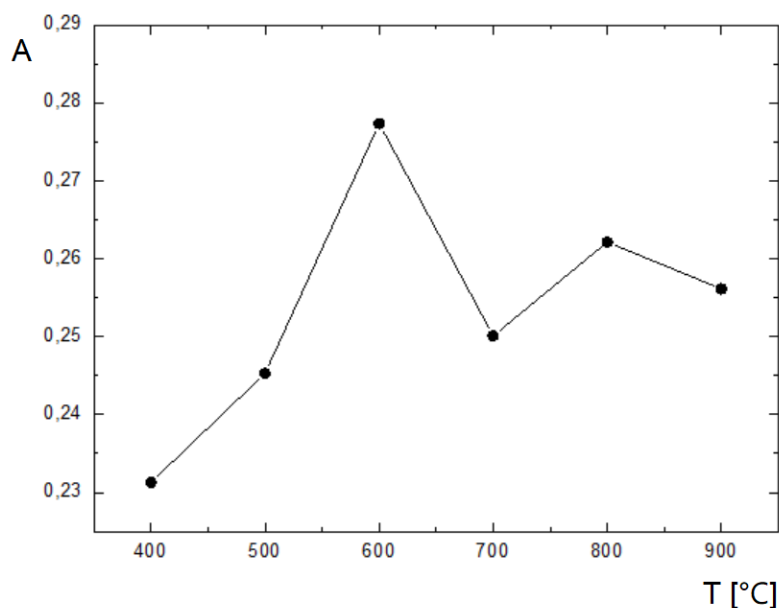
Charakteristika	Rb
Mez detekce LOD ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,13
Mez stanovitelnosti LOQ ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,43
Korelační koeficient	0,9896
Lineární dynamický rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	2,0
Pracovní rozsah do ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	5,0

### 4.3 Optimalizace na přístroji ContrAA 700 s elektrotermickou atomizací

Pro elektrotermickou atomizaci je důležité optimalizovat teplotní program. Některé body teplotního programu optimální pro většinu prvků jsou univerzální a doporučeny výrobcem, například teploty sušení, jiné je důležité optimalizovat. Mezi parametry k optimalizování patří teplota pyrolýzy, která má za cíl odpařit potenciálně rušivé složky vzorku. Nezbytná je také optimalizace teploty, při které dochází k atomizaci vzorku.

#### 4.3.1 Optimalizace teploty pyrolýzy

Důležitým parametrem k optimalizování patří teplota pyrolýzy. Podstatou pyrolýzy je ohřev materiálu nad mez termické stability. K optimalizování byl použit roztok o koncentraci  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia. Vhodná teplota pyrolýzy byla hledána v rozmezí 400 až 900 °C. Nejvyšší analytický signál v závislosti na teplotě pyrolýzy byl při 600 °C, další zvýšení teploty mělo za následek snížení absorbance. Nízké hodnoty absorbance byly vykazovány i při nižších teplotách. Na obr. 4.10 je znázorněna závislost absorbance na zvyšující se teplotě pyrolýzy.

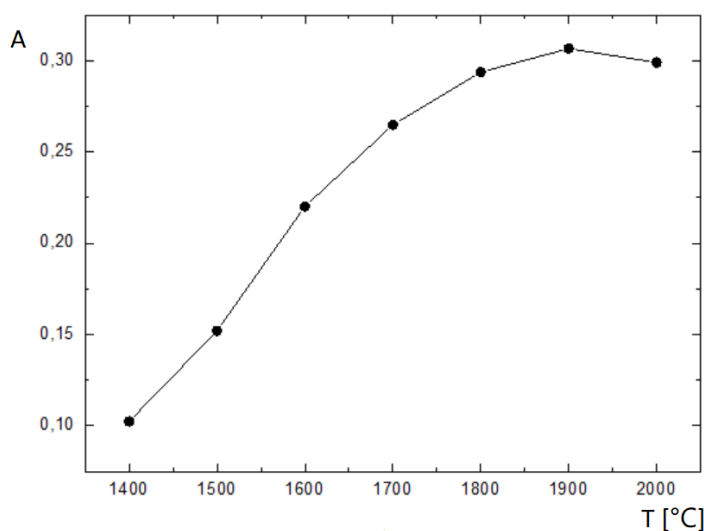


Obr. 4.10: Závislost absorbance na teplotě pyrolýzy

$$I = 15 \text{ mA}; \lambda = 780 \text{ nm}; T_{\text{atom.}} = 1700 \text{ °C}$$

