

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236012**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **409626**

(22) Data zgłoszenia: **29.09.2014**

(51) Int.Cl.

G01N 21/31 (2006.01)

G01N 21/88 (2006.01)

(54) **Spektrofotometryczny sposób oznaczania zawartości złota w roztworach,
strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych,
zwłaszcza zawierających złote nanoobiekty**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

11.04.2016 BUP 08/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.11.2020 WUP 19/20

(73) Uprawniony z patentu:

**INSTYTUT CHEMII FIZYCZNEJ
POLSKIEJ AKADEMII NAUK, Warszawa, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**TOMASZ ANDRYSZEWSKI, Ciechocinek, PL
MICHALINA IWAN, Warszawa, PL
PATRYCJA KALIŃSKA, Warszawa, PL
MARCIN FIAŁKOWSKI, Warszawa, PL
ROBERT HOŁYST, Warszawa, PL**

74) Pełnomocnik:

rzec. pat. Krystian Żygadło

PL 236012 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest nowy spektrofotometryczny sposób oznaczania zawartości złota w roztworach, strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych, w których metal ten występuje w postaci nanoobjektów pokrytych nieorganicznymi lub organicznymi ligandami.

W literaturze znane są liczne publikacje w których z soli złota, w szczególności kwasu aurikowego (HAuCl_4) w procesie redukcji borowodorkiem sodu uzyskiwane są złote nanocząstki o dowolnych rozmiarach. (*Langmuir* 2010 26 (10), 7410–7417). W publikacjach naukowych, w których opisana jest synteza nanocząstek metalicznych stężenie tych obiektów obliczane jest na podstawie ich rozmiaru (ilości oraz wielkości atomów tworzących nanocząstki) oraz ilości jonów metalu wykorzystywanego do syntezy. (*Chem. Commun.*, 2006, 1433–1435 (*Supplementary info*)). Tym samym autorzy zakładają, iż cały dostępny metal ulega przekształceniu do formy nanoobjektów. Inną metodę oznaczania stężenia oraz rozmiaru nanocząstek metali – w szczególności złota – jest metoda w której wykorzystywane są widma absorpcji UV-Vis. (*Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 58 (2007), 3–7) (*Anal. Chem.*, 2007, 79, 4215–4221). Metody te dają możliwość szybkiego oszacowania stężenia oraz rozmiaru nanocząstek złota, co ma szczególne znaczenie w przypadku obiektów charakteryzujących się nietrwałością. Znane są także metody szacowania zawartości złota w strukturach porowatych w których podstawowym stosowanym narzędziem jest skaningowy mikroskop elektronowy (*Cellulose*. 21 (2014), 395–405).

Celem wynalazku jest opracowanie nowego, spektrofotometrycznego sposobu oznaczania zawartości złota w roztworach lub strukturach porowatych zawierających złote nanoobjekty.

Istotą wynalazku jest spektrofotometryczny sposób oznaczania zawartości złota w roztworach, strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych, zwłaszcza zawierających złote nanoobjekty na podstawie krzywej wzorcowej, obejmując etapy:

- a) Przygotowania wodnej mieszaniny bromu z bromkiem litowca lub bromkiem amonu,
- b) Przygotowania kalibratorów i oznaczenie ich miana w oparciu o roztwór wzorcowy,
- c) Przygotowania próbki badanej,
- d) Oznaczenia zawartości złota w próbce badanej,

charakteryzujący się tym, że zawartość złota w próbce badanej oznacza się na podstawie wyznaczonej krzywej wzorcowej, przy czym wyznacza się krzywą wzorcową względem dwóch kalibratorów LC oraz HC, w postaci wodnych roztworów tetrabromozłocianu (III) litowca lub amonu o znanej zawartości złota w zakresie od 9 do 150 mg Au/litr, i na podstawie zarejestrowanego widma UV-Vis kalibratorów LC oraz HC w zakresie 290–900 nm wyznacza się różnicę absorbancji ΔA dla każdego z kalibratorów, a następnie w badanej próbce wytwarza się kompleksy złota w postaci tetrabromozłocianu (III) litowca lub amonu i rejestruje się widmo UV-Vis badanej próbki, wyznacza się różnicę absorbancji ΔA w badanej próbce, i następnie na podstawie różnicy absorbancji w badanej próbce i wyznaczonej krzywej wzorcowej dla kalibratorów LC oraz HC oznacza się zawartość złota w badanej próbce.

