

Optické metody

Atomová absorpční spektrofotometrie

AAS

- Metoda kvantitativní elementární analýzy pro více než 60 prvků (převážně kovových)
- velká citlivost a specifická specifická pro daný prvek –umožňuje stanovení prvku i v přítomnosti velkého přebytku doprovodných látek bez předchozích složitějších separací a úprav (zkrácení doby analýzy)

AAS

- Vychází ze zákona Kirchhofa a Bunsena (1860) „Volné atomy v plynném stavu jsou schopny absorbovat záření takové vlnové délky, kterou samy emitují“
- Další objevy vedly ke konstrukci AAS spektrofotometrů s prudkým rozvojem jejich použití po r. 1950



Cu	max	16.3	170.0	1.0
Cu	min	0.41	160.0	1.0
Fe	max	0.91	160.0	1.0
Fe	min	0.08	160.0	1.0
Ca	max	1.72	160.0	1.0
Ca	min	0.08	160.0	1.0



FS95 furnace autosampler

Wash
15.3.06

Waste

AAS

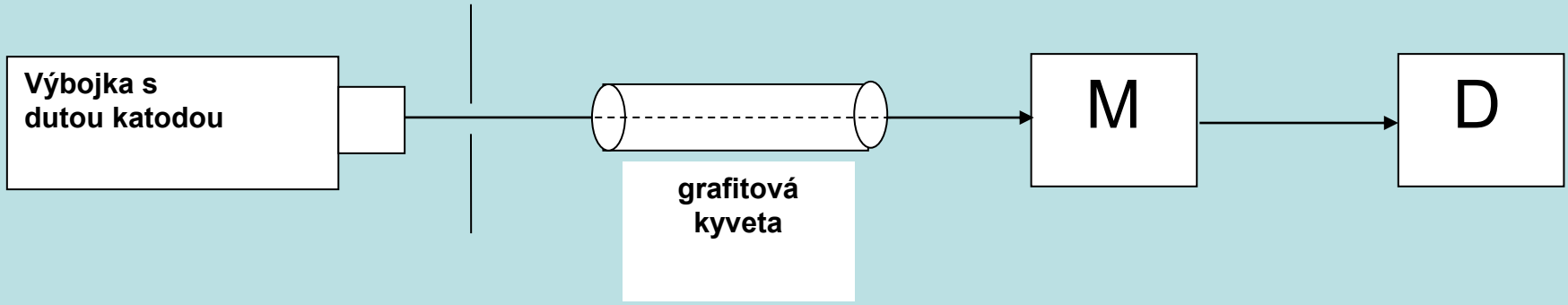
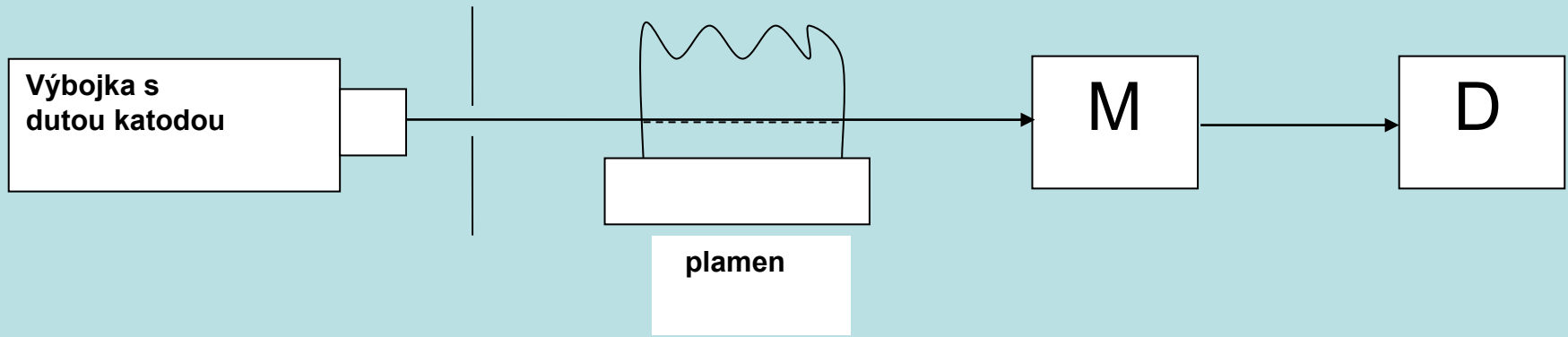
- Je založena na principu absorpce světelného záření přesně vymezené vlnové délky atomy prvku v základním stavu
- Použití AAS vyžaduje:
 - převedení látky z roztoku na formu volných atomů v plynné fázi (atomizaci, 2000-3000K) v základním nevzbuzeném stavu
 - zdroj záření o přesné vlnové délce charakteristické pro stanovovaný prvek

AAS-Princip stanovení

Záření ze zdroje prochází optickým prostředím (plamenem, atomizátorem) obsahujícím volné atomy, které toto záření absorbují. Na výstupu z plamene můžeme pozorovat úbytek intenzity záření způsobený absorpcí. Neabsorbované záření prochází monochromátorem a dopadá na detektor. Signál se registruje jako absorbance a úbytek záření je přímo úměrný koncentraci stanovovaného prvku

Základní součásti AA spektrofotometru

- Zdroj záření
- Absorbční prostředí
- Monochromátor
- Detektor



3.41	1.00	1.00	1.00
3.81	1.00	1.00	1.00
3.88	1.00	1.00	1.00
3.72	1.00	1.00	1.00

November 2, 2008

Computer workstation including a monitor displaying a software interface, a keyboard, and a mouse. The monitor shows a data table with columns for 'Wavelength', 'Absorbance', and 'Concentration'. The keyboard is a standard white computer keyboard.