### 4.3.2 Optimalizace teploty atomizace

Dalším důležitým parametrem k optimalizování je teplota atomizace. Při atomizaci dochází k rozkladu molekul na atomy, a to velmi rychlým ohřevem kvivety. Optimální hodnota atomizace pro rubidium byla hledána v rozmezí 1400 až 2000 °C. K optimalizování byl použit roztok o koncentraci  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia. Optimální teplota atomizace byla 1900 °C, kdy byla hodnota analytického signálu nejvyšší. Další zvyšování teploty mělo za následek snížení analytického signálu. A nižší teploty atomizace byly nedostačující, což je vidět na obr. 4.11.

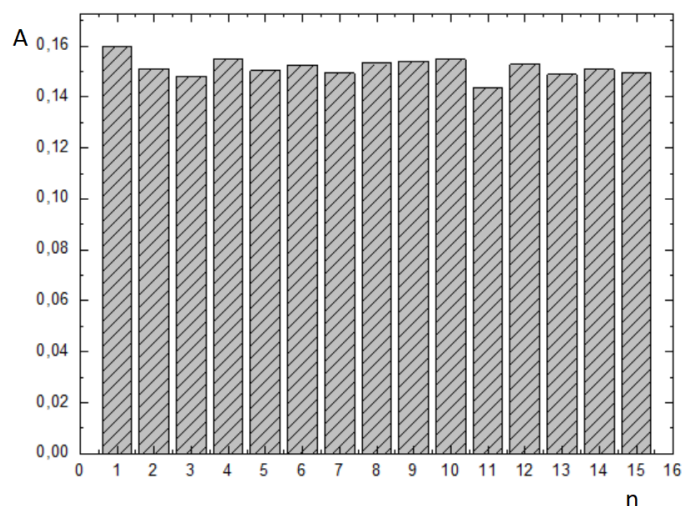


Obr. 4.11: *Závislost absorbance na teplotě atomizace*

$$I = 15 \text{ mA}; \lambda = 780 \text{ nm}; T_{\text{pyr.}} = 600 \text{ °C}$$

### 4.3.3 Opakovatelnost měření

Opakovatelnost měření představuje shodu několika měření za podmínek opakovatelnosti. Pro měření byl použit roztok rubidia o koncentraci  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , který byl kontinuálně patnáctkrát změřen. Měření probíhalo v krátkém časovém intervalu, a dodrženy byly podmínky pro opakovatelné měření. Výsledky jsou uvedeny na obr. 4.12.