Korzystnie kompleksy złota wytwarza się poprzez stopniowe wprowadzanie do badanej próbki zawierającej wodny roztwór nanoobjektów złota mieszaninę zawierającą wodę, roztwór wody bromowej oraz odpowiednio bromek amonu albo sól litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub bromku potasowego, przy czym mieszaninę wprowadza się do momentu aż barwa roztworu ulegnie zmianie na jasnopomarańczową.

Korzystnie po wprowadzeniu mieszaniny, badaną próbkę odparowuje się do sucha w łaźni wodnej i ponownie rozpuszcza w wodzie.

Korzystnie do oznaczenia zawartości złota w badanej próbce stosuje się krzywą wzorcową.

Korzystnie do wyznaczania krzywej wzorcowej stosuje się dwa kalibratory (LC oraz HC), korzystnie w postaci wodnych roztworów tetrabromozłocianu (III) potasu, sodu, litu lub amonu o znanej zawartości złota w zakresie od 9 do 150 mg Au/litr.

Korzystnie stężenie złota w kalibratorach LC oraz HC wyznaczone jest spektrofotometrycznie z wykorzystaniem roztworu HAuCl_4 .

Korzystnie etap oznaczania stężenia złota w kalibratorach LC oraz HC obejmuje kolejno:

- przygotowanie co najmniej trzech fiolek zawierających mieszaninę wody, roztworu HAuCl_4 , wodnego roztworu cytrynianu trisodowego oraz roztwór borowodorku sodu w roztworze cytrynianu trisodowego,
- intensywnie zmieszanie zawartości każdej z fiolek i pozostawienie ich na co najmniej 10 godzin,

- stopniowe wprowadzanie do każdej z fiolek mieszaniny wody, roztworu wody bromowej oraz odpowiednio bromku amonu albo soli litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub bromku potasowego, w ilości niezbędnej do zmiany barwy roztworów na jasnopomarańczową,
- umieszczenie fiolek w łaźni wodnej o temperaturze poniżej 100°C, korzystnie 80°C i pozostawienie ich do odparowania,
- wprowadzenie do każdej z fiolek określonej objętości wody dla uzyskania roztworów wzorcowych o znanej zawartości złota,
- rejestrację widm UV-Vis w zakresie 290–900 nm dla każdego z roztworów wzorcowych, na podstawie których wylicza się wartość absorbancji wzorca (A_{wzorca}) jako różnicę absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm, a następnie oblicza średnią wartość absorbancji wzorca ($A_{\text{sr wzorca}}$),
- rejestrację widm UV-Vis w zakresie 290–900 nm dla roztworów kalibratorów (LC, HC) na podstawie których wylicza się wartość różnicy absorbancji jako różnicę absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm,
- obliczenie stężenia złota w kalibratorach, korzystnie na podstawie proporcji matematycznej.

Korzystnie dla każdego z roztworów kalibratorów (LC oraz HC) rejestruje się widmo UV-Vis w zakresie 290–900 nm stosując jako odnośnik kuwetę szklaną lub polimerową z wodą, następnie z zarejestrowanych widm odczytuje się wartość absorbancji dla dwóch długości fali, korzystnie dla 382 oraz 325 nm, po czym dla obu roztworów wylicza się wartości zmiany absorbancji (ΔA) jako różnicę absorbancji dla dwóch długości fali, które to wartości tworzą dwa punkty na wykresie zależności $\Delta A = f(C_{\text{Au}})$, w oparciu o które wyznacza się współczynniki a oraz b dla linii prostej opisanej równaniem $\Delta A = a \cdot C_{\text{Au}} + b$.

Korzystnie po wyznaczeniu krzywej wzorcowej rejestruje się widmo UV-Vis badanej próbki, odczytuje wartości absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm i oblicza ΔA , a następnie w oparciu o równanie prostej $\Delta A = a \cdot C_{\text{Au}} + b$ oblicza się wartość stężenia złota w badanej próbce.

Korzystnie sposób obejmuje etap przygotowania roztworu do oznaczania zawartości złota w strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych, w którym analizowaną próbkę o znanej masie, w strukturze lub na powierzchni której związane są złote nanoobiekty, umieszcza się w określonej objętości mieszaniny wody, roztworu wody bromowej oraz odpowiednio bromku amonu albo soli litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub korzystnie bromku potasowego, a następnie całość wstawia się do płuczki ultradźwiękowej, korzystnie na 10 minut, celem ekstrakcji powstałych jonów złota do fazy wodnej.

