

# **Stanovení S v rostlinném materiálu metodou WD XRF spektrometrie**

Miloslav Pouzar, Tomáš Černohorský

*Laboratoř atomové spektrometrie, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, nám. Čs. legií 565, 532 10 Pardubice, milan.pouzar@upce.cz, tomas.cernohorsky@upce.cz*

## **Abstrakt**

V této práci je popsána rychlá a levná metoda stanovení obsahu S ve vzorcích listů za použití „low cost“ stolního vlnově dispersního rentgenfluorescenčního spektrometru (WD XRF). Ke kalibraci XRF spektrometru byly použity reálné vzorky listů, odebrané pro potřeby monitoringu v KRNAPu, v nichž byl předem stanoven obsah S metodou ICP OES po mikrovlnné mineralizaci. Rozklad vzorků pro ICP OES stanovení byl prováděn ve směsi  $\text{HNO}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Vzorky listů byly před analýzou pomocí WD XRF nejprve rozetřeny ve třecí misce a poté lisovány do tablet. V práci je popsán postup volby vhodného způsobu přípravy tablet, optimalizace doby expozice a postup výběru vhodného kalibračního modelu. Správnost navrženého analytického postupu byla validována analýzou referenčního materiálu GBW-07605 - čaj.

**Klíčová slova:** síra, rostlinný materiál, XRF

## **1. Úvod**

Síra je pro rostliny důležitým biogenním prvkem. Diagnostika jejího množství v rostlinných tkáních je důležitým indikátorem správného složení výživy rostlin /1/. Imise síry ze znečištěné atmosféry mohou mít naopak velmi negativní účinky. Rostliny citlivě reagují na přítomnost oxidů síry v ovzduší a rozpustných sloučenin síry v půdě zvýšením obsahu tohoto prvku ve svých asimilačních orgánech /2/. Zvýšená expozice sloučeninám síry a fosforu může způsobit např. narušení epidermální vrstvy buněk vedoucí k vodnímu stresu a dále ke snížení odolnosti vůči průniku chorob a útoku hmyzu. Dále může docházet k narušení tvorby chlorofylu, snížení fotosyntetické aktivity a oslabení asimilačního aparátu. Mezi pozorovatelné důsledky uvedených procesů patří např. tvorba chloróz a nekrotických skvrn, deformace čepelí listů, výrazné snížení šířky letokruhů, hnědnutí jehlic a listů, vadnutí až postupný opad a odumírání koruny /3/.

V práci /1/ jsou shrnuty přednosti a nevýhody jednotlivých metod, které je možno použít pro analýzu síry v rostlinném materiálu. Uvedené stanovení lze provádět např. gravimetricky, titračně, turbidimetricky a nefelometricky, spektrofotometricky, metodou FIA, nebo pomocí ICP OES, iontové chromatografie a kapilární izotachografie. Srovnávací studie /4/ se zabývá možnostmi využití INAA, ICP OES a GF AAS při stanovení třiceti dvou prvků (včetně síry) v rostlinném materiálu pro potřeby biomonitoringu. Všechny výše uvedené analytické postupy vyžadují pečlivé provedení komplikovaného a nákladného kroku rozkladu vzorku a to buď na suché a nebo na mokré cestě. Alternativou k uvedeným postupům je využití rentgenfluorescenční spektrometrie. Příprava vzorku k analýze je v tomto případě obvykle rychlejší, levnější a méně náročná. V práci /5/ byly rostlinné vzorky sušeny, mlety a ze vzniklého prášku byly lisovány tablety. V některých případech bylo ke 2 g vzorku před lisováním přidáno 0,5g vosku. Kyselina boritá a celulóza byly využity jako pojivo při lisování tablet v práci /6/. Bez přídavku pojiva byly tablety lisovány také v práci /7/. Vzorek ve formě tenké vrstvy lze připravit nanášením rostlinného prášku o průměru částic 100  $\mu\text{m}$  na lepicí pásku /8/.

Cílem této práce bylo navrhnout rychlou a levnou metodu stanovení S v listích pomocí rentgenfluorescenční spektrometrie s minimálními nároky na krok úpravy vzorku.