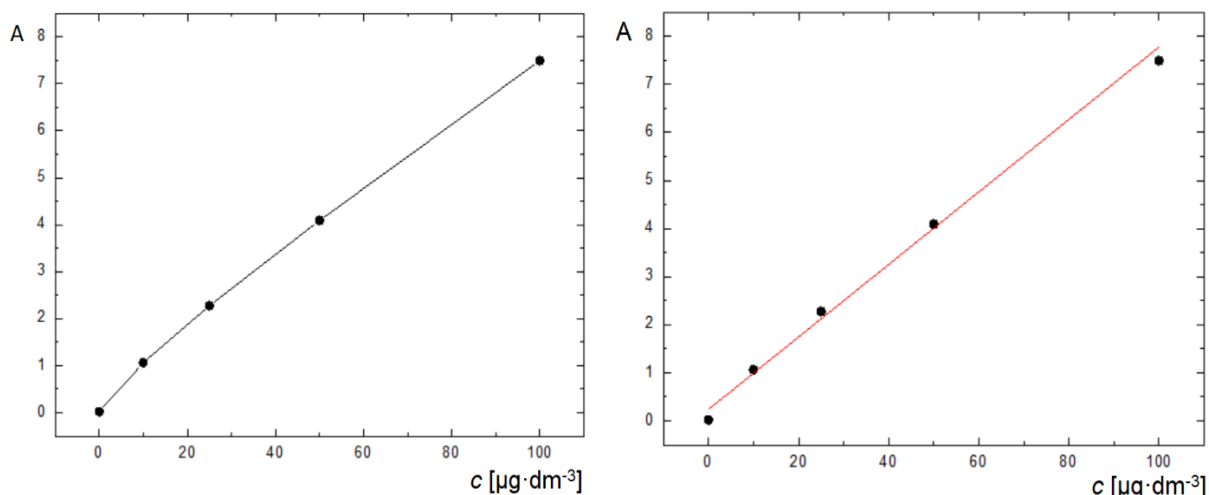
Obr. 4.12: *Opakovatelnost měření*

$$I = 15 \text{ mA}; \lambda = 780 \text{ nm}; T_{\text{pyr.}} = 600 \text{ }^{\circ}\text{C}; T_{\text{atom.}} = 1900 \text{ }^{\circ}\text{C};$$

Z grafu je patrné, že jednotlivá měření prováděna v krátkém časovém úseku, a po dodržení podmínek opakovatelnosti, vykazují shodu. Měření byla využita ke stanovení meze opakovatelnosti, která je uvedena v Tab. 4.4 (str.44)

#### 4.3.4 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení rubidia

Za optimálních hodnot experimentálních parametrů uvedených v Tab. 4.7 (str.47), byly změřeny signály kalibračních roztoků a následně sestavena kalibrační závislost absorbance na koncentraci rubidia. Kalibrační řada rubidia byla připravena z koncentrací 0; 10; 25; 50; 100  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia. Získaná závislost je uvedena na obr. 4.13 (str.46). Kalibrační závislost absorbance na koncentraci rubidia, je vytvořená z hodnot ploch píků.



Obr. 4.13: Závislost absorbance na koncentraci rubidia

$I = 15 \text{ mA}$ ;  $\lambda = 780 \text{ nm}$ ;  $T_{\text{pyr.}} = 600 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{atom.}} = 1900 \text{ }^\circ\text{C}$

Z kalibrační závislosti a dalších provedených měření byly zjištěné základní charakteristiky pro stanovení rubidia. Byla stanovena mez detekce (LOD), která byla vypočítána jako trojnásobek směrodatné odchylky, mez stanovitelnosti (LOQ), vypočítána jako desetinásobek směrodatné odchylky ze čtrnáctkrát měřeného roztoku o koncentraci  $0,01 \text{ } \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia, vydělaná směrnici kalibrační závislosti. Hodnoty jsou uvedeny v Tab. 4.4.

Tab. 4.4 Základní charakteristika metody stanovení rubidia pomocí ET-AAS, ContrAA 700

Charakteristika	Rb
Mez detekce ( $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,12
Mez stanovitelnosti ( $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	0,41
Opakovatelnost (%)	3,7
Korelační koeficient	0,9871
Lineární dynamický rozsah do ( $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	100,0
Pracovní rozsah do ( $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ )	100,0

#### 4.4 Shrnutí optimalizovaných podmínek

V této části jsou shrnuty a uvedeny všechny provedené optimalizace parametrů pro stanovení rubidia s plamenovou atomizací i elektrotermickou atomizací na přístroji GBC 933 AA a ContrAA 700, parametry jsou uvedeny v Tab. 4.5, Tab. 4.6 a Tab. 4.7.