Korzystnie po etapie sonifikacji całość sączy się, a z przesączu pobiera się określoną objętość klarownego roztworu, który następnie odparowuje się do sucha w łaźni wodnej w temperaturze poniżej 100°C, korzystnie 80°C, a do suchej pozostałości dodaje się określoną objętość wody.

Wynalazek ujawnia nową spektrofotometryczną metodę analityczną oznaczania zawartości złota w roztworach, strukturach porowatych oraz na powierzchni ciał stałych, w których metal ten występuje w postaci nanoobjektów pokrytych nieorganicznymi lub organicznymi ligandami gdzie jako produkty finalne uzyskiwane są dobrze rozpuszczalne w wodzie barwne połączenia złota w postaci tetrabromozłocianów (III) litu, sodu, potasu lub amonu.

Istotną zaletą sposobu według wynalazku jest prostota oraz szybkość wykonania, a także niewielki koszt materiałów niezbędnych do wykonania analizy. Zakres stosowalności metody wynosi 9 – 150 mg Au/litr w analizie. Uzyskane kalibratory LC oraz HC wykazują stabilność kalibracji do 3 godzin w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej, natomiast przechowywane w stanie zamrożonym po 6 miesiącach wykazują absorbancję o 1% niższą.

Metoda według wynalazku, zostanie bliżej przedstawiona w niżej podanym przykładzie, nieograniczającym zakresu jego ochrony.

P r z y k ł a d

Spektrofotometryczna metoda oznaczania ilości złota w roztworach oraz strukturach porowatych zawierających złote nanoobiekty.

Etap 1 – Przygotowanie wodnej mieszaniny bromu z bromkiem litowca lub bromkiem amonu

Do butelki szklanej, korzystnie z ciemnego szkła wprowadza się 100 ml wody oraz kilka kropel czystego bromu, w ilości odpowiedniej do uzyskania stężonego roztworu korzystnie o stężeniu odpowiadającym maksymalnej rozpuszczalności tego pierwiastka w wodzie. Całość pozostawia się na kilka godzin (co najmniej 12) uzyskując tym samym nasycony roztwór wody bromowej, barwy intensywnie pomarańczowej.

W kolejnym kroku do kolejnej butelki z ciemnego szkła wprowadza się 75 ml wody, 25 ml nasyconego roztworu wody bromowej oraz 10.8 mmol bromku amonu lub soli litowca w postaci bromku litu, bromku sodu albo korzystnie 1.285 g bromku potasowego. W 100 ml uzyskanej w tym etapie mieszaniny można roztworzyć 0.74 g czystego złota.

Etap 2 – Przygotowanie kalibratorów

W pierwszym kroku na wadze analitycznej odważa się 86.1 mg dwuwodnego hydratu tetrabromozłocianu (III) potasu, który następnie rozpuszcza się w 3.5 ml wody uzyskując tym samym roztwór o szacunkowym stężeniu 41.55 mmol/litr (8185.7 mg Au/litr). W kolejnym kroku przygotowany roztwór rozcieńcza się w celu uzyskania dwóch kalibratorów: LC o stężeniu około 50 mg Au/litr (16.2714 ml wody + 0.1 ml roztworu KAuBr_4) oraz HC o stężeniu około 100 mg Au/litr (16.1714 ml wody + 0.2 ml roztworu KAuBr_4).

Etap 3 – Wyznaczanie miana kalibratorów LC oraz HC

Do trzech fiolek wprowadza się 20 ml wody, 0.2 ml roztworu HAuCl_4 (przygotowanego poprzez rozpuszczenie 94,4 mg trójwodnego hydratu HAuCl_4 w 9,4 ml wody), 0.2 ml wodnego roztworu cytrynianu trisodowego (stężenie $c = 29.28$ mmol/litr) oraz 0.2 ml roztworu borowodorku sodu w roztworze cytrynianu trisodowego przygotowanego poprzez rozpuszczenie 44.3 mg borowodorku sodu w 40 ml wodnego roztworu cytrynianu trisodowego o stężeniu 29.28 mmol/litr. Całość intensywnie mieszając pozostawia się na kilka godzin (co najmniej 10). W kolejnym kroku do każdej z fiolek wprowadza się stopniowo mieszaninę uzyskaną w etapie 1, w ilości niezbędnej do zaobserwowania zmiany barwy roztworów z bordowej na jasnopomarańczową. Następnie fioleki umieszcza się w łaźni wodnej o temperaturze poniżej 100°C (korzystnie 80°C) i pozostawia do odparowania. Do każdej z fiolek wprowadza się 20 ml wody uzyskując tym samym roztwory wzorcowe o zawartości złota 50.223 mg/litr.