## **2. Experimentální část**

### **2.1. Použitá přístrojová technika**

K rentgenfluorescenčnímu stanovení S ve vzorcích listů byl použit stolní vakuový vlnově disperzní rentgenfluorescenční spektrometr SPECTROSCAN V (Spectron, St. Petersburg, Russia). K buzení charakteristického záření analytu je v tomto přístroji využívána Pd rentgenka s maximálním výkonem 200 W (při napětí 50 kV a proudu 4 mA). Optická část spektrometru je vybavena pěti zahnutými krystaly v Johansonově

uspořádání. Přístroj je vybaven zataveným plynově proporcionálním detektorem naplněným Xe. Parametry XRF stanovení S jsou shrnuty v **tabulce I**.

Jako metoda přípravy vzorku pro metodu ICP OES byla zvolena mikrovlnná mineralizace. Rozklad vzorků byl proveden v mikrovlnném rozkladném zařízení BM 1 S/2 (Plazmatronika, Poznan, Poland). Maximální výkon mikrovlnného generátoru je 700 W. K rozkladům byly použity 150 ml PTFE nádoby. Parametry použitého rozkladného programu jsou shrnuty v **tabulce II**.

Stanovení S v roztocích připravených mineralizací vzorků listů bylo prováděno za použití ICP spektrometru GBC Integra XL (GBS, Dandenong, Australia). Podmínky měření a technické parametry zařízení jsou shrnuty v **tabulce III**.

Pro lisování tablet byl použit hydraulický lis typ 049/79, (Carl Zeiss, Jena, NDR) s prototypem lisovacího nástavce (Elmet, Přelouč, Česká republika)

Všechny statistické výpočty byly prováděny pomocí programu OPGM /9/

## *2.2. Použité chemikálie*

K přípravě kalibračních standardů pro XRF stanovení byly použity reálné vzorky listů z biomonitoringu, který byl v letech 1997 a 1999 prováděn pracovníky ÚOŽP Univerzity Pardubice v KRNaPu. K rozkladům vzorků listů pro standardní metodu ICP OES bylo použito 65 %  $\text{HNO}_3$  a 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  - všechny v čistotě p.a. (Lachema, Brno, Česká republika). K ředění rozložených vzorků a standardů byla použita demineralizovaná voda získaná pomocí zařízení MILLI Q<sup>+</sup> (Millipore, Bedford, USA). Pro účely validace navržené XRF metody byl použit standardní referenční materiál GBW 07605 - čaj (Čína)

## *2.3. Příprava standardů a vzorků pro XRF analýzu*

Sada standardů pro kalibraci XRF spektrometru byla připravena z reálných vzorků suchého listí. Vzorky rostlinného materiálu byly nejprve pečlivě rozetřeny v achátové třecí misce. Z připraveného prášku byly za optimálních podmínek lisovány tablety. Optimalizace lisovací síly byla provedena na základě vyhodnocení závislosti střední hodnoty intenzity analytické čáry S a její směrodatné odchylky na použité lisovací síle. Tableta o průměru 12 mm a síle 2 mm byla vložena do vzorkovnice XRF spektrometru a překryta Mylarovou fólií.

## *2.4. Příprava vzorků pro standardní metodu ICP OES*

Pro stanovení S v rostlinném materiálu metodou ICP-OES byla jako metoda přípravy vzorků použita vysokotlaká mikrovlnná mineralizace. Do teflonové nádoby mikrovlnného mineralizátoru bylo naváženo přesně okolo 0.3 g vzorku rostlinného materiálu. K rozkladu bylo použito 6 ml koncentrované  $\text{HNO}_3$  a 1 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Mineralizace byla provedena pomocí rozkladného programu, který byl získán z aplikačních listů výrobce rozkladného zařízení. Po ukončení mineralizace byl získaný roztok zředěn demineralizovanou vodou na 25 ml a přelit do PE nádoby.