Tab. 4.5 Optimalizované parametry pro stanovení rubidia pomocí F-AAS, GBC 900 AA

Prvek	Rb
Šířka spektrálního intervalu [nm]	0,2
Optimální výška hořáku [r.j.]	7
Průtok acetylenu [r.j.]	1,5
Průtok vzduchu [r.j.]	7,5

Tab. 4.6. Optimalizované parametry pro stanovení rubidia pomocí F-AAS, ContrAA 700

Prvek	Rb
Optimální výška hořáku [mm]	7
Průtok acetylenu [ $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$ ]	40
Průtok vzduchu [ $\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$ ]	470

Tab. 4.7 Optimalizované parametry pro stanovení rubidia pomocí ET-AAS, ContrAA 700

Prvek	Rb
Teplota sušení 1 [ $^{\circ}\text{C}$ ]	110
Teplota sušení 2 [ $^{\circ}\text{C}$ ]	130
Pyrolýza [ $^{\circ}\text{C}$ ]	600
Atomizace [ $^{\circ}\text{C}$ ]	1900
Čištění kyvety [ $^{\circ}\text{C}$ ]	2450

## 4.5 Výsledné stanovení koncentrace rubidia v reálných vzorcích

Po zoptimalizování všech experimentálních parametrů a porovnání charakteristik metod, byla vybrána vhodná metoda pro stanovení rubidia v reálných vzorcích. Příprava vzorků je uvedena v kapitole 3.4. Koncentrace rubidia v reálných vzorcích byla stanovována pomocí ET-AAS na přístroji ContrAA 700, s optimalizovanými experimentálními parametry uvedenými v Tab. 4.7. Všechny vzorky byly celkem proměřeny dvakrát a výsledek stanovení byl vyjádřen ve formě průměru. Hodnota průměru byla dosazena do kalibrační přímky, z níž byla stanovena koncentrace v  $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Některé vzorky musely být před stanovením naředěny. Ředění je uvedeno v Tab. 4.8 (str.49), spolu s výslednými koncentracemi rubidia ve vzorcích. Koncentrace rubidia byla následně přepočtena na koncentraci rubidia obsaženého v 1 kilogramu zeleniny, či ovoci.



Tab. 4.8 Výsledné stanovení rubidia v rostlinných vzorcích

číslo vzorku	Absorbance	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]**	Ředění	Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]
1.	1,163	15,5		5,1
2.	1,0549	14,1		4,4
3.	2,7182	36,2		20,8
4.	3,1801	42,4		20,9
5.	3,3699*	89,9	2x	23,0
6.	<LOD	<LOD		<LOD
7.	3,1004	41,3		3,3
8.	2,2027*	117,5	4x	47,8
9.	3,5667*	95,1	2x	25,7
10.	4,1171*	<b>274,5</b>	5x	147,8
11.	2,5588	34,1		18,0
12.	2,5227	33,6		15,8
13.	3,2346*	172,5	4x	63,8
14.	3,3963*	181,1	4x	62,6
15.	1,3811	18,4		7,3
16.	1,5893	21,2		10,0
17.	5,7427*	153,1	2x	27,2
18.	4,1793	55,7		13,6
19.	4,8889	65,2		27,3
20.	3,9531	52,7		15,2
21.	1,7873	23,8		9,4
22.	5,1509*	<b>274,7</b>	4x	164,2
23.	0,56884	7,58		4,5
24.	5,2562*	<b>280,3</b>	4x	113,1
25.	2,875	38,3		19,1
26.	1,5879	21,2		5,4
27.	3,0649	40,9		19,4
28.	2,4873	33,2		10,4
29.	1,1074	14,8		6,1
30.	3,398*	90,6	2x	35,1
31.	1,3467	17,9		3,3
32.	<LOD	<LOD		<LOD
33.	4,4748	59,7		22,9
34.	<LOD	<LOD		<LOD
35.	3,0069*	80,2	2x	28,4
36.	2,5195	33,6		16,5

\*Hodnota absorbance byla stanovena po naředění vzorku.; \*\*Koncentrace [ $\mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ] jsou uvedeny pro koncentrované vzorky.; **tučně** jsou označeny hodnoty nad  $250 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$

Z výsledků stanovení koncentrace rubidia z rostlinných extraktů, uvedených v Tab. 4.5 lze vyvodit několik předpokladů.