W kolejnym kroku dla każdego z roztworów wykonuje się widmo UV-Vis w kuwecie szklanej lub polimerowej o drodze optycznej 1 cm w zakresie 290–900 nm, z których oblicza się wartość $A_{\text{wzorca}} = A_{382 \text{ nm}} - A_{325 \text{ nm}}$. Następnie wyznacza się średnią wartość absorbancji wzorca ($A_{\text{sr wzorca}}$) której odpowiada stężenie 50.223 mg Au/litr. W analogiczny sposób rejestruje się widma UV-Vis dla roztworów kalibratorów (LC, HC) uzyskanych w etapie 2. Dla każdego z kalibratorów oblicza się wartość różnicy $A_{382 \text{ nm}} - A_{325 \text{ nm}}$. W ostatnim kroku z prostej proporcji matematycznej oblicza się stężenie złota w kalibratorach LC oraz HC.

W trakcie badań prowadzących do opracowania metody według wynalazku widma UV-Vis rejestrowano na spektrofotometrze Evolution 220 firmy Thermo Scientific z wykorzystaniem kuwet polimerowych o drodze optycznej 1 cm.

Etap 4 – Przygotowanie próbki badanej (roztwór wodny)

Do próbki zawierającej 10 ml wodnego roztworu nanoobiektów złota wprowadza się stopniowo mieszaninę przygotowaną w etapie 1, do momentu aż barwa roztworu ulegnie zmianie z bordowej lub fioletowej na jasnopomarańczową. W kolejnym kroku zawartość fioleki odparowuje się do sucha celem usunięcia halogenu w łaźni wodnej w temperaturze poniżej 100°C, korzystnie 80°C, a do suchej pozostałości wprowadza się przy użyciu pipety 2 ml wody.

Etap 5 – Przygotowanie próbki analizowanej (struktura porowata)

W zlewce umieszcza się analizowaną próbkę o znanej masie, np. próbkę celulozy 0.5 g, w strukturze której związane są złote nanoobiekty. W kolejnym kroku do próbki dodaje się 10 ml roztworu uzyskanego w etapie 1, a następnie całość wstawia się do płuczki ultradźwiękowej na 10 minut celem ekstrakcji powstałych jonów złota do fazy wodnej. W kolejnym kroku całość sączy się, a z przesączu pobiera się 5 ml klarownego roztworu, który następnie odparowuje się do sucha w łaźni wodnej w temperaturze poniżej 100°C, korzystnie 80°C. Do suchej pozostałości dodaje się 2 ml wody uzyskując klarowny, pomarańczowy roztwór.

Etap 6 – Wykonanie krzywej kalibracyjnej

Do wykonania krzywej kalibracyjnej stosuje się kalibrację dwupunktową. Ze względu na zakres wyznaczonej liniowości stężania kalibratorów LC oraz HC mogą się mieścić w zakresie 9–150 mg Au/litr. Do dwóch kuwek szklanych lub polimerowych, o drodze optycznej równej 1 cm, wprowadza się po 1.5 ml dwóch wodnych roztworów wzorcowych KAuBr₄ (LC oraz HC) o zawartości złota 50 oraz 100 mg/litr. W kolejnym kroku w spektrofotometrze UV-Vis wykonuje się linię bazową stosując jako odnośniki dwie kuwetki z wodą w zakresie fal 290–900 nm. Następnie dla każdego z roztworów kalibratorów (LC oraz HC) rejestruje się widmo UV-Vis w zakresie 290–900 nm stosując jako odnośnik kuwetkę szklaną lub polimerową z wodą. Z zarejestrowanych widm odczytuje się wartość absorbancji dla 382 oraz 325 nm. Dla każdej próbki wylicza się wartość zmiany absorbancji (ΔA) jako różnicę $A_{382} - A_{325}$. W kolejnym kroku rysuje się wykres zależności $\Delta A = f(c_{Au})$, gdzie c_{Au} oznacza stężenie jonów złota w mg/litr i w oparciu o uzyskane dwa punkty metodami automatycznymi lub w oparciu o metodę najmniejszych kwadratów wyznacza się współczynniki a oraz b dla linii prostej opisanej równaniem $\Delta A = a \cdot c_{Au} + b$.