# **3. Výsledky a diskuse**

## *3.1. Optimalizace podmínek lisování rostlinného materiálu*

Vzorek listů s průměrným obsahem S byl po rozetření ve třecí misce lisován do tablet. Byla použita lisovací síla 10 - 100 kN (s krokem 10 kN). Pro každý lisovací tlak bylo připraveno vždy po pěti tabletách. Tyto tablety byly použity k měření intenzity analytické čáry S  $K_\alpha$ . Toto měření bylo prováděno bez korekce pozadí a doba expozice byla 100 s. Střední hodnoty intenzit čáry S  $K_\alpha$  a hodnoty směrodatných odchylek byly vyneseny do grafu proti příslušným lisovacím silám (**obrázek 1 a 2**). Jak je z těchto grafů zřejmé, postupný nárůst lisovací síly nemá vliv ani na střední hodnotu ani na směrodatnou odchylku intenzity analytické čáry S  $K_\alpha$ . Na základě této skutečnosti byla pro přípravu tablet používána lisovací síla 50 kN.

### 3.2. Kalibrace XRF spektrometru

Pro kalibraci XRF spektrometru bylo použito 27 reálných vzorků rostlinného materiálu. Koncentrace síry v těchto vzorcích byla změřena metodou ICP-OES po mikrovlnné mineralizaci. Z každého vzorku listí, který byl použit pro kalibraci XRF spektrometru byly připraveny vždy dvě tablety. Tyto tablety byly použity pro měření intenzity  $K\alpha$  čáry S a intenzity rozptýleného záření rentgenky PdNC. Intenzity  $K\alpha$  čáry S zkorigované o hodnotu pozadí byly spolu s příslušnými hodnotami intenzit PdNC vyneseny proti hodnotám koncentrací síry v jednotlivých standardech. Pro popis experimentálních dat byl navržen regresní model ve tvaru rovnice (1).

$$C_S = \beta_0 + \beta_1 I_S + \beta_2 I_S^2 + \beta_3 I_{PdNC} \quad (1)$$

kde:  $C_S$  - koncentrace S v %,  
 $I_S$  - intenzita čáry S  $K\alpha$  v  $I \cdot s^{-1}$  (impuls za sekundu)  
 $I_{PdNC}$  - intenzita rozptýleného záření rentgenky v  $I \cdot s^{-1}$ .

Za použití Studentova t-testu byla testována významnost jednotlivých parametrů  $\beta_i$  v rovnici (1). Odhady  $b_i$  těchto parametrů byly vypočteny programem OPGm metodou nejmenších čtverců. K diagnostice vlivných bodů byl použit Williamsův graf. Z regresní závislosti byly postupně vypuštěny tři odlehle nebo vybočující body. Nalezené hodnoty odhadů jednotlivých parametrů  $\beta(b_i)$ , jejich směrodatné odchylky ( $s(b_i)$ ), příslušné hodnoty Studentova t-testu ( $t_i$ ) a kritické hodnoty ( $t_{0,975,n-m}$ ) vypočtené programem OPGm po vypuštění vlivných bodů jsou spolu s vybranými statistickými charakteristikami regrese uvedeny v **tabulce IV**.

Pokud platí vztah  $|t_i| > t_{0,975,n-m}$ , můžeme prohlásit, že se příslušný parametr regresní rovnice statisticky významně liší od nuly. Z údajů uvedených **tabulce IV** je zřejmé, že všechny parametry v rovnici (1) jsou statisticky významné. Výsledná kalibrační závislost bude mít proto tvar popsáný rovnicí (2).

$$C_S = (2.96 \pm 0.28) \cdot 10^{-4} \cdot I_S - (2.71 \pm 1.00) \cdot 10^{-8} I_S^2 - (1.67 \pm 0.33) \cdot 10^{-5} \cdot I_{PdNC} \quad (2)$$

### 3.3. Určení detekčního limitu

Pro určení detekčního limitu byl vybrán vzorek s velmi nízkou koncentrací síry ( $C_{ICP} = 0.0791$  %). Z tohoto vzorku bylo vyrobeno 10 tablet a koncentrace síry v tabletách byly proměřeny rentgenfluorescenčním spektrometrem. Podmínky měření byly shodné s podmínkami pro měření kalibračních standardů. Z naměřených koncentrací síry byla vypočtena hodnota směrodatné odchylky. Její trojnásobek byl považován za hodnotu detekčního limitu. Hodnota takto vypočteného detekčního limitu byla  $0.256 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

### 3.4. Měření referenčního materiálu

Správnost navržené XRF metody byla ověřena měřením koncentrace S v referenčním materiálu GBW 07605 (čaj). Vzorek byl pro XRF analýzu upraven stejným způsobem jako kalibrační standardy. Podmínky měření byly též shodné s podmínkami kalibrace. Deklarovaná hodnota síry v referenčním materiálu byla  $0.245 \pm 0.015$  %. Metodou XRF spektrometrie byla naměřena hodnota  $0.235 \pm 0.004$  %. Návratnost metody je tedy 95.92 %. Validaci navrženého analytického postupu na základě měření většího počtu referenčních materiálů nebylo možné provést, neboť další takové materiály nebyly dostupné.