U vzorků číslo 6., 32., 34., nebylo možné stanovit koncentraci rubidia, jelikož hodnoty analytického signálu byly pod hranici detekce. U vzorků číslo 1., 2., 15., 16., 23., 26., 29., 31., byla stanovena koncentrace rubidia do  $25 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Ve většině případů se jednalo o ovoce a zeleninu, která je pěstována na našem území. U dalších rostlinných vzorků se koncentrace rubidia pohybovala od  $25 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  do  $50 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . V těchto hodnotách rubidia se pohybovala běžná zelenina (mrkev, rajče, petržel, cibule, kedluben nebo hlávkový salát). V hodnotách koncentrace od  $50 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  do  $100 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia se pohybovaly „sladší“ citrusy (grep, pomelo,...), ale také červený rybíz, ředkvičky, máslová dýně. Nad  $100 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  rubidia se nacházely jen čtyři rostlinné vzorky, citron, limetka, nashi a avokádo, tedy exotické rostliny, které se běžně nepěstují na našem území, ale jsou dováženy ze zahraničí. Nad  $250 \mu\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  vzorky s nejvyšším zastoupením rubidia, byly: kiwi, kurkuma (kurkumovník dlouhý) a červená řepa. Kiwi a kurkuma jsou rostliny pěstované v Asii, např. v Číně, Indii nebo na Srí Lance. Vyšší výskyt rubidia v těchto třech rostlinách, může být následkem vyšší koncentrace rubidia na území, kde se tyto plodiny pěstují. Rubidium se vyskytuje v hojné míře v zemské kůře, kde docházelo nebo dochází k vulkanickým jevům. A mezi takovéto území patří i Asie. Zastoupení vyšších koncentrací rubidia, nalezneme také v jílovité půdě, nebo také v půdě bohaté na živec<sup>47</sup>. A to mohlo způsobit vyšší koncentraci rubidia v červené řepě. Rubidium se do rostliny dostává například z minerálů nebo podzemní vody, proto rostliny přicházející do přímého styku se zemí, obsahují vyšší koncentraci rubidia.

## 5. ZÁVĚR

Tato diplomová práce je věnována stanovení rubidia ve vzorcích extraktů vybraného ovoce a zeleniny. Pro stanovení tohoto prvku v uvedených vzorcích byla pro svoji vysokou citlivost zvolena atomová absorpční spektrometrie, a to jak s plamenovou, tak i s elektrotermickou atomizací. Nejprve byly optimalizovány podmínky stanovení pro plamenovou atomizaci na spektrometru GBC 933 AA, byla optimalizována především průtoková rychlost paliva, výška paprsku nad hořákem a horizontální plamenový profil. Další optimalizace se týkaly plamenové atomizace na spektrometru ContrAA 700, optimalizována byla průtoková rychlost paliva, výška paprsku nad hranou hořáku, zkoumán byl také vliv interferentů na stanovení rubidia. Bylo zjištěno, že toto stanovení je jen minimálně ovlivněno testovanými interferenty. K potlačení případných ionizačních interferencí byl do roztoků přidáván roztok KCl. Další parametry byly optimalizovány pro elektrotermickou atomizaci na spektrometru ContrAA 700. Mezi optimalizované parametry byla studována vhodná teplotní závislost pyrolýzy a teplotní závislost atomizace.

Po provedení optimalizací byly sestrojeny grafické závislosti absorbance na koncentraci rubidia v modelových kalibračních roztocích. Byly vypočteny základní charakteristiky metod: mez detekce (LOD), mez stanovitelnosti (LOQ), opakovatelnost, lineární dynamický a pracovní rozsah, korelační koeficient. Mez detekce pro stanovení rubidia byla podle očekávání vyšší pro metody s plamenovou atomizací než pro metodu s elektrotermickou atomizací. Vzhledem k vyšším hodnotám meze detekce u plamenové atomizace bylo pro stanovení obsahu rubidia v reálných vzorcích zvolena metoda s elektrotermickou atomizací.