SOLAR
v. GE602093

AA SPECTROMETER

WARNING
strong magnetic field
avoid its use
AVERTISSEMENT
champs magnétiques
important: éviter l'usage

Thermo Elemental
Type: GE602093
Serial: 1000000000
Date: 10/01/08
Made in: Korea



AAS-zdroje záření

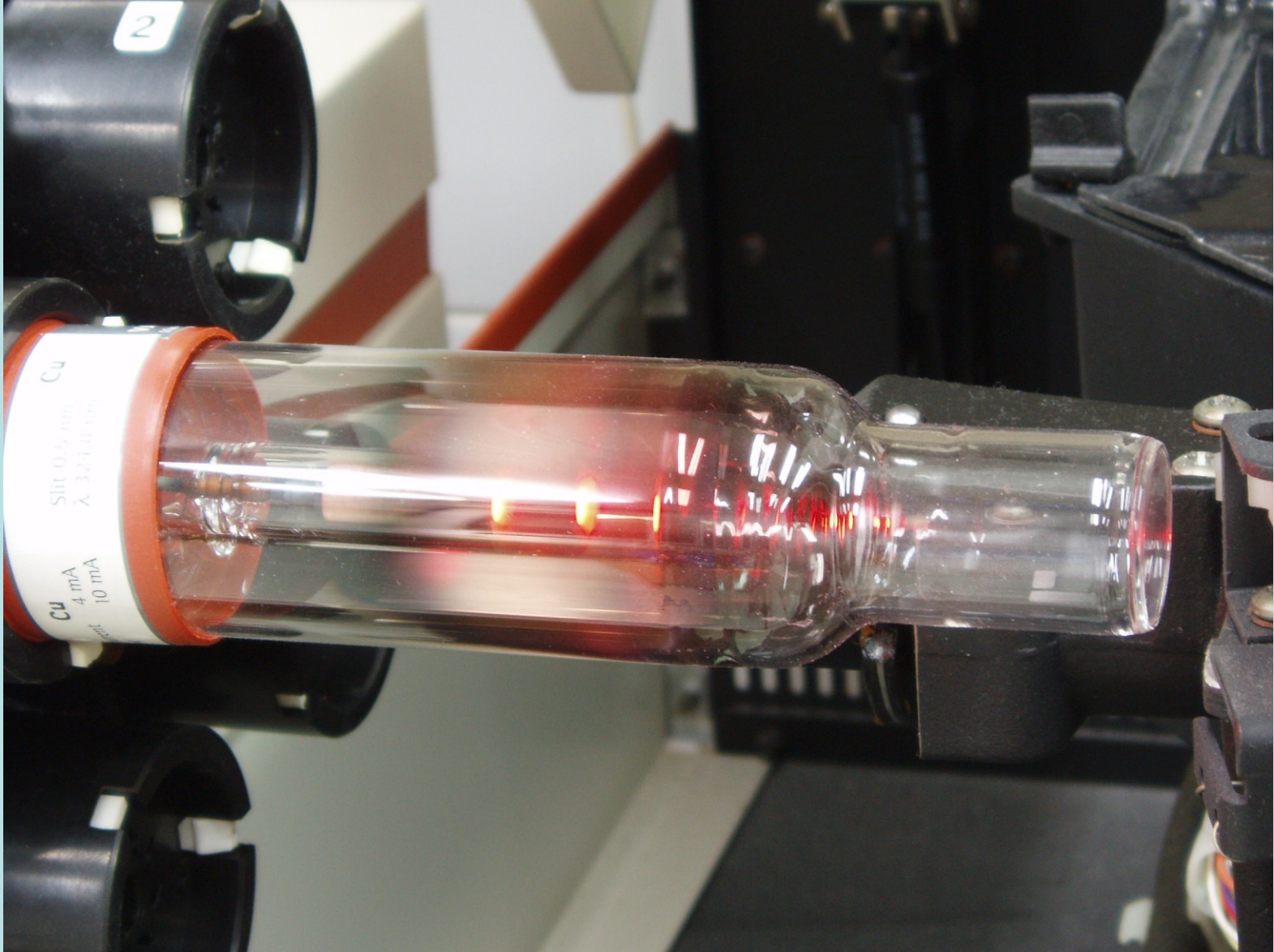
- ❖ Výbojky s dutou katodou
- ❖ Bezelektrodové výbojky
- ❖ Superlampy
- ❖ Laserové diody

Výbojka s dutou katodou

Je to lampa, která obsahuje katodu zhotovenou ze stejného kovu jako je stanovovaný prvek, anodu s inertního kovu (W, Ti) a je plněna při nízkém tlaku (100-1000 Pa) neonem nebo argonem. Výstupní okénko je vyrobeno z propouštějícího materiálu – optický křemen (do 240 nm), spec. skla (240-300nm), běžné sklo (nad 300 nm)

Výbojka s dutou katodou

Vloží-li se na elektrody dostatečně velké napětí (200-600 V) a žhavicí proud (3-25 mA), dochází k doutnavému výboji a vzniklé ionty plynu (Ne^+) vyrážejí z katody atomy sledovaného kovu. Ty se srážkami deexcitují a vysílají čáry kovu. Z výbojky vychází čárové spektrum daného stanovovaného prvku (pro každý prvek jiná výbojka).



Bezelektrodové výbojky

- Používají se jako alternativní zdroj pro některé těkavější kovy (Hg, Cd, Zn)
- Poskytované záření má vyšší intenzitu při zachování velmi úzké pološířky čar
- Vyšší intenzita záření je nutná v oblasti spektra pod 220 nm, kde se výrazně projevuje absorpce záření pozadím

Superlamps

- Produkuje čárové spektra o stejné (nebo menší) pološířce jako výbojky, ale intenzita čar je 5-75x vyšší (v závislosti na prvku)
- Princip je stejný jako u výbojky s dutou katodou, navíc je použit emitor elektronů a cylindrická katoda bez dna
- Výhody: velmi dlouhá životnost, vyšší linearita kalibrací.