### 3.5. Analýza reálných vzorků

Pracovníci Ústavu ochrany životního prostředí Univerzity Pardubice se již delší dobu věnují sledování obsahu síry v listech různých dřevin rostoucích v prostoru Pančavské louky, Zlatého návrší a Míseček, tedy ve vrcholových partiích Krkonoš. Analýza vzorků listí z odběrů provedených v roce 2000 a 2001 byla provedena navrženou metodou XRF spektrometrie. Koncentrace síry v čepelích listů z odběru provedeném v roce 2000 byly v rozmezí 0.0306 - 0.2016 %. Koncentrace síry v řapících listů se pohybovaly v rozmezí 0.0483 - 0.1510 %. Koncentrace síry v čepelích listů z odběru provedeném v roce 2001 byly v rozmezí 0.0596 - 0.2578 %. Koncentrace síry v řapících listů se pohybovaly v rozmezí 0.0415 - 0.2153 %.

## 4. Literatura

1. Hrdlička P., Chem. listy, 86, 653 - 661, (1992)
2. Maňková B., Biológia, 38, 51 - 57, (1983)
3. Ostrolucká M.G., Maňková B., Biológia, 41, 487 - 494, (1986)
4. Djingova R., Ivanova Ju., Kuleff I., J. Radioanal. Nucl. Chem., 237, 25-34, (1998)
5. Richardson D.H.S., Shore M., Hartree R., Richardson R.M., Sci. Total Environ., 176, 97 - 105, (1995)
6. Clark R.B., Frank K.D., Zaifnejad M., Denning J.L., Commun. Soil Sci. Plant Anal., 23, 569 - 583, (1992)
7. Rautio P., Huttunen S., Lamppu J., Water Air Soil Pollut., 102, 389 - 405, (1998)
8. Stikans M., Boman J., Lindgren E.S., X-Ray Spectrometry, 27, 367 - 372, (1998)
9. Pytela O., Chemometrie pro organické chemiky, Univerzita Pardubice, (2000), ISBN 80-7194-309-6

## 5. Příloha

**Tabulka I** Podmínky měření stolního vakuového vlnově dispersního rentgenfluorescenčního spektrometru SPEKTROSCAN V

|                                | S                             | Pd NC*          |
|--------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Napětí na rentgence            | 40 kV                         | 40 kV           |
| Proud na rentgence             | 4 mA                          | 4 mA            |
| Doba integrace analytické čáry | 100 s                         | 100 s           |
| Doba integrace pozadí          | 20 s                          | -               |
| Krystal                        | COO <sub>2</sub>              | LiF 200         |
| Řád spektra                    | 1                             | 2               |
| Analytická čára                | S K $\alpha$ (5 374 mÅ)       | Pd NC (1234 mÅ) |
| Korekce pozadí                 | OFF Peak<br>(-64 mÅ, + 46 mÅ) | Bez korekce     |