Etap 7 – Pomiar zawartości złota w próbce badanej

Uzyskaną w etapie 4 lub etapie 5 próbkę zawierającą nieznaną ilość złota przenosi się do kuwety szklanej lub polimerowej o drodze optycznej 1 cm. Następnie rejestruje się widmo UV-Vis korzystnie w 1 powtórzeniu w zakresie 290–900 nm stosując jako odnośnik kuwetkę zawierającą wodę. Z uzyskanego widma UV-Vis odczytuje się wartość ΔA jako różnicę $A_{382nm} - A_{325nm}$. W przypadku gdy wyznaczona wartość ΔA dla próbki badanej jest wyższa niż 2.5 jednostki absorbancji wówczas analizowaną próbkę należy rozcieńczyć, a wykonane rozcieńczenie uwzględnić w wyznaczaniu końcowego stężenia złota w próbce badanej. W przypadku gdy wartość ΔA dla próbki badanej jest niższa niż 0.25 jednostki absorbancji wówczas analizowaną próbkę należy zatężyć, gdyż ilość złota w analizowanej próbce znajduje się poniżej zakresu czułości opisywanej metody analitycznej. W ostatnim kroku w oparciu o równanie wyznaczone w etapie 6 oraz wartość ΔA dla próbki badanej oblicza się wartość stężenia złota w próbce badanej.

Zastrzeżenia patentowe

1. Spektrofotometryczny sposób oznaczania zawartości złota w roztworach, strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych, zwłaszcza zawierających złote nanoobiekty na podstawie krzywej wzorcowej, obejmując etapy:
 - a) Przygotowania wodnej mieszaniny bromu z bromkiem litowca lub bromkiem amonu,
 - b) Przygotowania kalibratorów i oznaczenie ich miana w oparciu o roztwór wzorcowy,
 - c) Przygotowania próbki badanej,
 - d) Oznaczenia zawartości złota w próbce badanej,**znamienny tym**, że zawartość złota w próbce badanej oznacza się na podstawie wyznaczonej krzywej wzorcowej, przy czym wyznacza się krzywą wzorcową względem dwóch kalibratorów LC oraz HC, w postaci wodnych roztworów tetrabromozłocianu (III) litowca lub amonu o znanej zawartości złota w zakresie od 9 do 150 mg Au/litr, i na podstawie zarejestrowanego widma UV-Vis kalibratorów LC oraz HC w zakresie 290–900 nm wyznacza się różnicę absorbancji ΔA dla każdego z kalibratorów, a następnie w badanej w badanej próbce wytwarza się kompleksy złota w postaci tetrabromozłocianu (III) litowca lub amonu i rejestruje się widmo UV-Vis badanej próbki, wyznacza się różnicę absorbancji ΔA w badanej próbce, i następnie na podstawie różnicy absorbancji w badanej próbce i wyznaczonej krzywej wzorcowej dla kalibratorów LC oraz HC oznacza się zawartość złota w badanej próbce.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że kompleksy złota wytwarza się poprzez stopniowe wprowadzanie do badanej próbki zawierającej wodny roztwór nanoobektów złota mieszaninę zawierającą wodę, roztwór wody bromowej oraz odpowiednio bromek amonu albo sól litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub bromku potasowego, przy czym mieszaninę wprowadza się do momentu aż barwa roztworu ulegnie zmianie na jasnopomarańczową.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że po wprowadzeniu mieszaniny, badaną próbkę odparowuje się do sucha w łaźni wodnej i ponownie rozpuszcza w wodzie.