Laserové diody

- Polovodičové prvky, které jsou schopné emitovat přísně monochromatické záření o vysoké intenzitě
- Nová generace AA spektrofotometrů bez disperzních prvků (monochromátorů)
- Výhody: nižší detekční limity, širší pracovní rozsah měřitelných koncentrací
- Nevýhody: omezený rozsah vlnových délek, pracují v IF a VIS oblasti s nejnižší vln. délkou 300 nm

AAS-Absorpční prostředí

Záření ze zdroje prochází absorpčním prostředím kde probíhá proces atomizace -převedení látky z roztoku na atomový plyn

ATOMIZACE:

- ❖ **Plamenová**
- ❖ **Elektrotermická (bezplamenová)**

Plamenová atomizace

Využívá k atomizaci prvku teploty plamene

- Vzorek je v tekutém stavu nasáván tenkou kapilárou (vlivem podtlaku proudícího vzduchu) do zmlžovací komory (nebulizéru)
- Vzniká jemný aerosol, který se smíchá s topným plynem a oxidovadlem
- Aerosol vstupuje do plamene kde dojde k odpaření vody a vzniku volných neexcitovaných atomů v základním stavu. Tyto atomy jsou schopny absorbovat záření vycházející ze zdroje

Plamenová atomizace

- Teplota plamene je závislá na kombinaci topného plynu a oxidovadla:
 - acetylén-vzduch (2100-2800°C)
 - acetylén-kyslík (3060 C)
 - acetylén-oxid dusný (2955 C)
- Hořák má podobu podélné štěrbiny, tato konstrukce prodlužuje absorpční prostředí – zvyšuje hodnotu měřené absorpce





Elektrotermická atomizace

- K atomizaci stanovovaných prvků využívá teploty elektricky vyhřívané grafitové pícky
- Vykazuje větší citlivost, nízké detekční limity, malý objem vzorku (v μl –zajištěno programovatelným dávkovačem)
- délka pícky je několik cm, průměr několik mm), je umístěna v dráze primárního záření a během ohřevu je v atmosféře argonu

Elektrotermická atomizace

- Pícka se zahřívá podle zvoleného programu, v němž je možno rozlišit fáze:
sušení - odpaření rozpouštědla (do 120 C)
pyrolýza a mineralizace - odstranění organických součástí vzorku (300-700 C)
vlastní atomizace - vznik atomů v plynném základním stavu (1000-3000 C)
vyčištění (vypálení) kyvety - 3000 C, po dobu 3s

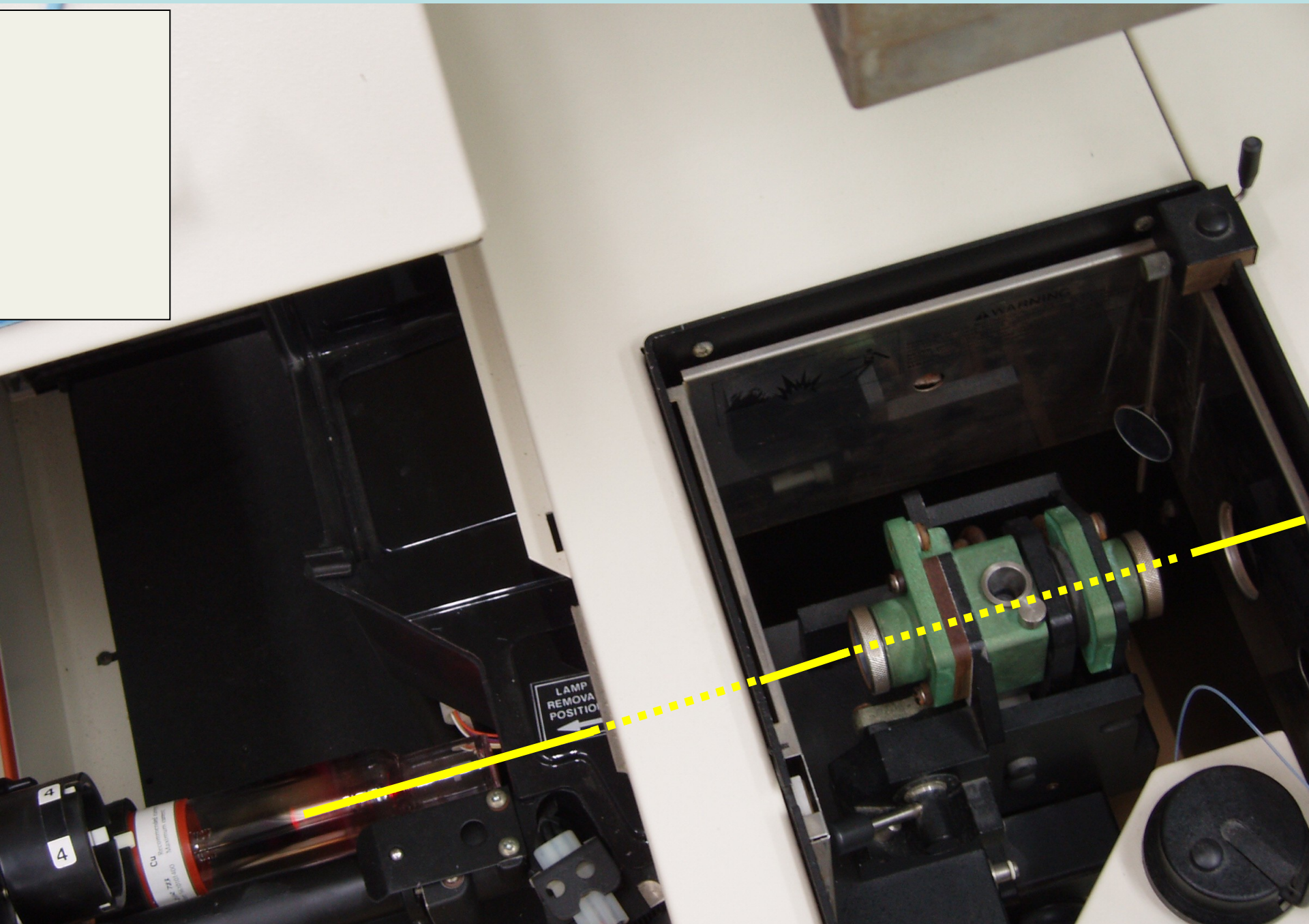
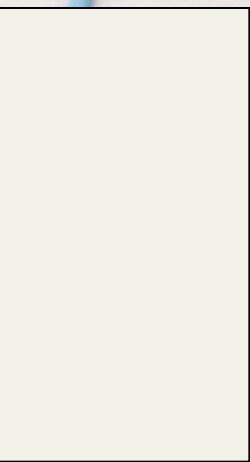
Elektrotermická atomizace

