

Stopová analýza prvků v Klinické biochemii

Zn, Cu, Fe, Mn, Se . . .

Cd, Hg, Pb, Al . . .

Doc.MUDr. Milan Dastych, CSc., MBA



A A S

Atomová **A**bsorpční **S**pektrofotometrie

I C P

Inductively **C**oupled **P**lasma
(Indukčně vázané plazma)



A A S

Atomová **A**bsorpční **S**pektrofotometrie



Kirchhoffův zákon

Volné atomy v základním stavu jsou schopny absorbovat takovou **vlnovou délku**, kterou by vyzářily při přechodu z excitovaného stavu (elektrony ve vyšší energetické hladině) do základního stavu (elektrony v původní energetické hladině).



A T O M I Z A C E

účinkem vysoké teploty

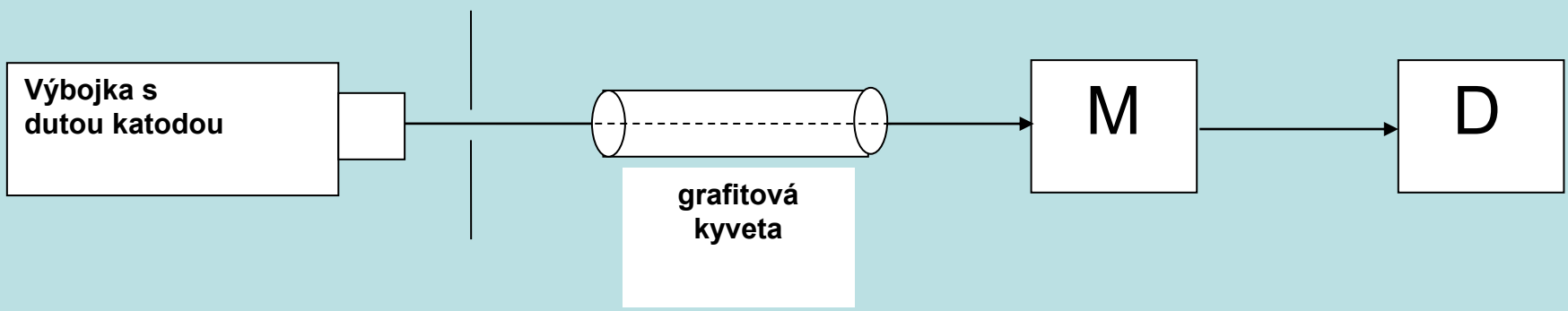
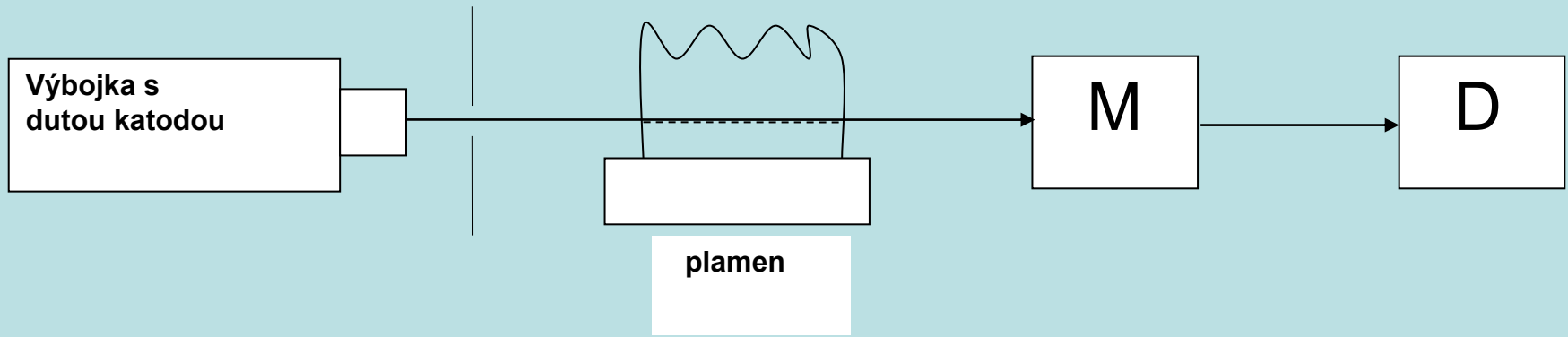
A A S

Plamenová technika

atomizace teplotou plamene
(acetylén/vzduch; acetylén/N₂O)

Elektrotermická technika

atomizace teplotou elektrické energie
(grafitová kyveta)



Zdroje primárního záření

společné pro plamenovou i elektrotermickou techniku

výbojky s dutou katodou (HCL - Hollow Cathode Lamp),

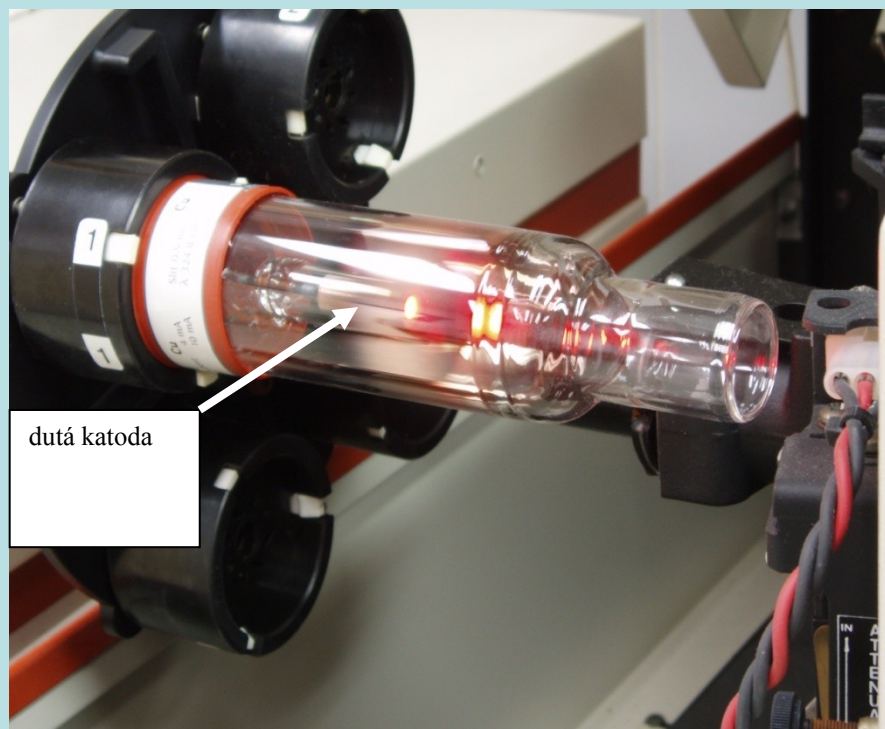
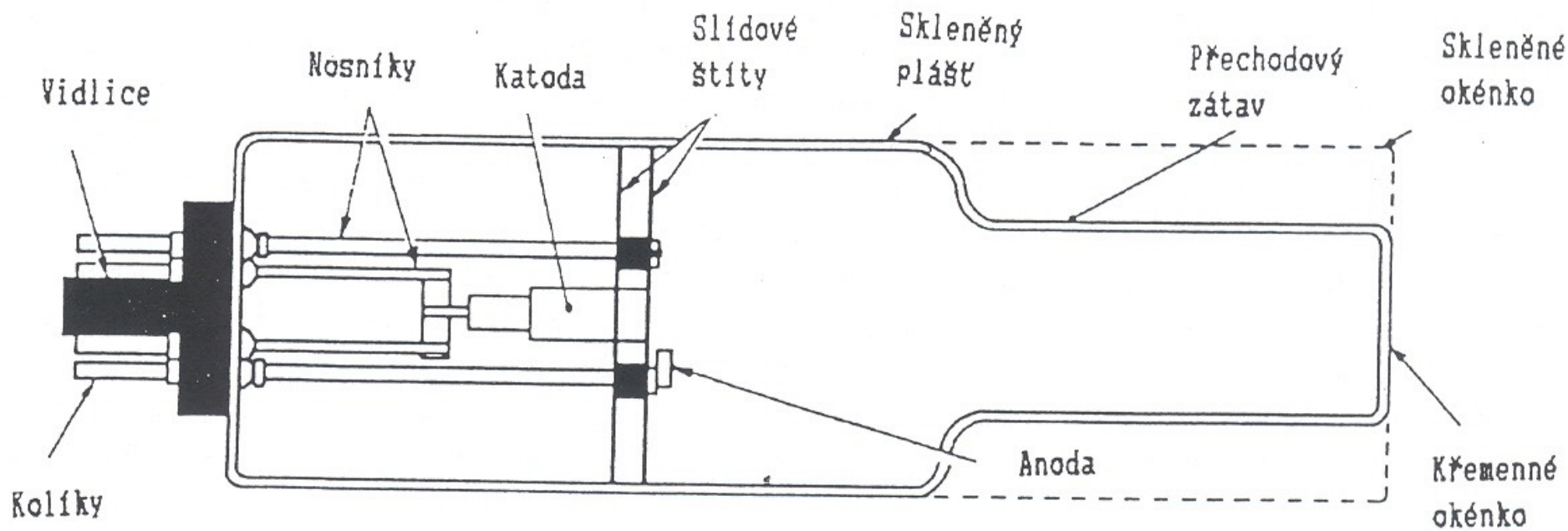
bezelektrodové výbojky (EDL – Electrodeless Discharge Lamp)