4. Sposób według zastrz. 1 albo 2 albo 3, **znamienny tym**, że do oznaczenia zawartości złota w badanej próbce stosuje się krzywą wzorcową.
5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że do wyznaczania krzywej wzorcowej stosuje się dwa kalibratory (LC oraz HC), korzystnie w postaci wodnych roztworów tetrabromozłocianu (III) potasu, sodu, litu lub amonu o znanej zawartości złota w zakresie od 9 do 150 mg Au/litr.
6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że stężenie złota w kalibratorach LC oraz HC wyznaczane jest spektrofotometrycznie z wykorzystaniem roztworu HAuCl_4 .
7. Sposób według zastrz. 6, **znamienny tym**, że etap oznaczania stężenia złota w kalibratorach LC oraz HC obejmuje kolejno:
 - przygotowanie co najmniej trzech fiolek zawierających mieszaninę wody, roztworu HAuCl_4 , wodnego roztworu cytrynianu trisodowego oraz roztwór borowodorku sodu w roztworze cytrynianu trisodowego,
 - intensywnie zmieszanie zawartości każdej z fiolek i pozostawienie ich na co najmniej 10 godzin,
 - stopniowe wprowadzanie do każdej z fiolek mieszaniny wody, roztworu wody bromowej oraz odpowiednio bromku amonu albo soli litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub bromku potasowego, w ilości niezbędnej do zmiany barwy roztworów na jasnopomarańczową,
 - umieszczenie fiolek w łaźni wodnej o temperaturze poniżej 100°C , korzystnie 80°C i pozostawienie ich do odparowania,
 - wprowadzenie do każdej z fiolek określonej objętości wody dla uzyskania roztworów wzorcowych o znanej zawartości złota,
 - rejestrację widm UV-Vis w zakresie 290–900 nm dla każdego z roztworów wzorcowych, na podstawie których wylicza się wartość absorbancji wzorca (A_{wzorca}) jako różnicę absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm, a następnie oblicza średnią wartość absorbancji wzorca ($A_{\text{sr wzorca}}$),
 - rejestrację widm UV-Vis w zakresie 290–900 nm dla roztworów kalibratorów (LC, HC) na podstawie których wylicza się wartość różnicy absorbancji jako różnicę absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm,
 - obliczenie stężenia złota w kalibratorach, korzystnie na podstawie proporcji matematycznej.
8. Sposób według zastrz. 6 albo 7, **znamienny tym**, że dla każdego z roztworów kalibratorów (LC oraz HC) rejestruje się widmo UV-Vis w zakresie 290–900 nm stosując jako odnośnik kuwetę szklaną lub polimerową z wodą, następnie z zarejestrowanych widm odczytuje się wartość absorbancji dla dwóch długości fali, korzystnie dla 382 oraz 325 nm, po czym dla obu roztworów wylicza się wartości zmiany absorbancji (ΔA) jako różnicę absorbancji dla dwóch długości fali, które to wartości tworzą dwa punkty na wykresie zależności $\Delta A = f(c_{\text{Au}})$, w oparciu o które wyznacza się współczynniki a oraz b dla linii prostej opisanej równaniem $\Delta A = a \cdot c_{\text{Au}} + b$.
9. Sposób według zastrz. 8, **znamienny tym**, że po wyznaczeniu krzywej wzorcowej rejestruje się widmo UV-Vis badanej próbki, odczytuje wartości absorbancji dla dwóch różnych długości fali, korzystnie 382 i 325 nm, i oblicza ΔA , a następnie w oparciu o równanie prostej $\Delta A = a \cdot c_{\text{Au}} + b$ oblicza się wartość stężenia złota w badanej próbce.
10. Sposób według dowolnego z poprzedzających zastrzeżeń, **znamienny tym**, że obejmuje etap przygotowania roztworu do oznaczania zawartości złota w strukturach porowatych lub na powierzchniach ciał stałych, w którym analizowaną próbkę o znanej masie, w strukturze lub na powierzchni której związane są złote nanoobiekty, umieszcza się w określonej objętości mieszaniny wody, roztworu wody bromowej oraz odpowiednio bromku amonu albo soli litowca w postaci bromku litu, bromku sodu lub korzystnie bromku potasowego, a następnie całość wstawia się do płuczki ultradźwiękowej, korzystnie na 10 minut, celem ekstrakcji powstałych jonów złota do fazy wodnej.
11. Sposób według zastrz. 10, **znamienny tym**, że po etapie sonifikacji całość sączy się, a z przesączu pobiera się określoną objętość klarownego roztworu, który następnie odparowuje się do sucha w łaźni wodnej w temperaturze poniżej 100°C , korzystnie 80°C , a do suchej pozostałości dodaje się określoną objętość wody.