Nedílnou součástí této práce bylo stanovení obsahu rubidia v rostlinných extraktech. Jednalo se o ovocné a zeleninové šťávy. Zastoupeny byly tropické i běžné rostliny a jejich plody. Šťávy byly získány odšťavněním rozdrčeného rostlinného materiálu. U analyzovaných vzorků byla změřena absorbance a pomocí kalibrační závislosti byly vypočteny koncentrace rubidia v rostlinných extraktech. Z výsledků vyplývá, že nejvyšší obsah rubidia se nachází v ovoci kiwi, kurkumě (kurkumovníku dlouhém) a červené řepě. Vysoké hodnoty u těchto vzorků jsou odůvodnitelné. Velký vliv má samozřejmě i půda, kde se rostliny pěstují. Vysoké koncentrace rubidia ve třech výše zmíněných vzorcích nejsou pro lidský organismus nijak nebezpečné. Rubidium ve formě rubidných iontů je v lidském těle zpracováváno podobně jako draselné ionty. A každý člověk má alespoň půl gramovou zásobu rubidia v těle.

## POUŽITÁ LITERATURA

1. R. Levenson, *More Modern Chemical Techniques*, ed. M. B. Maria, J. Pack, C. Osborne, N. V. Reed, John A Johnston, 2001, p. 193.
2. B. Welz, M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley, 3. revised edn., 1999, p. 965.
3. W. Schmidt, *Optical Spectroscopy in Chemistry and Life Sciences*, Wiley, 2005.
4. B. Welz, et. al, *Continuum source atomic absorption spectrometry: past, present and future aspects - a critical review*, Journal of the Brazilian Chemical Society, 2014.
5. F. Čůta, M. Popl, *Instrumentální analýza*, Státní nakladatelství technické literatury, Praha, 1986.
6. G. A. Rechnitz, *Analytical chemistry: An introduction*, Journal of Chemical Education, 1965, 42, 634.
7. J. Komárek, *Atomová absorpční spektrometrie*, Masarykova univerzita v Brně, Brno, 2000.
8. J. V. Loon, *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy: Selected methods*. Academic Press, New York, 1980.
9. P. Jandera, T. Černohorský, *Atomová spektroskopie*, Univerzita Pardubice, Pardubice, 1997.
10. A. Walsh, *The application of atomic absorption spectra to chemical analysis*. Spectrochimica Acta, 1955.
11. I. Němcová, L. Čermáková, P. Rychlovský, *Spektrometrické analytické metody I., 2. vyd.*, Karolinum, Praha, 2004.
12. D. C. Harris, *Quantitative Chemical Analysis*, W. H. Freeman and Company, New York, 7. edn., 2007.
13. C. Bruce, P. Hannaford, *On the widths of atomic resonance lines from hollowcathode lamps*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 1971.
14. W. B. Barnett, J. W. Vollmer, S. M. DeNuzzo, *The application of electrodeless discharge lamps in atomic absorption*. Atomic Absorption Newsletter, 1976.
15. D. D. BHANOT, *Types of Light Sources in AAS*, <http://labtraining.com/2013/05/08/types-of-light-sources-in-aas/>).
16. M. D. Amos, *Flame and Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley, 2006.
17. W. D. Marshall, *Atomic absorption, emission and fluorescence spectrometry: Principles and applications*. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, Elsevier, 1997.
18. A. Taylor, *Biomedical Applications of Atomic Spectroscopy*, Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry, Elsevier, 1999.
19. G. Cecil, J. Bland-Hawthorn, *Classical Spectroscopy - Experimental Methods in the Physical Sciences*, Academic Press, The University of Sydney, 1996, 29, 363-391.
20. P. P. Worsfold, A. Townshend, C. C. Poole, *Encyclopedia of Analytical Sciences*, Elsevier, 2004.
21. N. V. Tkachenko, *Optical Spectroscopy Methods and Instrumentations - Chapter 2 - Optics and Optical Devices*, Elsevier 2006, 15-38.
22. G. Gauglitz, T. Vo-Dinh, *Handbook of spectroscopy*, Wiley, Weinheim, 2003.
23. J. R. J. Paré, J. M. R. Bélanger, *Instrumental Methods in Food Analysis*, Elsevier Science, 1. edn., 1997.
24. J. E. Cantle, *Atomic Absorption Spectrometry*, Elsevier Science, 1. edn., 2000.