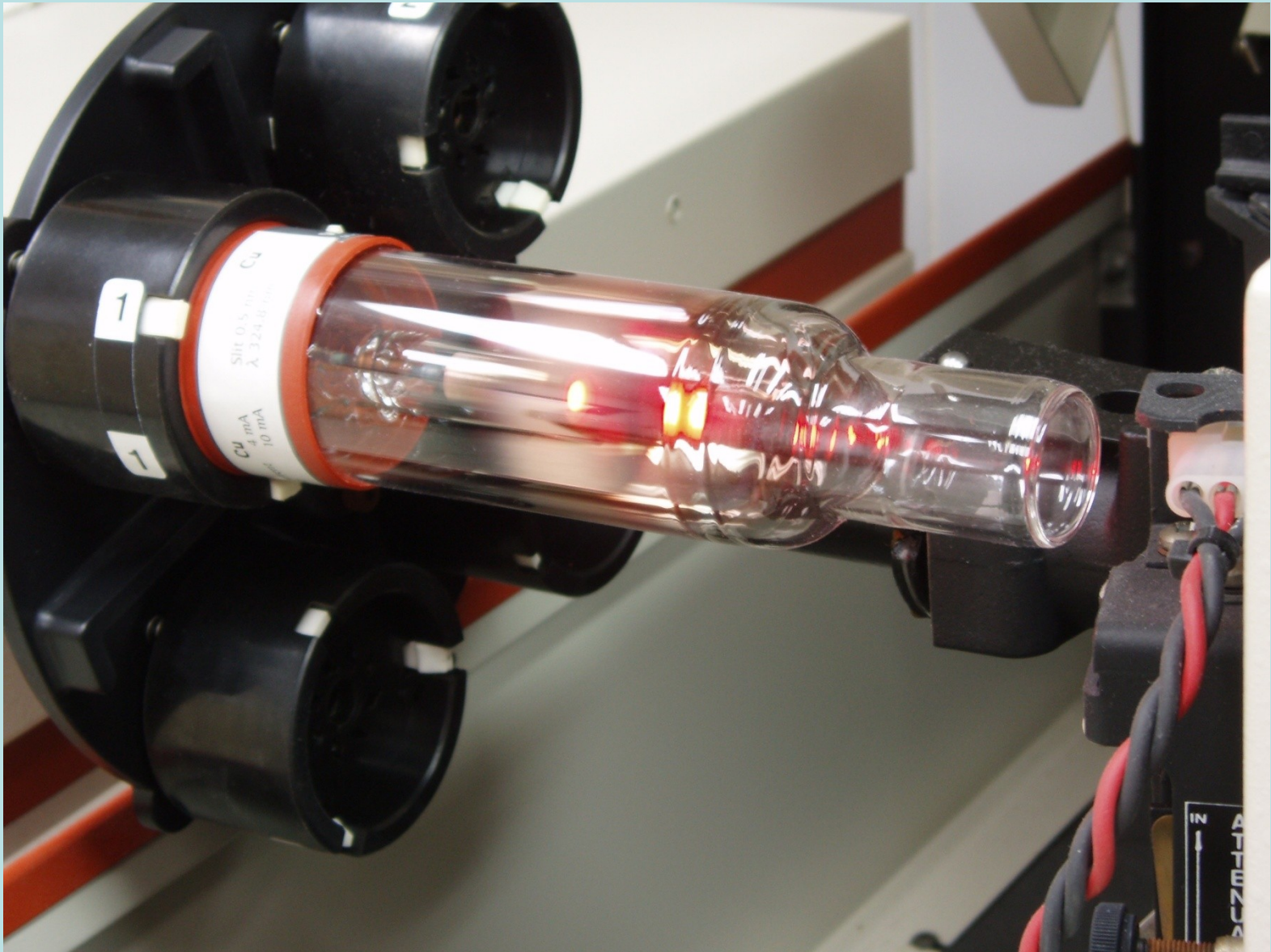
superlampy.

Jako velmi perspektivní zdroj se ukazují

laserové diody

Xenonové výbojky ve spojení s vysokorozlišovacím optickým systémem
(Echelle monochromátor)