- Během jednotlivých fází teplotního režimu (kromě atomizace) proudí prostorem kyvety inertní plyn (argon) – chrání grafitovou kyvetu před oxidací
- Při programování teplotního režimu se zadává pro jednotlivé fáze teplota a doba trvání v s. Pro přechody mezi jednotlivými fázemi se rychlost nárůstu teploty udává v C/s tzv. rampa

Fáze		teplota [°C]	čas [s]	rampa [°C/s]	inert.plyn průtok [l/min]
sušení	1	95	45	10	0,2
	2	110	20	5	0,2
	3	130	15	10	0,2
mineralizace	4	1100	20	150	0,2
atomizace	5	2300	3	0	0
vypálení kyvety	6	2700	3	0	0,2

Elektrotermická atomizace

- Grafitová kyveta je spolu s elektrodami umístěna v kovovém bloku, kterým protéká chladící voda pro rychlé ochlazování (příprava k dalšímu použití)
- Proces dávkování byl u starých přístrojů pozorován pomocí zrcátka, nové přístroje jsou vybaveny mikrokamerou

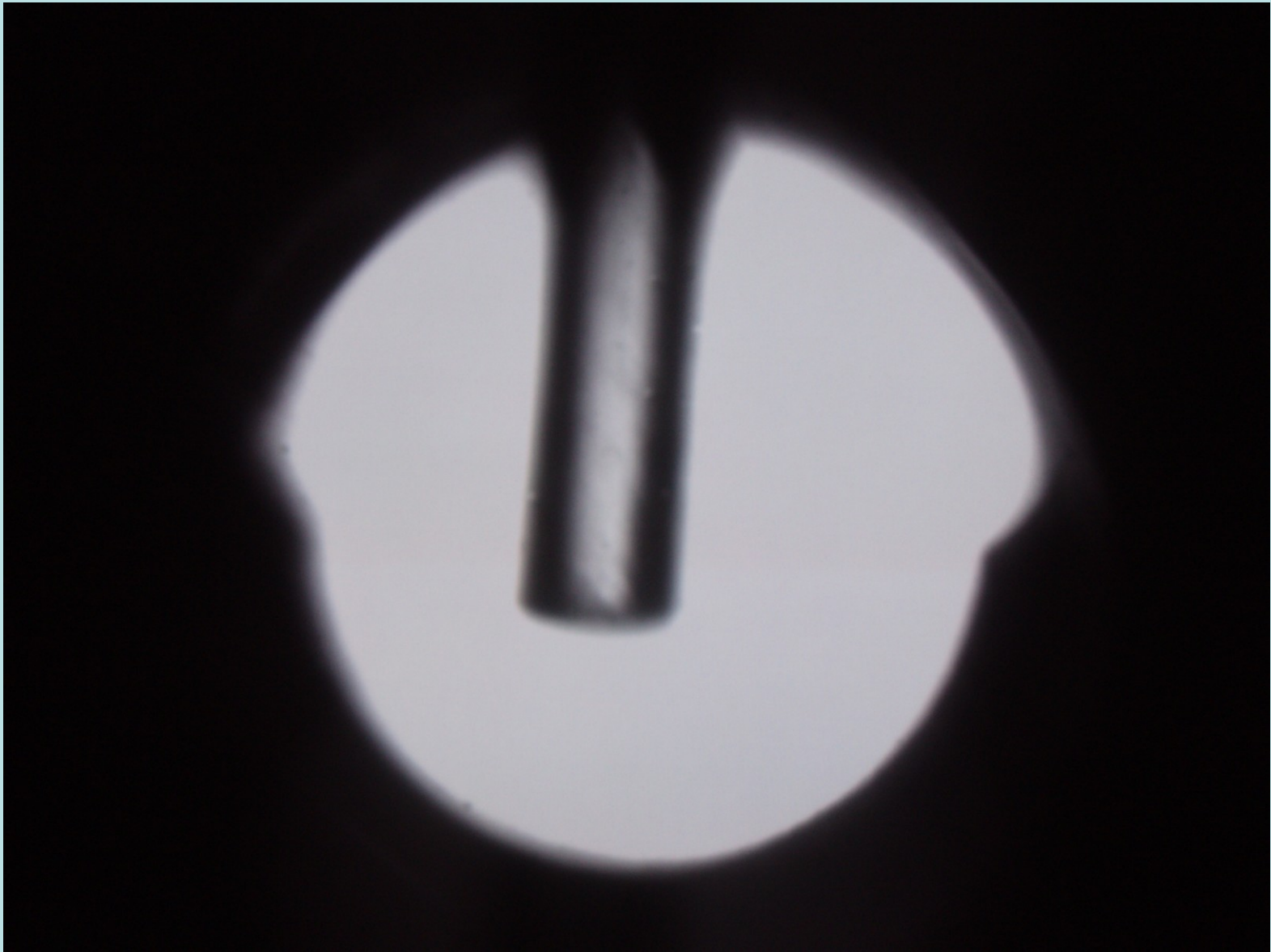


LAMP
REMOVAL
POSITION
←

Cu
773

WARNING

4
4








Zeemanova korekce pozadi

 **HOT COVER**
this surface may be hot
COUVERCLE CHAUDE
possibilité de surface chaude

 **WARNING**
strong magnetic field



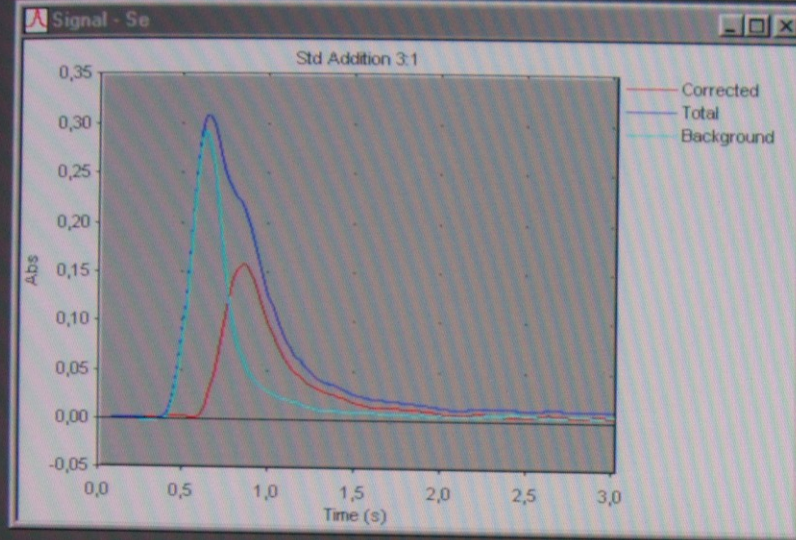
LAMP
REMOVAL
POSITION
←

CU
713
Spectrophotometer
Maximum temp
100°C

4

4

WARNING



Furnace Status

Furnace Cycle

Phase	Temperature [°C]	Time (secs)

Inner Gas

Flow (L/min)	Gas Type	Cuvette Firings
		153

Autosampler Status

Idle

Results - 1.2.2006.slr

Sample ID	Signal	Rsd	Concentration	Corrected Concentration
Analysis 85			7:14:32	23.2.2006
Se	Abs (Height)	%	µmol/l	
Blank	0,0036	10,0	0,00	
Seronorm	0,0351	3,4	0,15	0,73
Std Addition 1	0,0629	2,7	0,13	
Std Addition 2	0,1130	8,6	0,38	
Std Addition 3	0,1578	0,0	0,63	
Seronorm	0,0421	4,5	0,18	0,90
Sample ID 2	0,0510	2,1	0,23	1,13
Sample ID 3	0,0444	2,7	0,19	0,96
Sample ID 4	0,0407	3,7	0,17	0,87