\* Čára nekoherentního rozptylu Pd rentgenky

**Tabulka II** Rozkladný program mikrovlnného rozkladného zařízení Plazmatronika BM IS/2

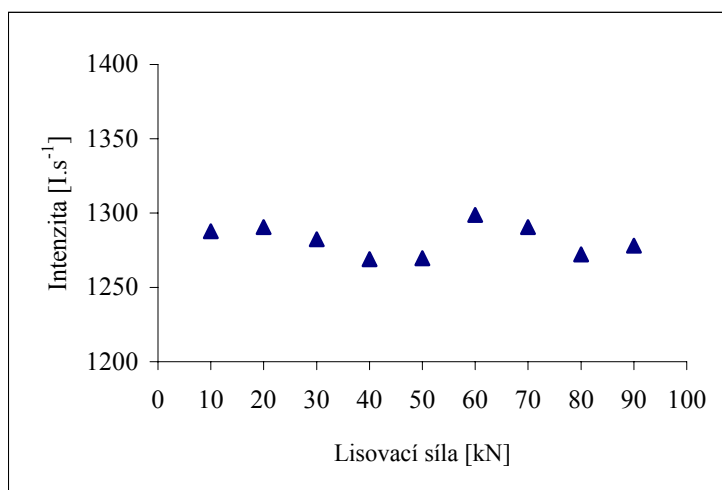
| Krok           | Čas [min] | Výkon [%] | Chemikálie                                       |
|----------------|-----------|-----------|--------------------------------------------------|
| 1              | 5         | 80        | HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> |
| 2              | 10        | 100       | -                                                |
| Minimální tlak |           |           | 24 at                                            |
| Maximální tlak |           |           | 25 at                                            |

**Tabulka III** Podmínky měření a technické parametry optického emisního spektrometru GBC Integra XL

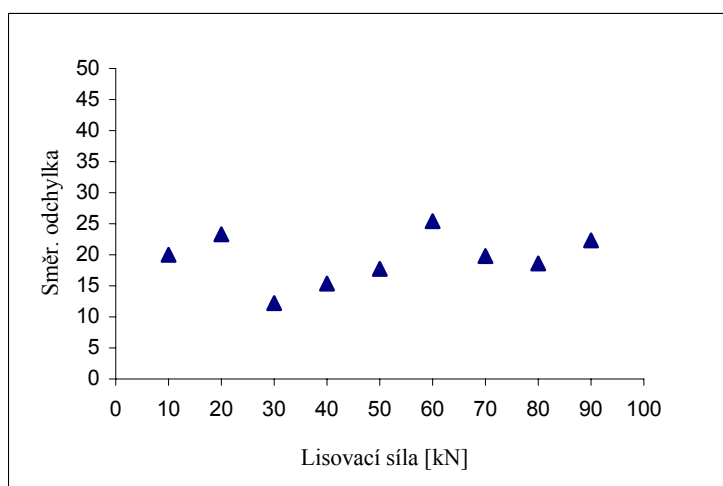
|                        |                             |
|------------------------|-----------------------------|
| Prvek                  | S                           |
| Vlnová délka           | 180,731 nm                  |
| Výška pozorování       | 9 mm                        |
| Řád spektra            | 4                           |
| Výkon generátoru       | 1150 W                      |
| Průtok Ar zmlžovačem   | 0,65 l min <sup>-1</sup>    |
| Otáčky pumpy           | 15 otáček min <sup>-1</sup> |
| Napětí na fotonásobiči | 550 V                       |
| Doba integrace signálu | 1s                          |
| Počet opakování        | 3                           |
| Korekce pozadí         | Fixed                       |

**Tabulka IV** Odhady parametrů  $\beta(b_i)$  rovnice 1 a vybrané statistické charakteristiky regrese

| Parametr  | Odhad parametru<br>$b_i$ |        | Směrodatná odchylka<br>$S_{(b_i)}$ |                   | $ t_{\text{exp}} $ |
|-----------|--------------------------|--------|------------------------------------|-------------------|--------------------|
| $\beta_0$ | $-3.377 \cdot 10^{-2}$   |        | $2.566 \cdot 10^{-2}$              |                   | 10.428             |
| $\beta_1$ | $2.956 \cdot 10^{-4}$    |        | $2.835 \cdot 10^{-5}$              |                   |                    |
| $\beta_2$ | $-2.706 \cdot 10^{-8}$   |        | $9.971 \cdot 10^{-9}$              |                   |                    |
| $\beta_3$ | $-1.670 \cdot 10^{-5}$   |        | $3.375 \cdot 10^{-6}$              |                   |                    |
| n         | m                        | $R^2$  | $F_{\text{exp}}$                   | $F_{0,95; 3; 47}$ | $t_{0,975; 47}$    |
| 51        | 4                        | 0.9908 | $2.586 \cdot 10^3$                 | 2.579             | 2.014              |



**Obrázek 1:** Závislost střední hodnoty intenzity  $S K_\alpha$  na použité lisovací síle



**Obrázek 2:** Závislost směrodatné odchylky intenzity  $S K_\alpha$  na použité lisovací síle