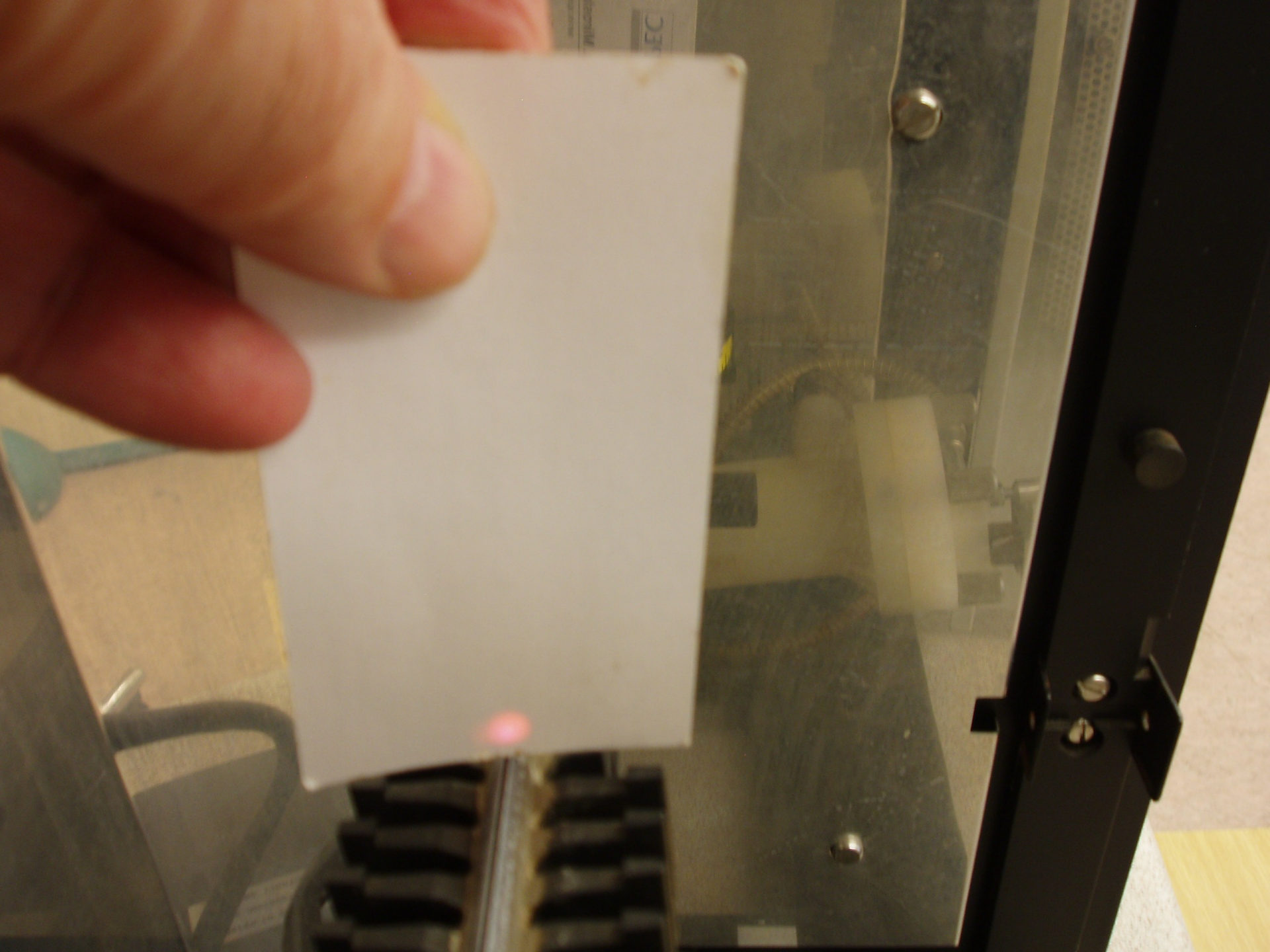


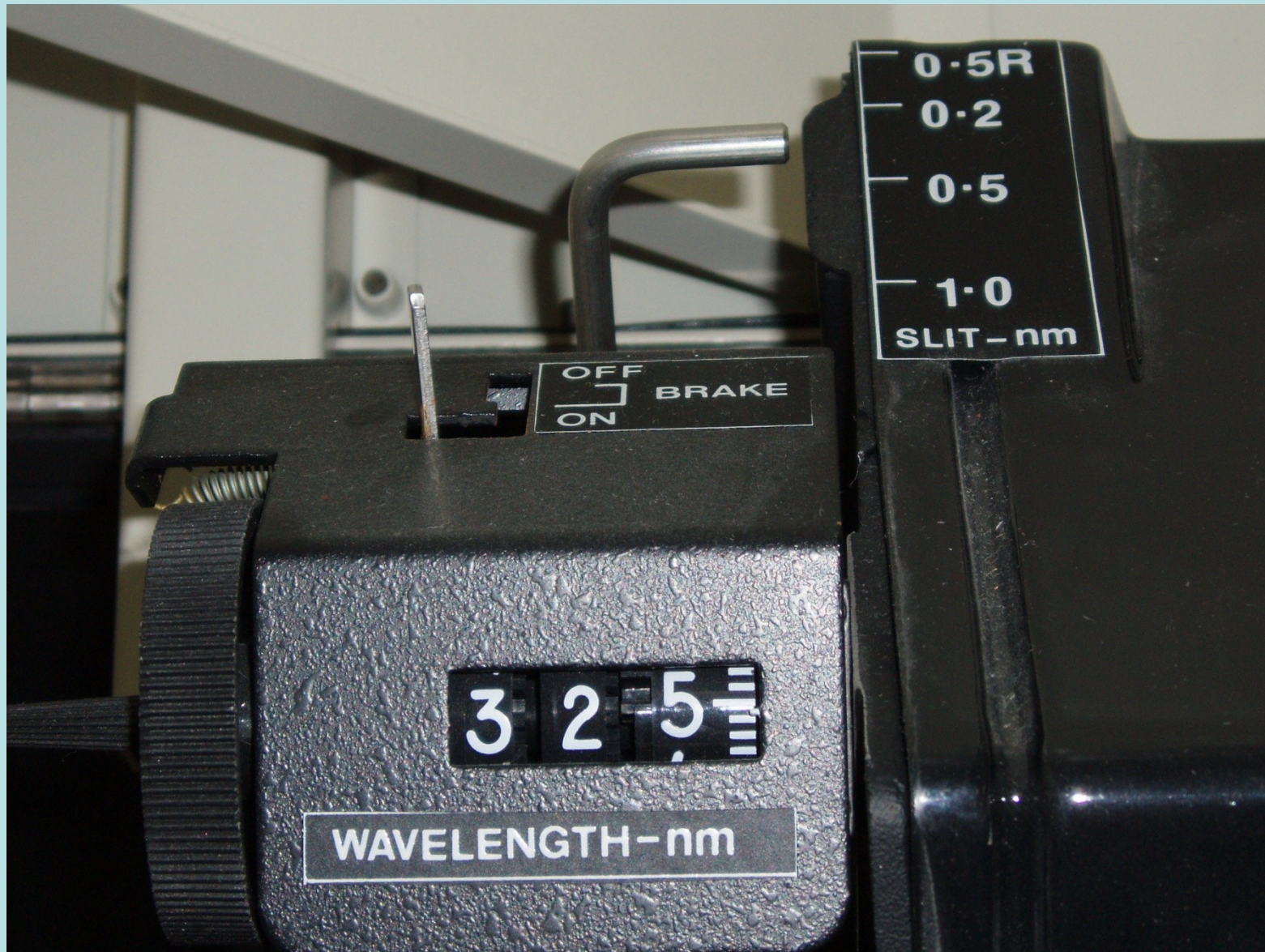
LAMP CURRENT



O₂ LAMP
H. HIGH
L. LOW







OFF
BRAKE
ON

0.5R
0.2
0.5
1.0
SLIT-nm

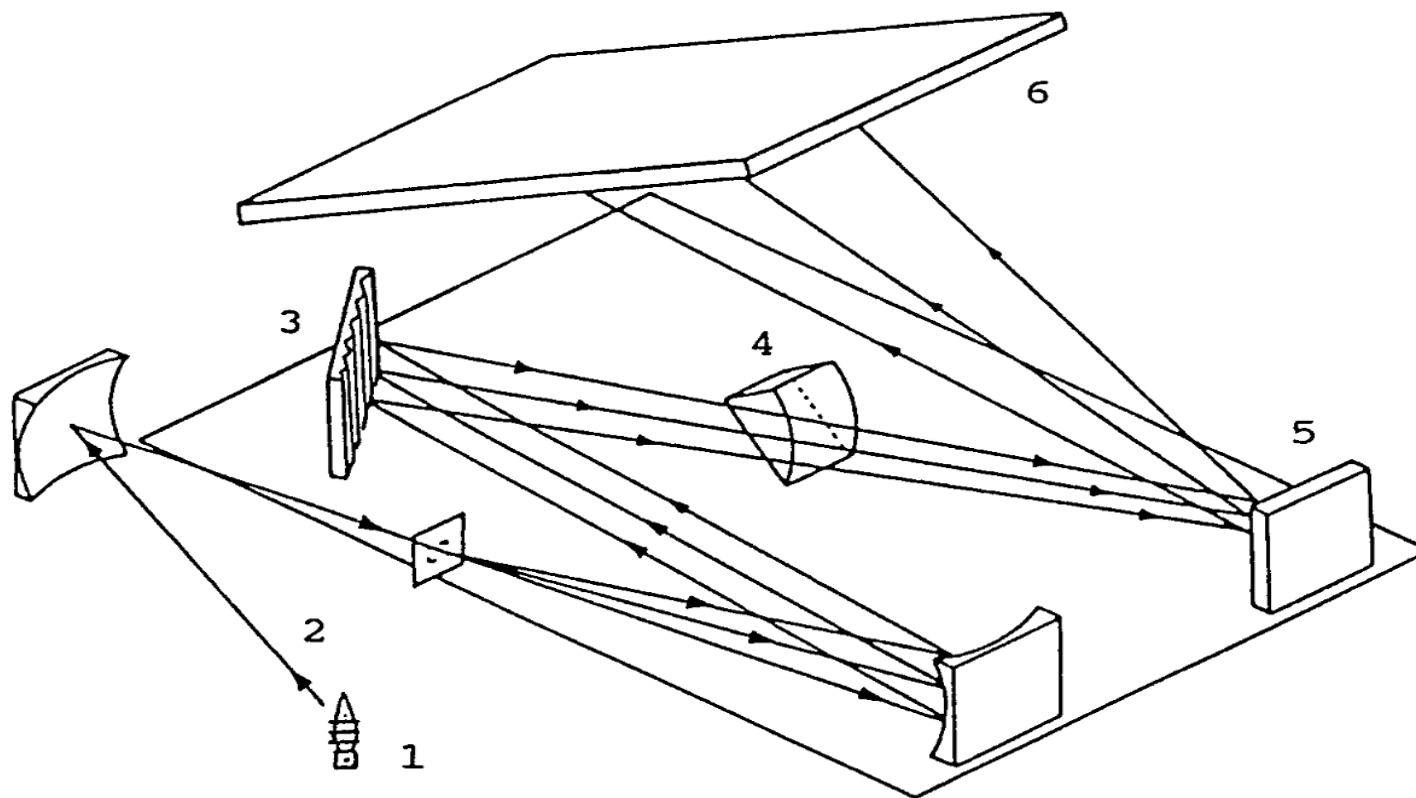
3 2 5

WAVELENGTH-nm

Echelle monochromátor

Reflexní difrakční mřížka + Optický hranol

110 Optická emisní spektroskopie



Obr. 87 Optický systém spektrometru f. Unicam PU 7000

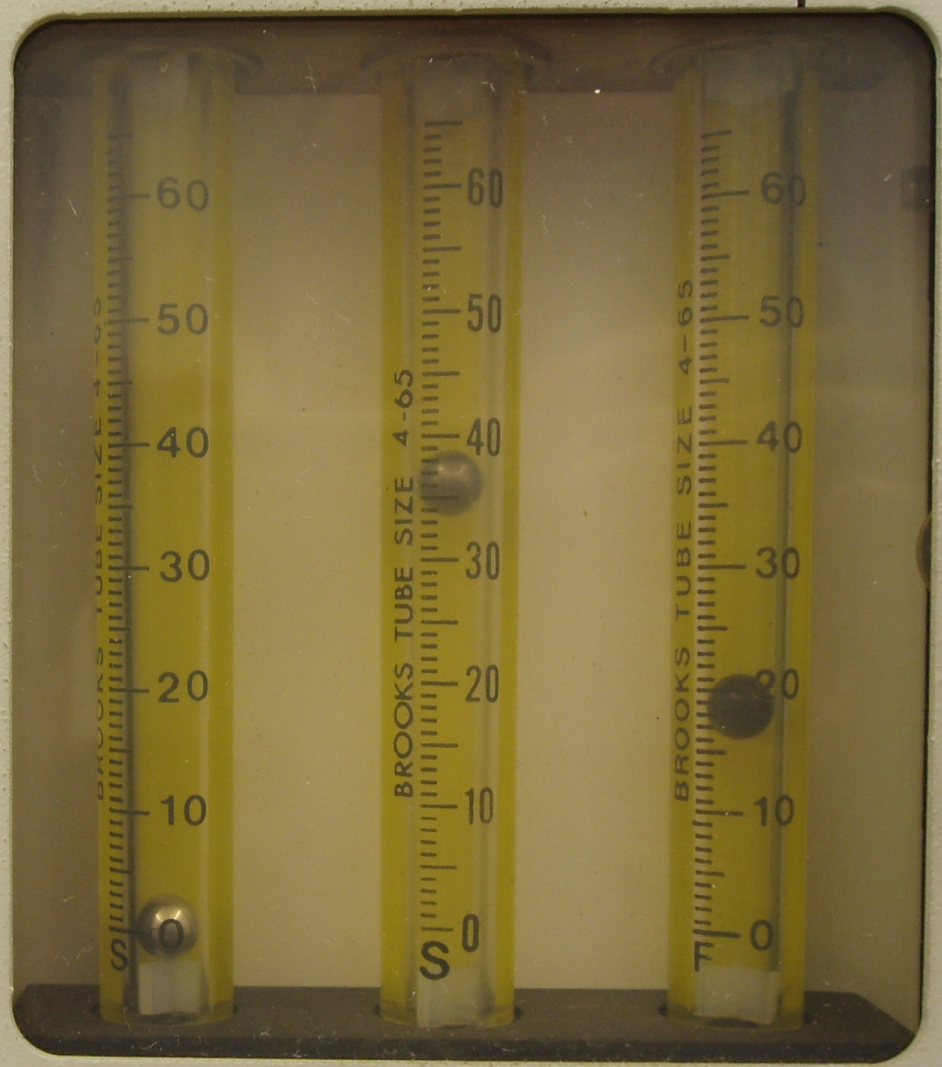
1 - ICP plazma, 2 - vstupní štěrba, 3 - echelle mřížka, 4 - prismatický hranol, 5 - rovinné zrcadlo,

P l y n y

acetylén

vzduch

oxid dusný (N_2O)