Spectrometer

Flame Status

QC Protocol

Calibration

For Help, press F1

Start



SOLAAR AA System

PCTV Vision - VCR

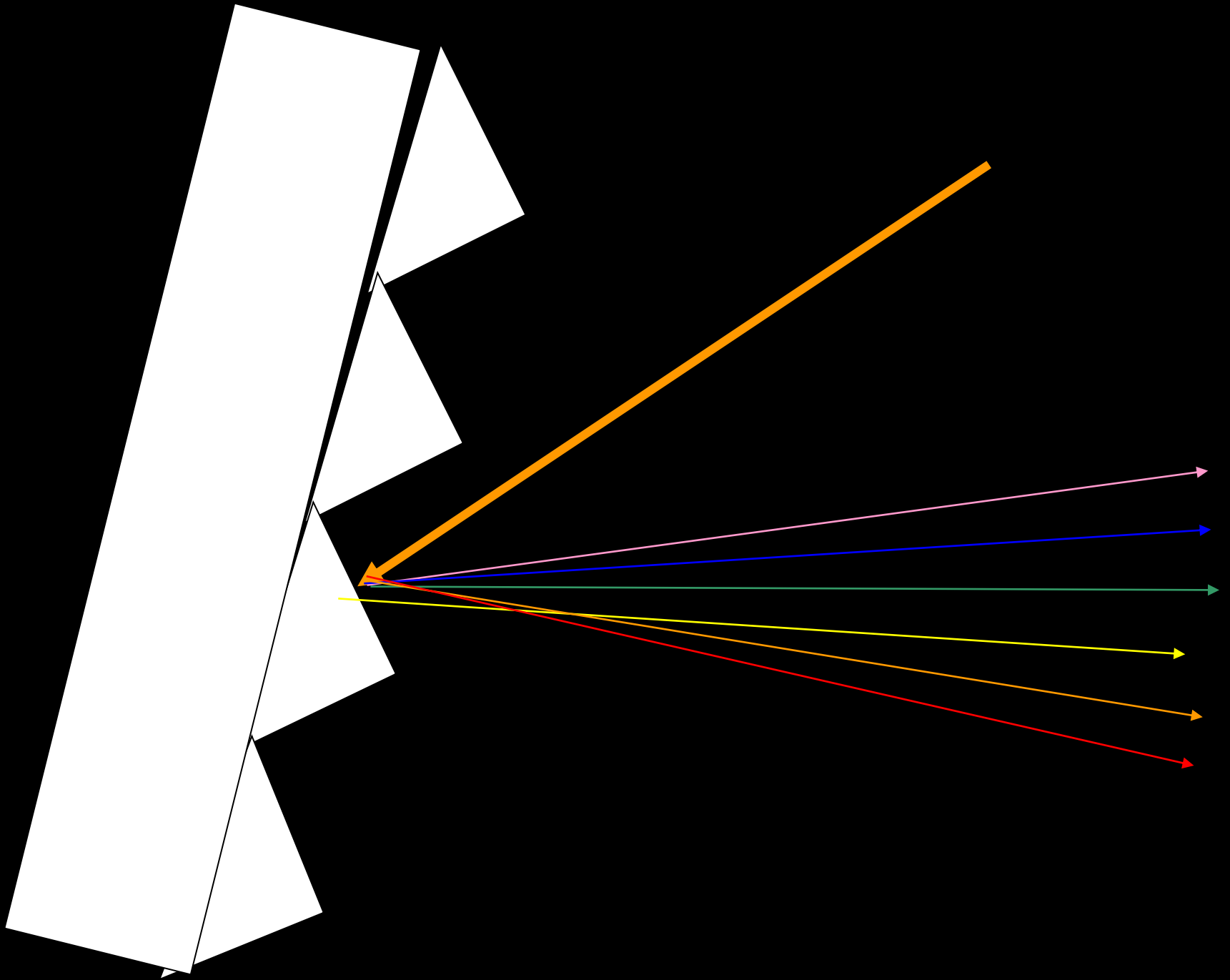
Se

ON

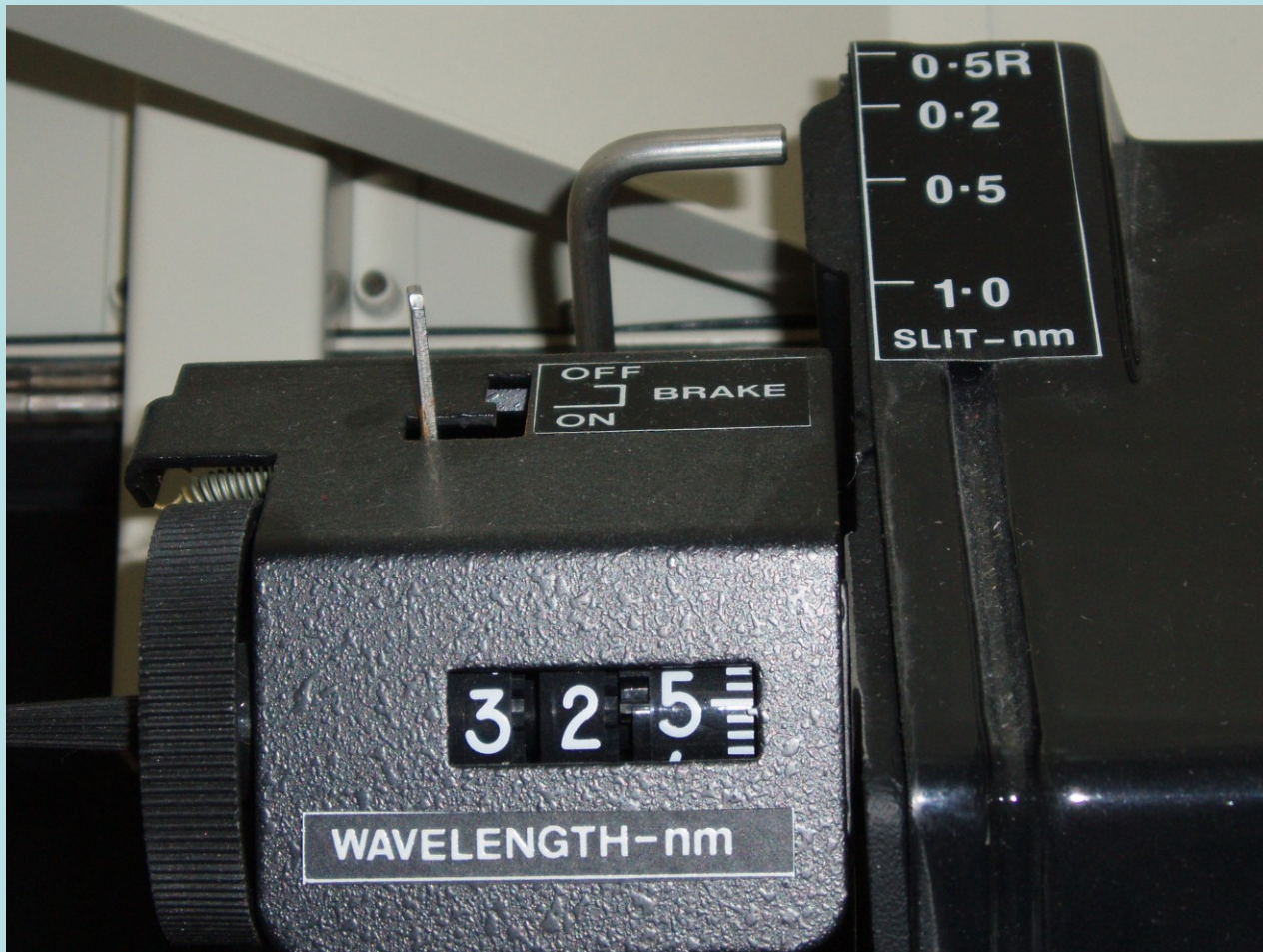


Monochromátor

- ❖ **Reflexní difrakční mřížka** - u většiny AAS přístrojů
 - je založena na principu ohybu světla
 - je tvořena soustavou jemných rovnoběžných vrypů na skleněné destičce
 - na ploškách mřížky dochází ke složitým opt. jevům (odraz, interference), kt. vedou k tomu že z mřížky vychází jednotlivé λ pod rozdílným úhlem (kt. závisí na λ záření)