25. J. Krofta a. kol., *Atomová absorpční spektrometrie; Návodů pro laboratorní cvičení z analytické chemie II*, VŠCHT, Praha, 1997.
26. B. Welz, S. Florek, U. Heitmann, H. Becker-Ross, *High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*, Wiley, Weinheim, 2005.
27. J. Briceño, M. A. Belarra, K. A. C. De Schamphelaere, S. Vanblaere, C. R. Janssen, F. Vanhaecke, M. Resano, *Direct determination of Zn in individual Daphnia magna specimens by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*, University of Zaragoza, Spain, 2010.
28. B. Welz, F. G. Lepri, H. Becker-Ross, *Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces-A review*, Analytica Chimica Acta, 2009.
29. R. Cagaš. P. Cagaš, J. Kofránek, *CCD kamery pro snímání extrémně slabých světelných zdrojů*, Medsoft, 2012.
30. Analytic Jena, *ContraAA - High-Resolution Continuum Source AAS*, Analytic Jena, Germany, 2014.
31. H. Becker-Ross, S. Florek, *Echelle spectrometers and charge-coupled devices*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 1997.
32. H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, R. Weisse, *Influence of the spectral bandwidth of the spectrometer on the sensitivity using continuum source AAS*, Fresenius' journal of analytical chemistry, 1996.
33. J. Kameníček, Z. Šindelář, R. Pastorek, F. Kašpárek, *Anorganická chemie*, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc, 2009.
34. W. M. Haynes, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, Chemical Rubber Company Publishing, Florida, 92.edn., 2011.
35. L. Meites, *Handbook of Analytical Chemistry*, McGraw-Hill Book Company, New York. 1963.
36. N. R. Campbell, A. Wood, *The Radioactivity of Rubidium*, Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, 1908.
37. R. Weast, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*. Chemical Rubber Company Publishing, Florida, 1984.
38. M. Taylor, R.R. Fieve, H.L. Meltzer, *Rubidium chloride ingestion by volunteer subjects: Initial experience*, *Psychopharmacologia*, State Psychiatric Institute, New York 1971.
39. M. Anke, L. Angelow, *Rubidium in the food chain*, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1995.
40. Z. Grobowski, D. Weber, B. Welz, J. Wolff, *Determination of caesium and rubidium by flame and furnace atomic-absorption spectrometry*. The Analyst, Royal Society of Chemistry, 1983.
41. T. Gi-ichiro, T. Akeo, K. Hisao, *Determination of Rubidium in Biological Materials Using Atomic Absorption Spectroscopy*, Bulletin of the Chemical Society, Japan, 1977.
42. A. G. Chiasson, *Interference in determination of rubidium and cesium in fish and zooplankton by graphite furnace atomic absorption spectrometry*, Journal of Chemical Ecology, 1990.
43. L. Jolivet, M. Leprince, S. Moncayo, L. Sorbier, C.-P. Lienemann, V. Motto-Ros *Review of the recent advances and applications of LIBS-based imaging*, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, Elsevier, 2019, 151, 41-53.

44. H. Vanhoe, C. Vandecasteele, J. Versieck, R. Dams, *Determination of iron, cobalt, copper, zinc, rubidium, molybdenum, and cesium in human serum by inductively coupled plasma mass spectrometry*-Analytical Chemistry, American Chemical Society, 1989, 61, 1851-1857.
45. J.M. Mulet, R. Serrano, *Simultaneous determination of potassium and rubidium content in yeast*, Wiley, 2002.
46. Agilent Technologies, *Flame Atomic Absorption Spectrometry Analytical Methods*, Kalifornie, USA, 2010.
47. H. D. Holland, K.K. Turekian *The Crust- Treatise on Geochemistry*, Elsevier Science, 1.edn., 2003.