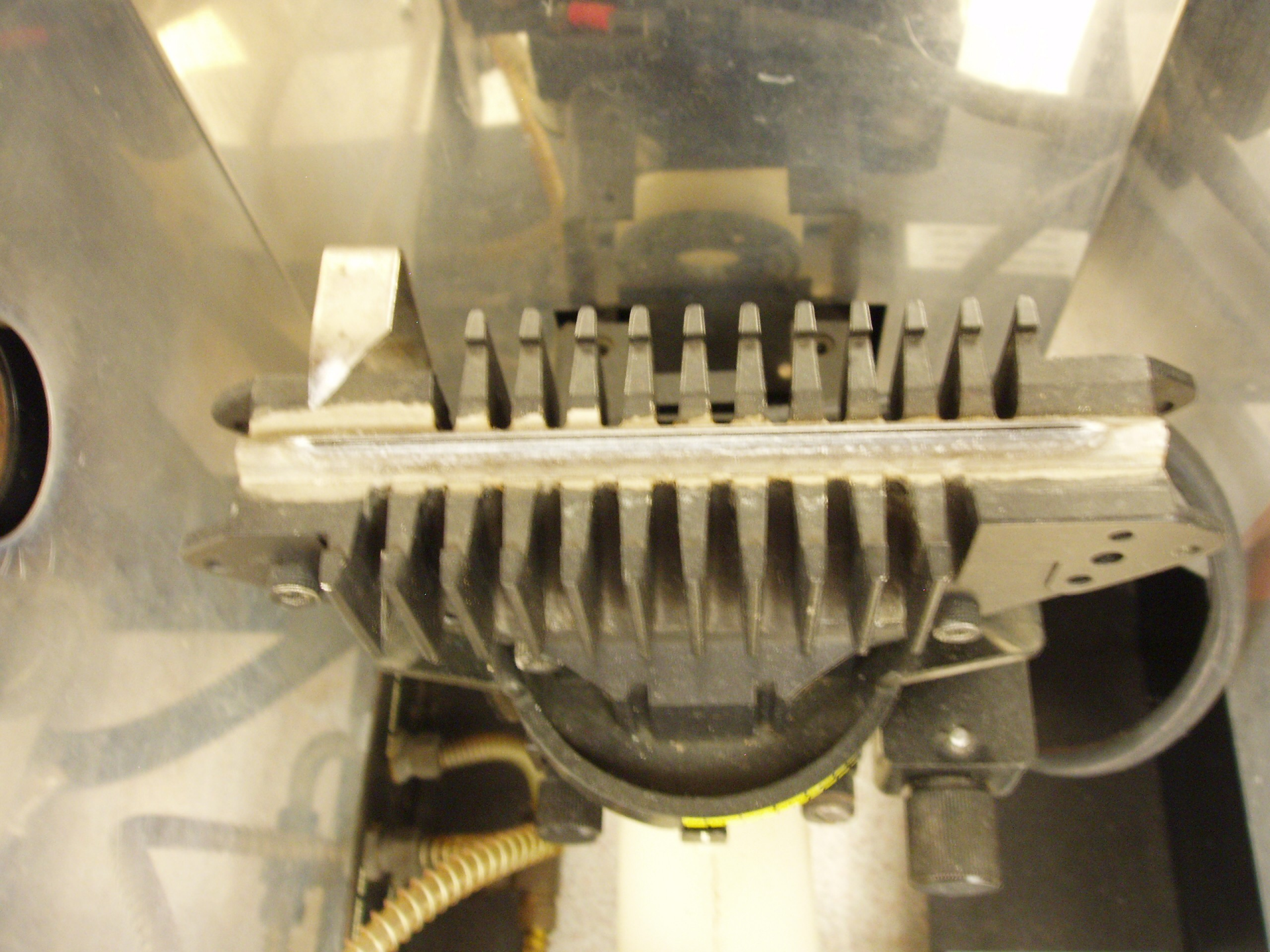


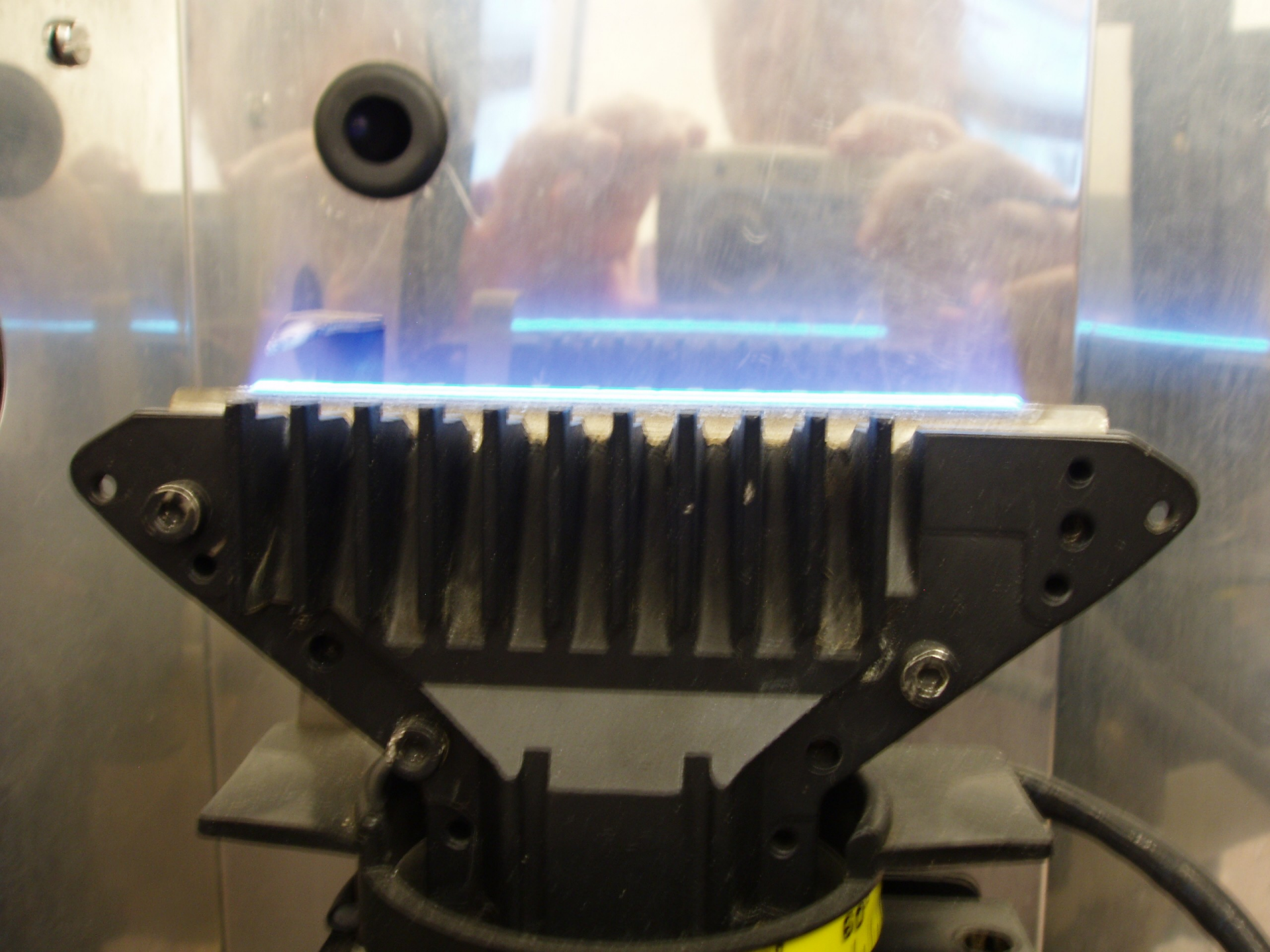
AUX SUPPORT GAS

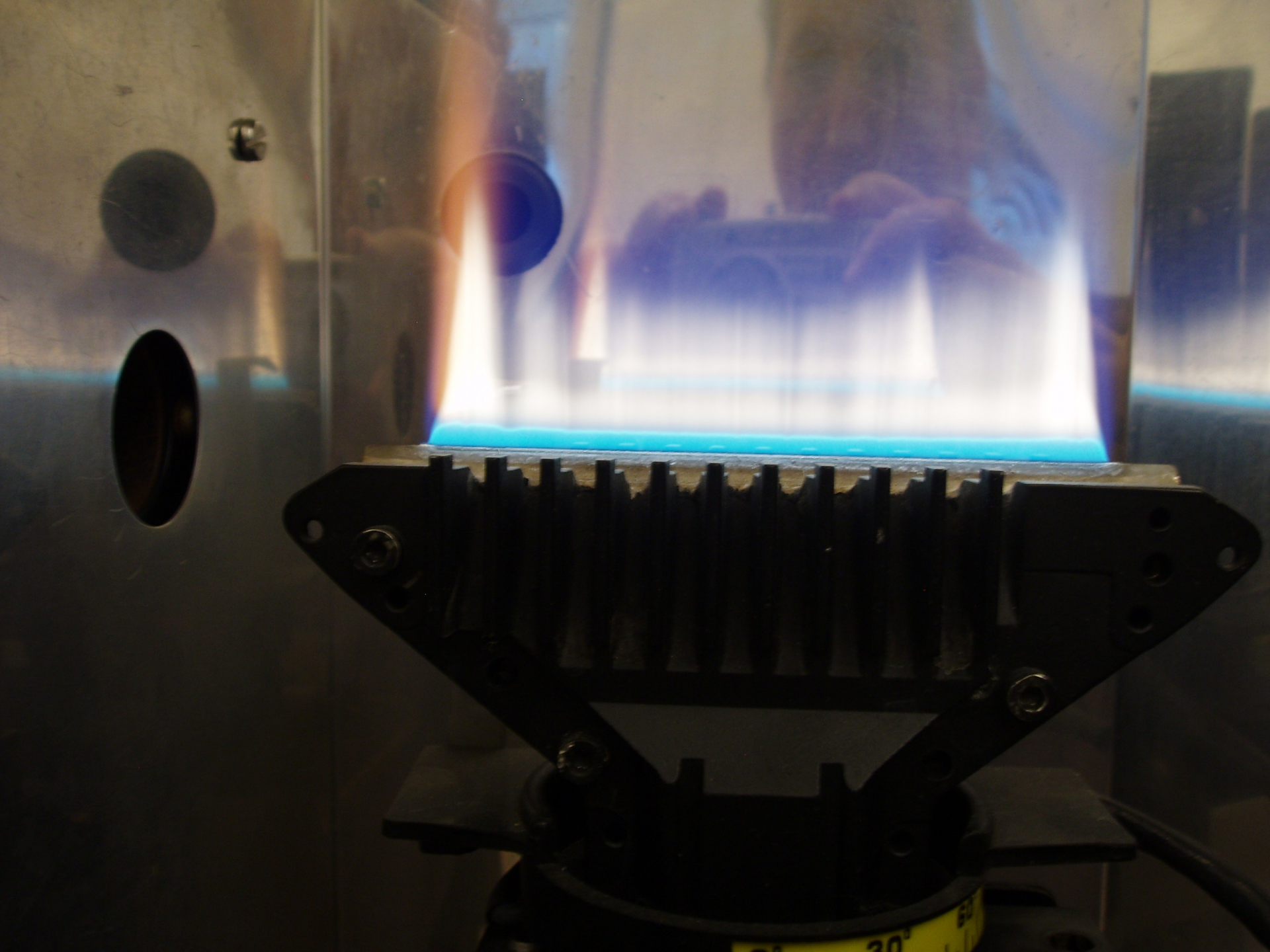
SUPPORT GAS



SEEK TO SECTION 4.3.3 OF THE INSTRUCTION MANUAL BEFORE LIGHTING FLAME

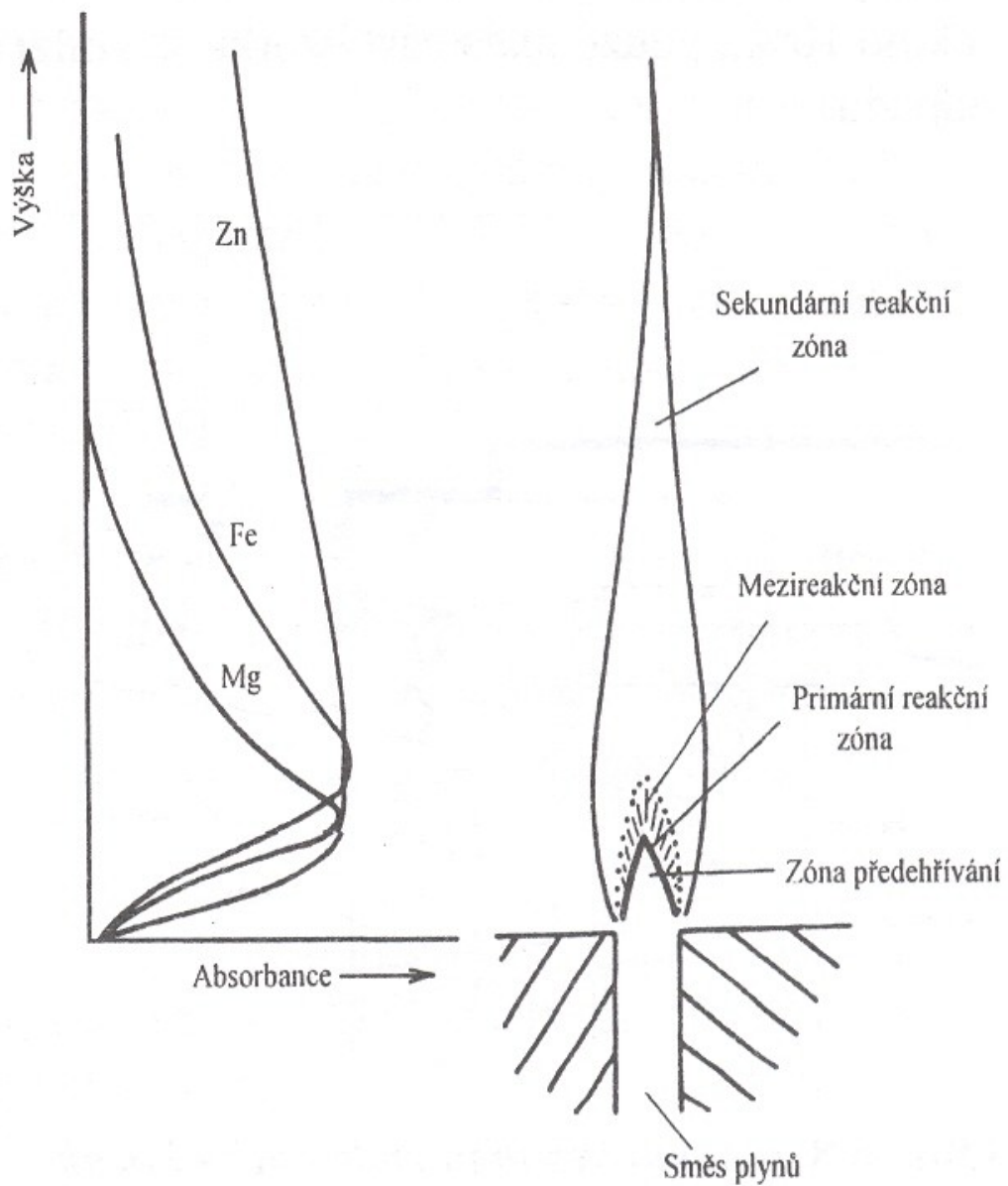








Stechiometrie plamene







0.41	1.00	1.43	1.86	2.29
0.81	1.60	2.86	4.12	5.38
1.21	2.40	4.28	5.54	6.80



WARNING
Strong magnetic field
Do not touch
AVERTISSEMENT
Champs magnétiques