Monochromátor

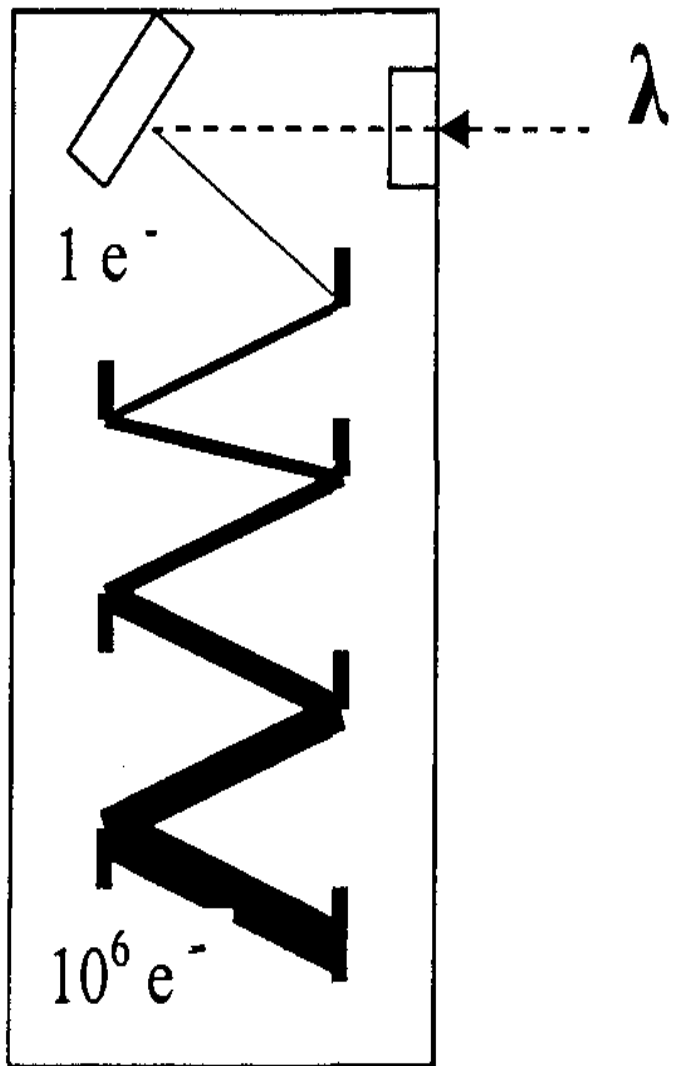


Detektor

❖ **Fotonásobič** –se používá u většiny AAS přístrojů

Princip je založen na fotoelektrickém efektu.

Skládá se z fotosenzitivní katody z které se uvolňují při dopadu záření elektrony, ty jsou přitahovány dynodami na kt. bylo vloženo zvyšující se napětí . Dochází k násobení toku elektronů směrem k anodě, tím dojde k vnitřnímu zesílení signálu - zvýší se citlivost detektoru



Fotonásobič.

Detektor

❖ **Fotodioda** – u spektrofotometrů využívajících jako zdroj laserové diody

Princip je založen na fotoelektrickém efektu.

Skládá se z fotosenzitivní katody a anody umístěné ve vakuu skleněné baňky. Elektrony uvolněné z fotosenzitivní katody (vlivem dopadajícího záření) se pohybují směrem k anodě čímž vzniká el. proud kt. je proporcionální intenzitě světelného záření

Konstrukční uspořádání spektrofotometrů

❖ Jednopaprskové

výhody: jednoduché, vykazují minimální ztráty záření (není nutné používat zdroje záření s vyšší intenzitou)

nevýhody: nedokáží eliminovat kolísání zdroje záření a celkovou nestabilitu systému. Nutno provést samostatné měření (pro zjištění I_0) v době kdy se v absorpčním prostředí nenachází vzorek

Konstrukční uspořádání spektrofotometrů

- ❖ Dvoupaprskové – svazek paprsku ze zdroje je rozdělen rotujícím zrcadlem na dva rovnoběžné svazky – měrný (procházející absorpčním prostředím) a porovnávací. Svazky dopadají střídavě na vstupní štěrbinu monochromátoru

Výhody: pouze jedno měření

Nevýhody: ztráty záření ze zdroje vlivem rozdělení paprsku (použití zdroje s vyšší intenzitou)

Konstrukční uspořádání spektrofotometrů

Protože ani jedno uspořádání není optimální existuje kompromisní řešení kt. kombinuje oba způsoby uspořádání za použití tzv. Stockhalovy optiky.

Stockhalova optika

Je systém výkyvných zrcadel, kt. umožňuje vychýlení měrného paprsku mimo absorpční prostředí (tím je možno změřit hodnotu I_0) a následně se systém chová jako jednopaprskový

Metody korekce pozadí

Nespecifické absorpce (pozadí) a její korekce je u AAS komplexní a složitý problém.