Importants. Ne pas toucher

SOLAR
v.o. GE602093

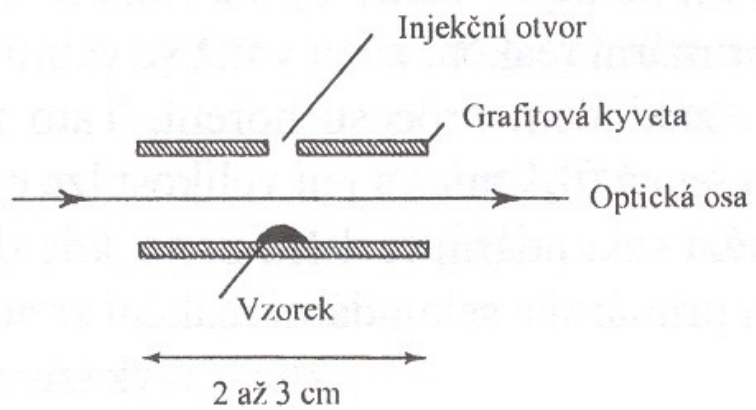
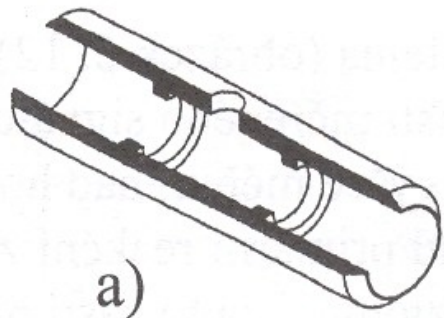
AA SPECTROMETER

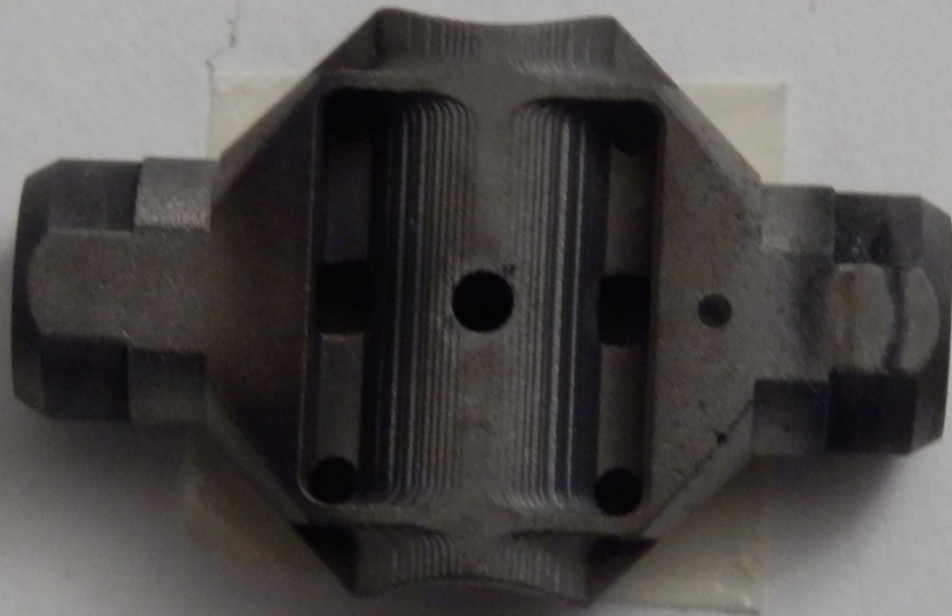
Thermo Elemental
Type: GE602093
Serial: 10000000000000000000
Date of Manufacture: 01/01/00
Date of Purchase: 01/01/00

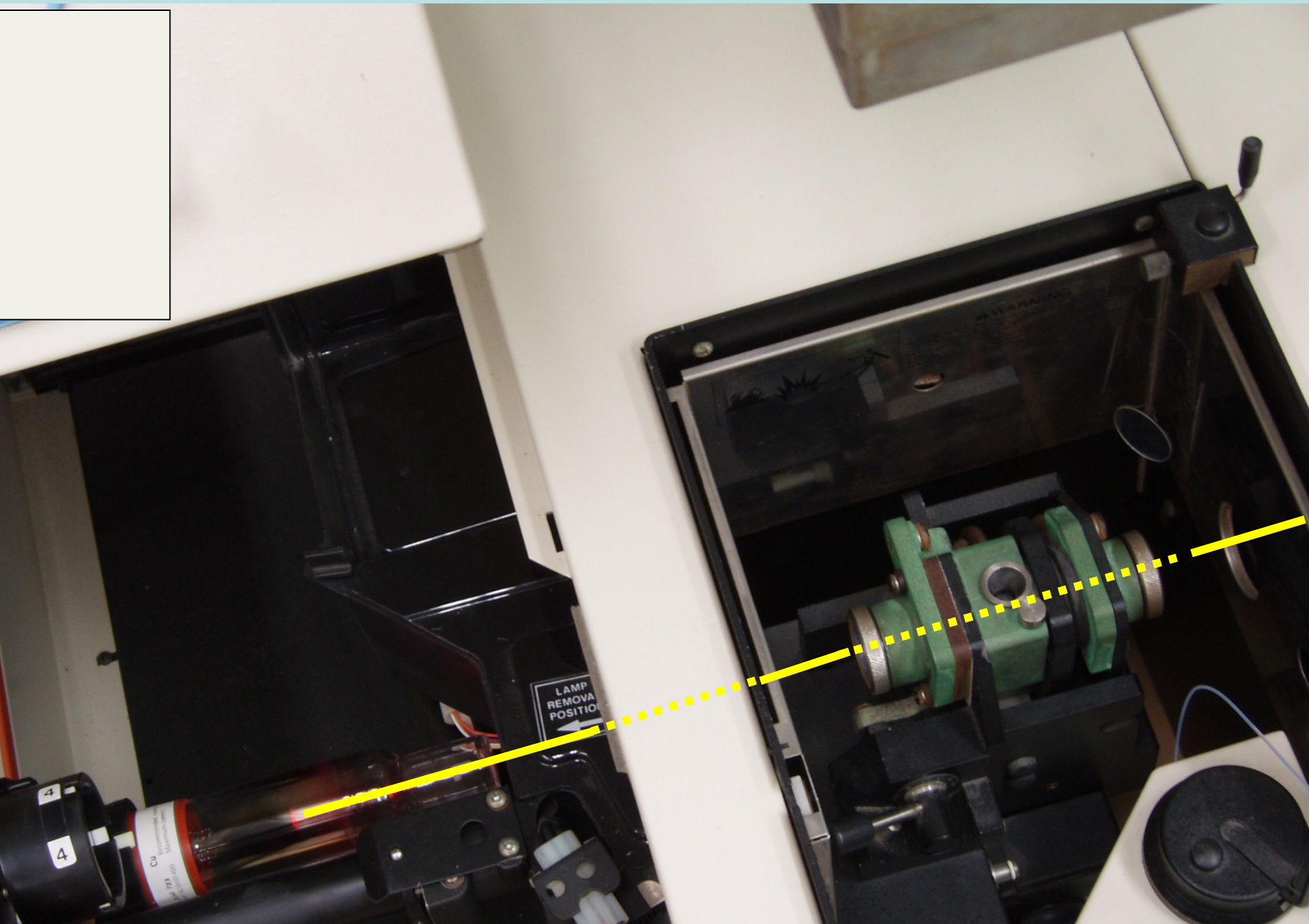
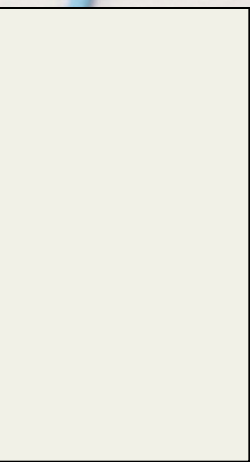
Elektrotermická technika

atomizace teplotou elektrické energie
(grafitová kyveta)









LAMP
REMOVA
POSITIO
←

4

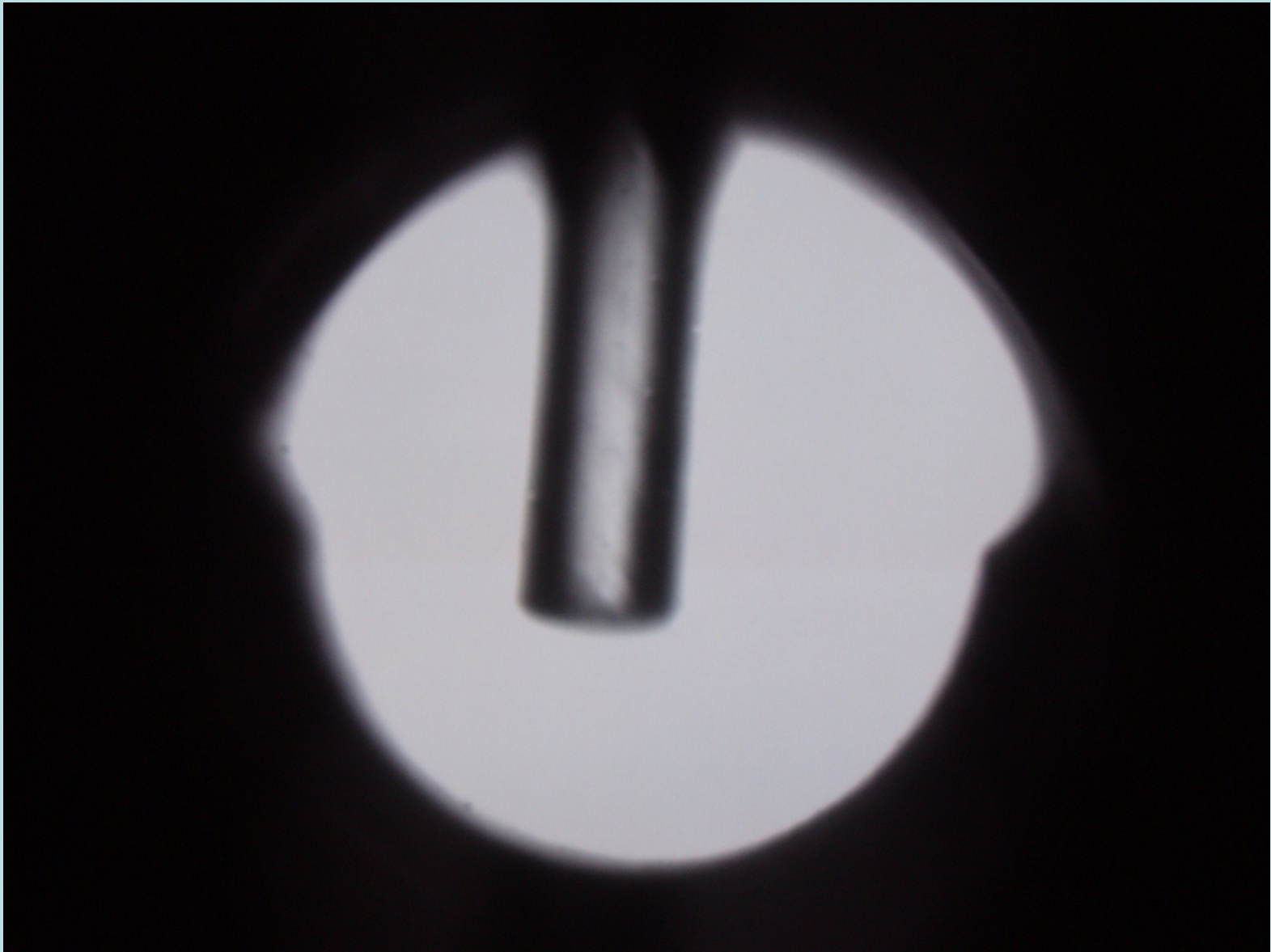
4

CU
713



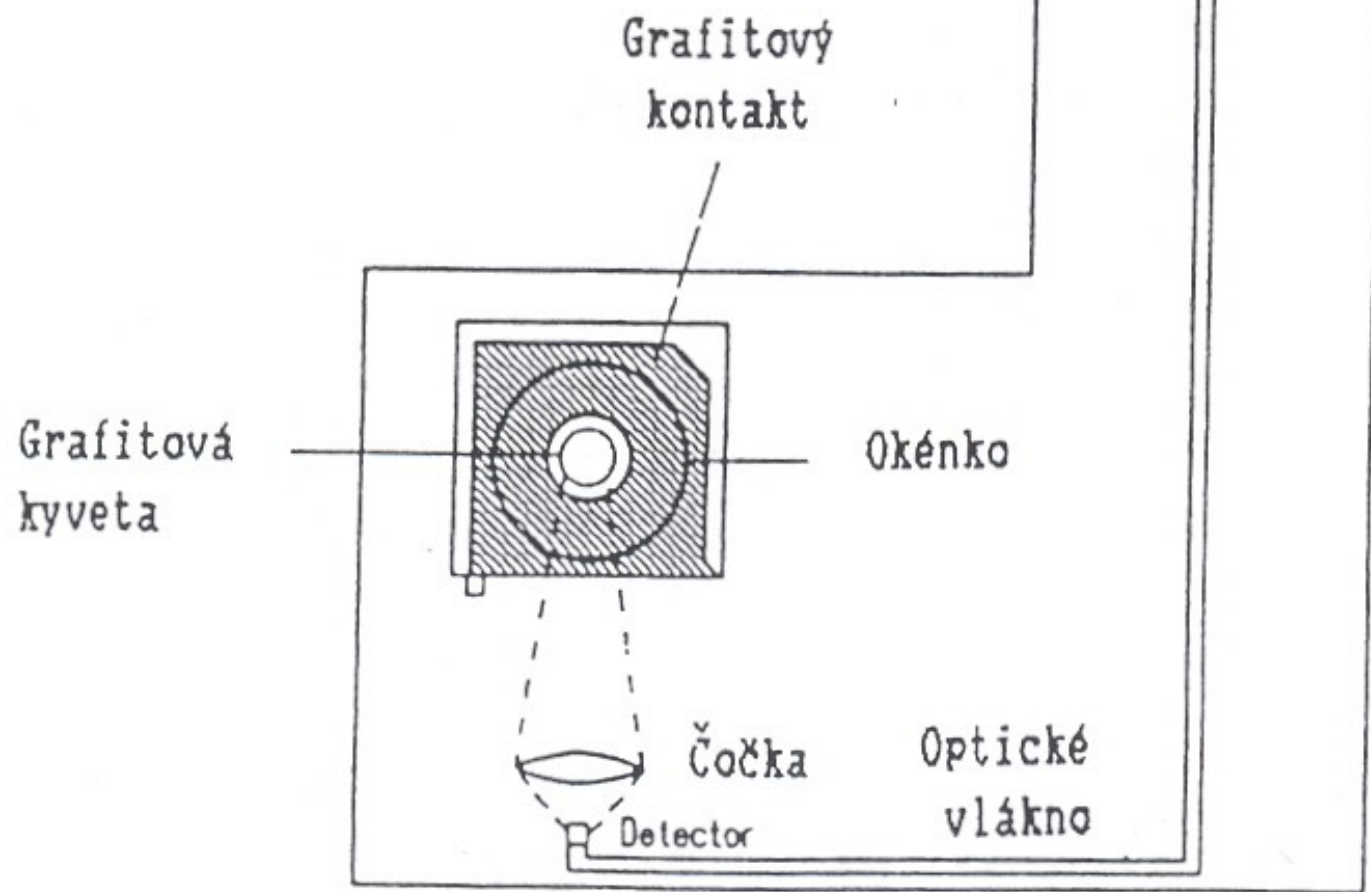
Přídavná zařízení grafitové kyvety

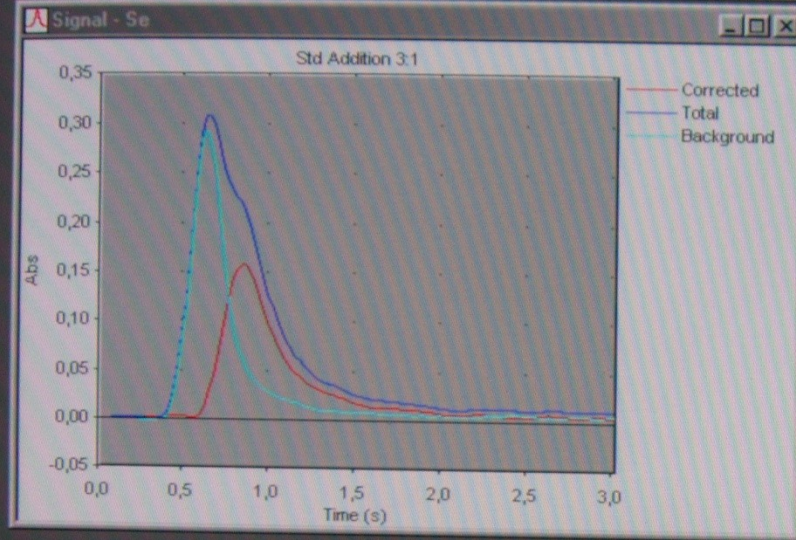
- Mikrokamera
- Přívod inertního plynu (argon)
- Pyrometr (křemíková fotodioda)
- Chladicí blok





K detektoru do
desky pro zdroje





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



Spectromet

Flame Status

QC Protocol

Calibration

For Help, press F1

Start

SOLAAR AA System

PCTV Vision - VCR

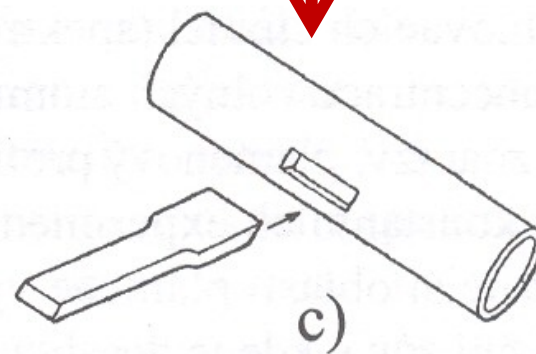
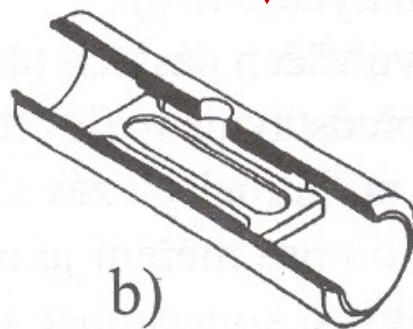
Se