Způsoby korekce

sekvenční

❖ Metoda měření na dvou liniích

simultální

❖ Korekce pomocí lampy se spojitým spektrem

❖ Zeemanova metoda korekce

Metoda měření na dvou liniích

Metoda využívá k měření absorbance při dvou vlnových délkách málo rozdílných hodnot za použití téže lampy

Způsob korekce: nejprve se změří celková A při λ odpovídající stanovovanému prvku. Potom se změří A pozadí při blízké λ , kterou neabsorbuje měřený prvek. Rozdílem je dána absorbance hledaného prvku

- Tato korekce je možná pouze u plamenové fotometrie, dnes se již nepoužívá

Korekce pomocí lampy se spojitým spektrem

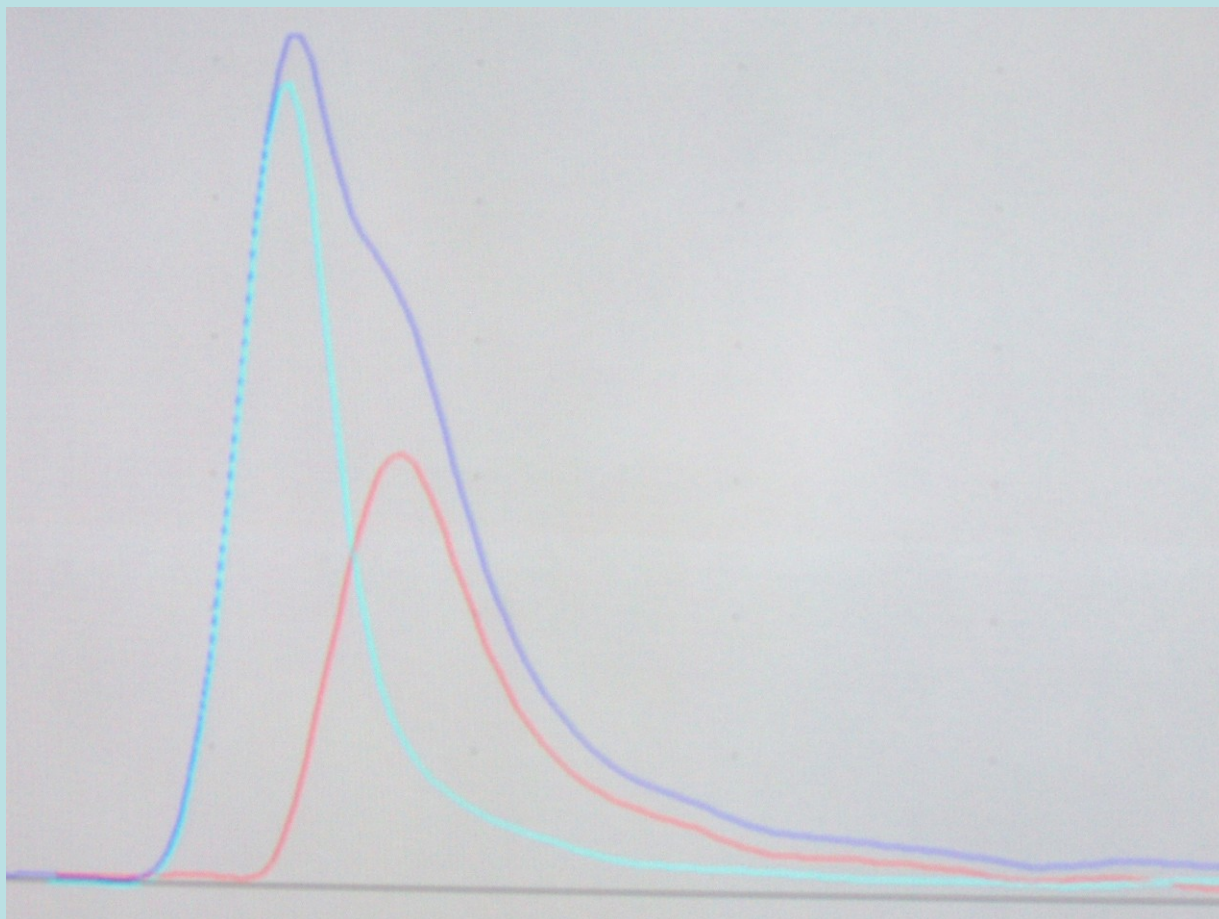
System je vybaven dvěma lampami –lampou s dutou katodou pro měřený prvek a deuteriovou lampou

Základním principem je střídání čárového zdroje a kontinuálního zdroje záření v optické cestě spektrometru.

V reálném případě, kdy se vyskytuje jak specifická absorpce tak absorpce pozadí, bude absorpce čárového zdroje odpovídat absorpci celkové, zatímco absorpce změřená kontinuálním zdrojem bude odpovídat pouze absorpci pozadí. Odečtením obou hodnot se získá specifická absorpce, která odpovídá koncentraci analytu v absorpčním prostředí

Zeemanova korekce pozadí

- V tomto případě je atomizér umístěn do silného magnetického pole. Jeho účinkem dochází ke štěpení a posunu absorpčních čar atomů stanovovaného prvku
- Jestliže na atomizér působí magnetické pole, mění se energetický stav atomů se zmíněným štěpením a posunem absorpčních čar a nedochází tak ke specifické absorpci záření které vychází z duté katody
- Rozdíl mezi těmito dvěma hodnotami absorbance poskytuje „čistou, specifickou“ absorpci působenou atomy stanovovaného prvku bez absorpce pozadí



Význam AAS

- Stanovení stopových prvků – prvky, kt. jsou pro organismus nezbytné, ale vyskytují se v krvi (biologických tekutinách) v koncentraci $\mu\text{molárních}$ a nižších.
- Pokud je jich v organismu nedostatek, způsobují závažné chorobné stavy
- Jejich vysoké dávky bývají toxické
- Doporučené denní dávky záleží na věku, přítomnosti onemocnění a dalších faktorech

Stopové prvky v biologických tekutinách

- **Fe, Cu, Zn** – v nejvyšších koncentracích (10-20 $\mu\text{mol/l}$)
- **Se, F, J, Co, Cr, Mn, Mo** – v koncentraci řádově nižší
- **Si, V** – ultrastopové prvky

Děkuji za pozornost