ON

Teplotní režim grafitové kyvety

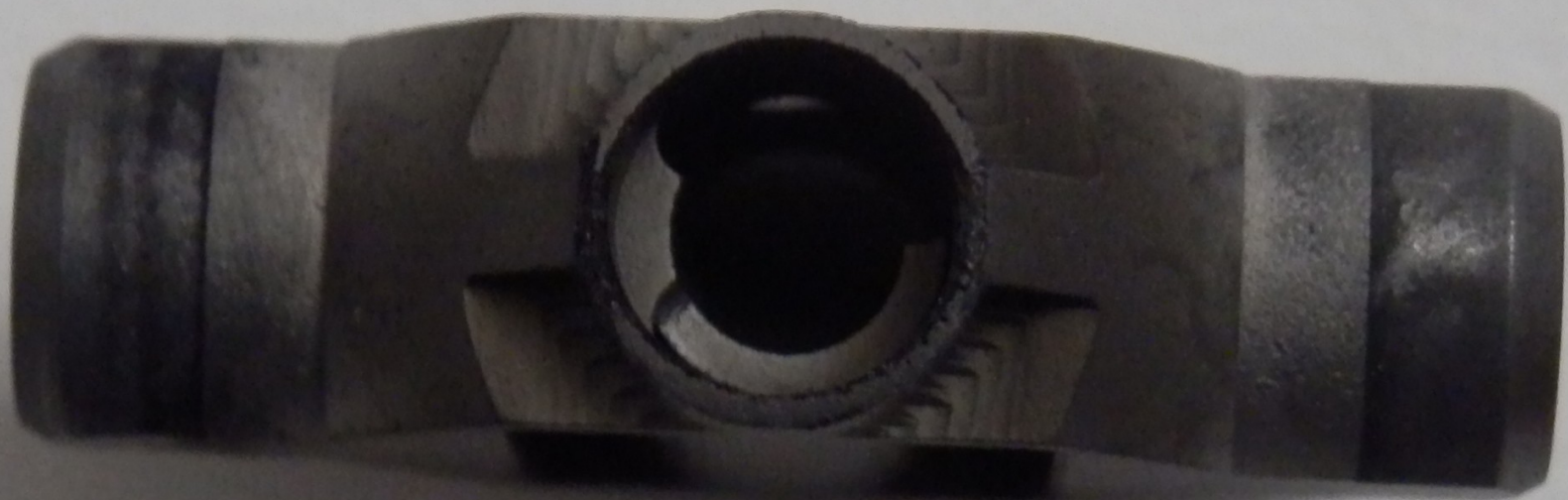
Fáze		teplota [°C]	čas [s]	rampa [°C/s]	inert.plyn průtok [l/min]
sušení	1	95	45	10	0,2
	2	110	20	5	0,2
	3	130	15	10	0,2
mineralizace	4	1100	20	150	0,2
atomizace	5	2300	3	0	0
vypálení kyvety	6	2700	3	0	0,2

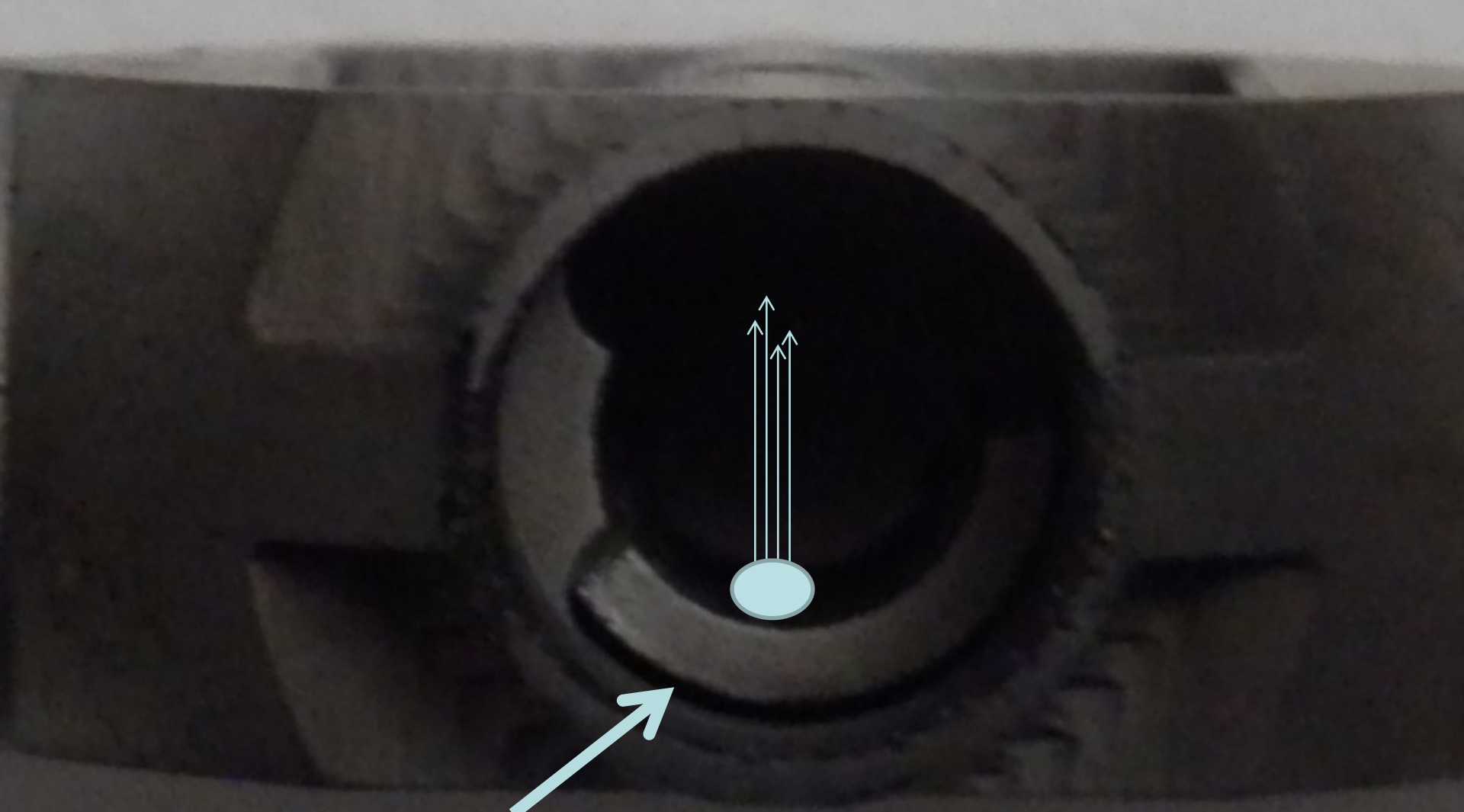
Izotermická atomizace



Lvovská platforma







Lvovská platforma

Korekce pozadí při A A S

Deuteriová lampa

Zeemanův princip

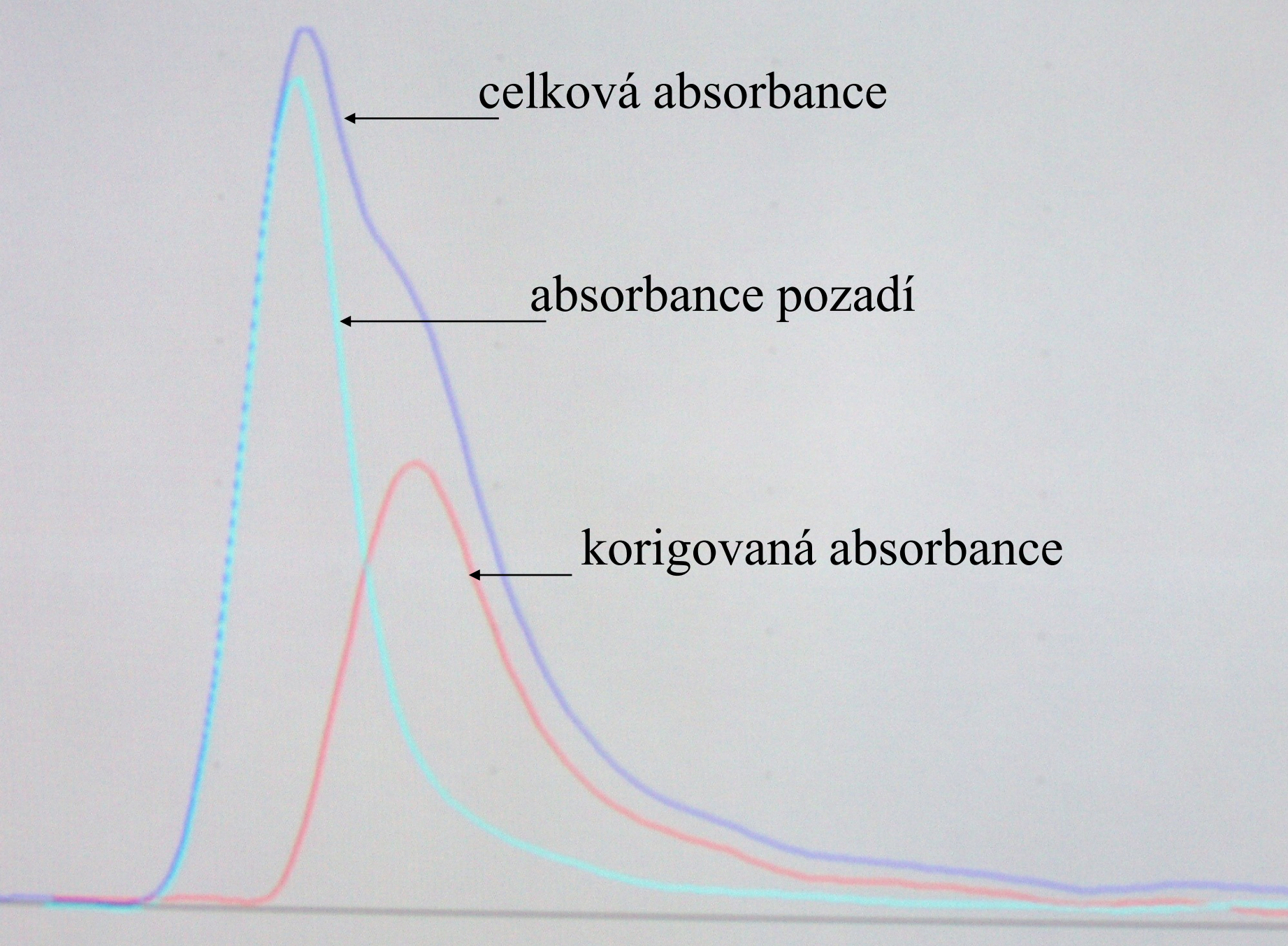
Smith - Hieftje

Korekce pozadí pomocí zdroje kontinuálního záření (**deuteriová lampa**)

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.



celková absorbance

absorbance pozadí

korigovaná absorbance

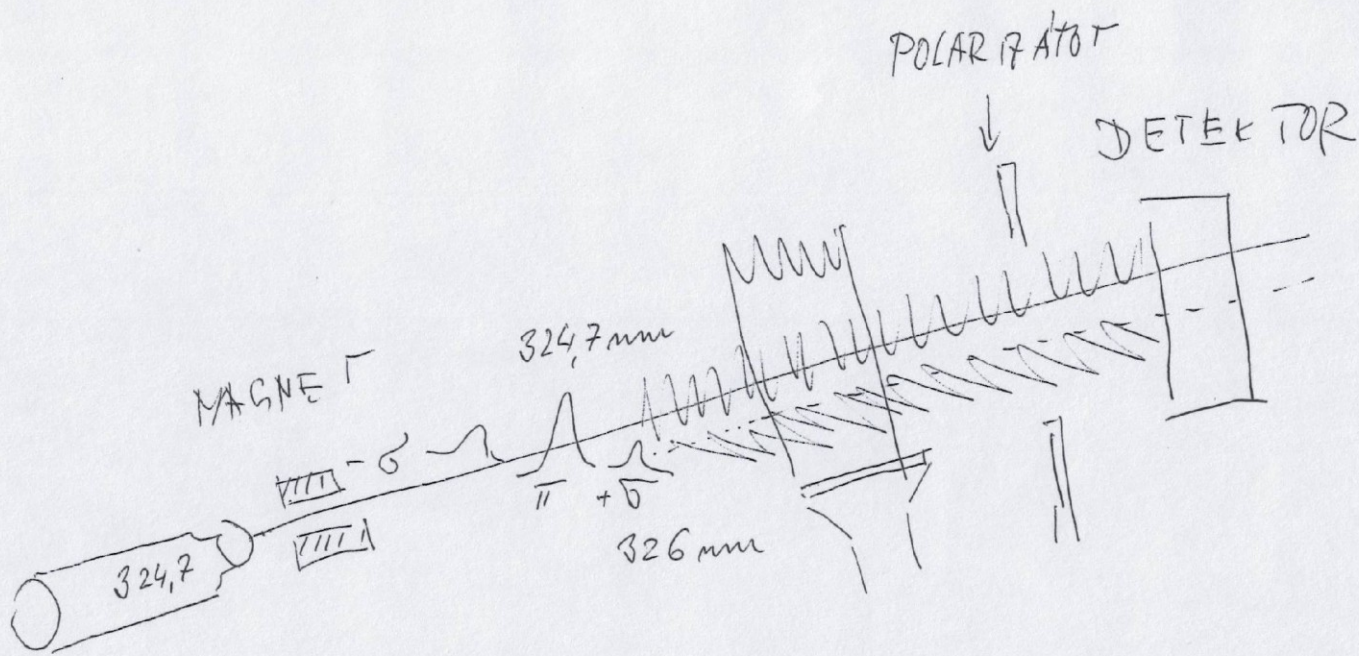
Zeemanova korekce pozadí

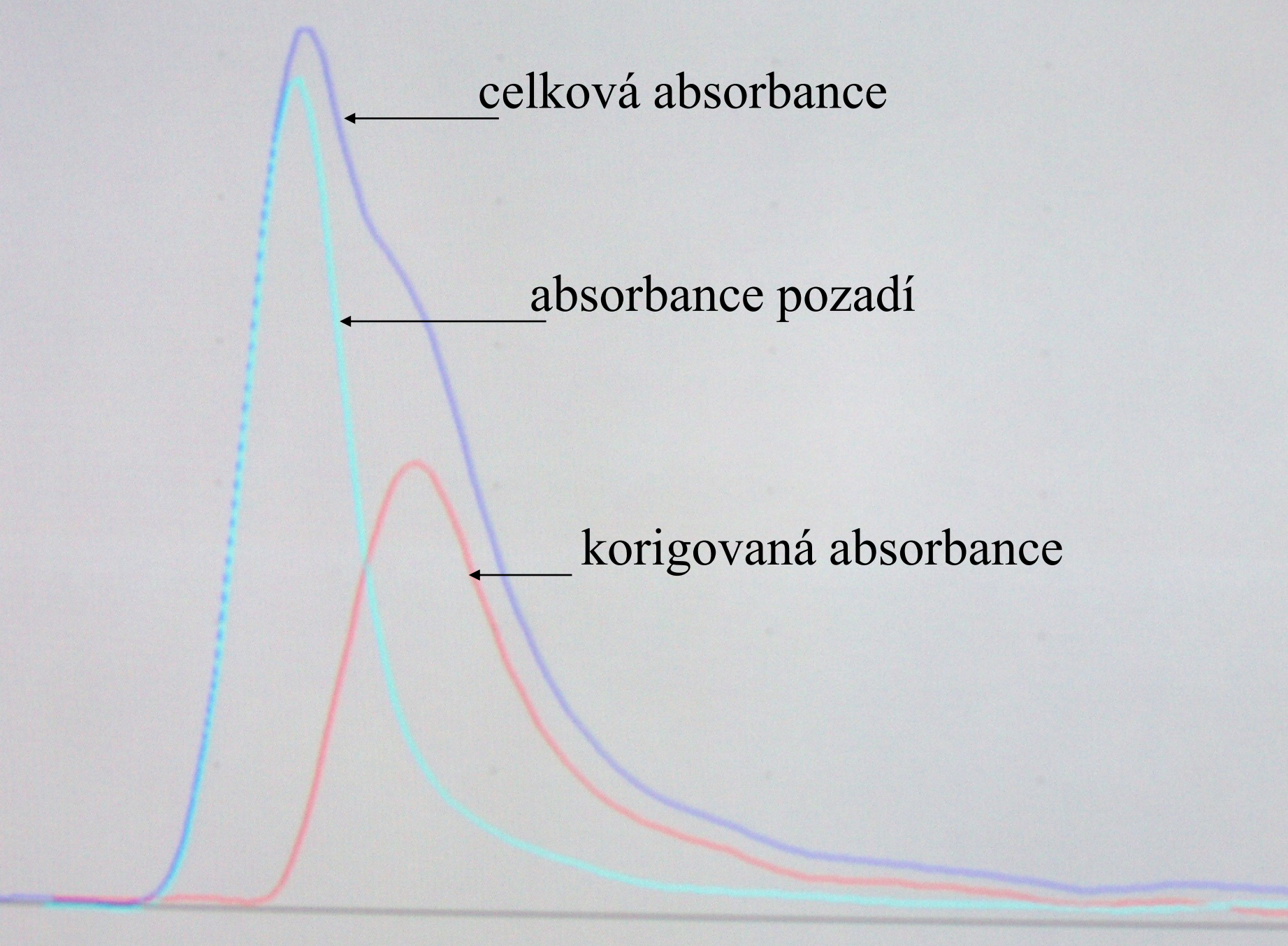
Silné magnetické pole působí částečné rozštěpení a posun vlnové délky paprsku vycházejícího z výbojky s dutou katodou

Původní vlnová délka zaznamenává specifickou i nespecifickou absorpci pozadí

Odštěpená vlnová délka zaznamenává pouze nespecifickou absorpci pozadí

Rozdíl mezi těmito dvěma hodnotami absorpce poskytuje „čistou, specifickou“ absorpci působenou atomy stanovovaného prvku bez absorpce pozadí.



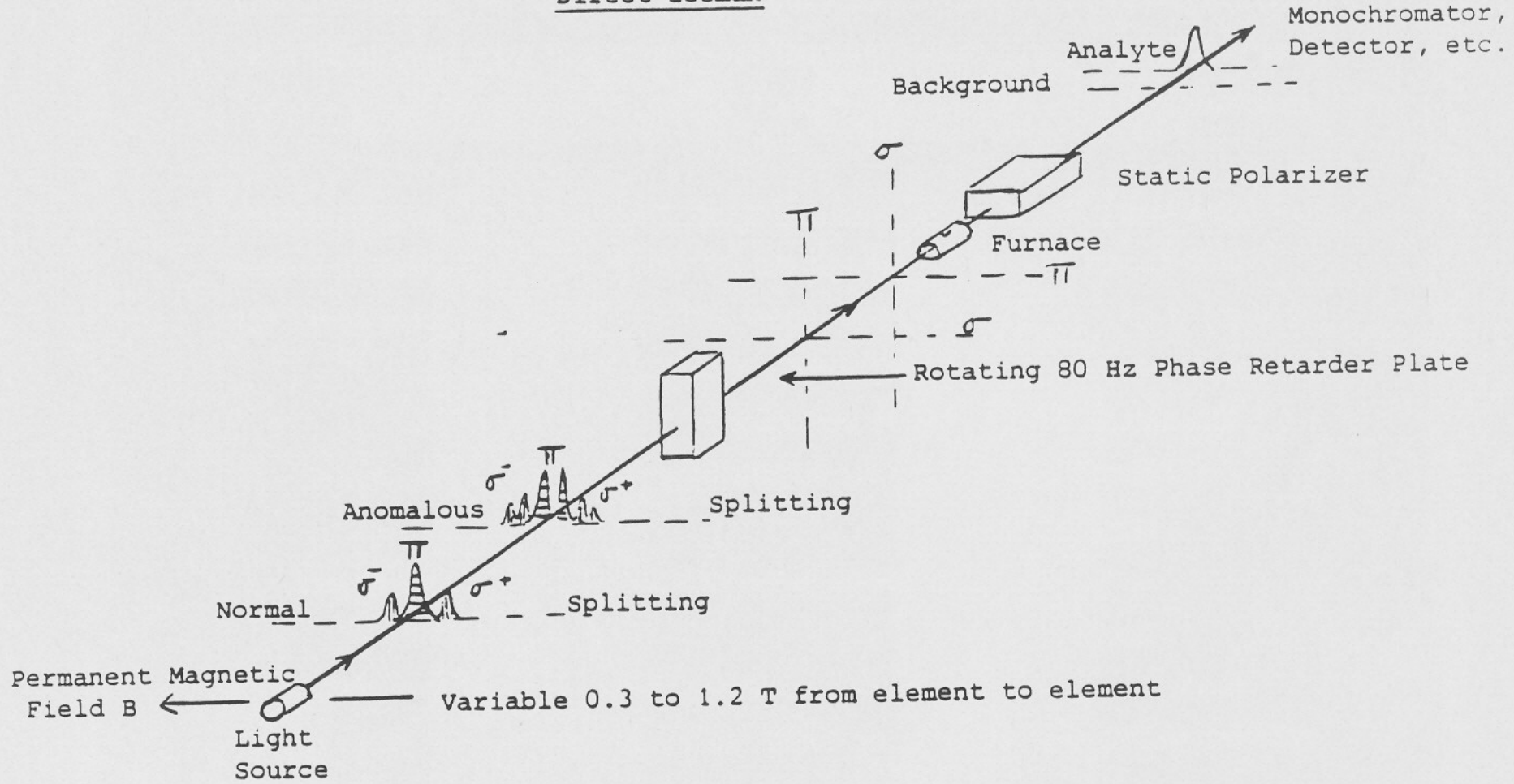


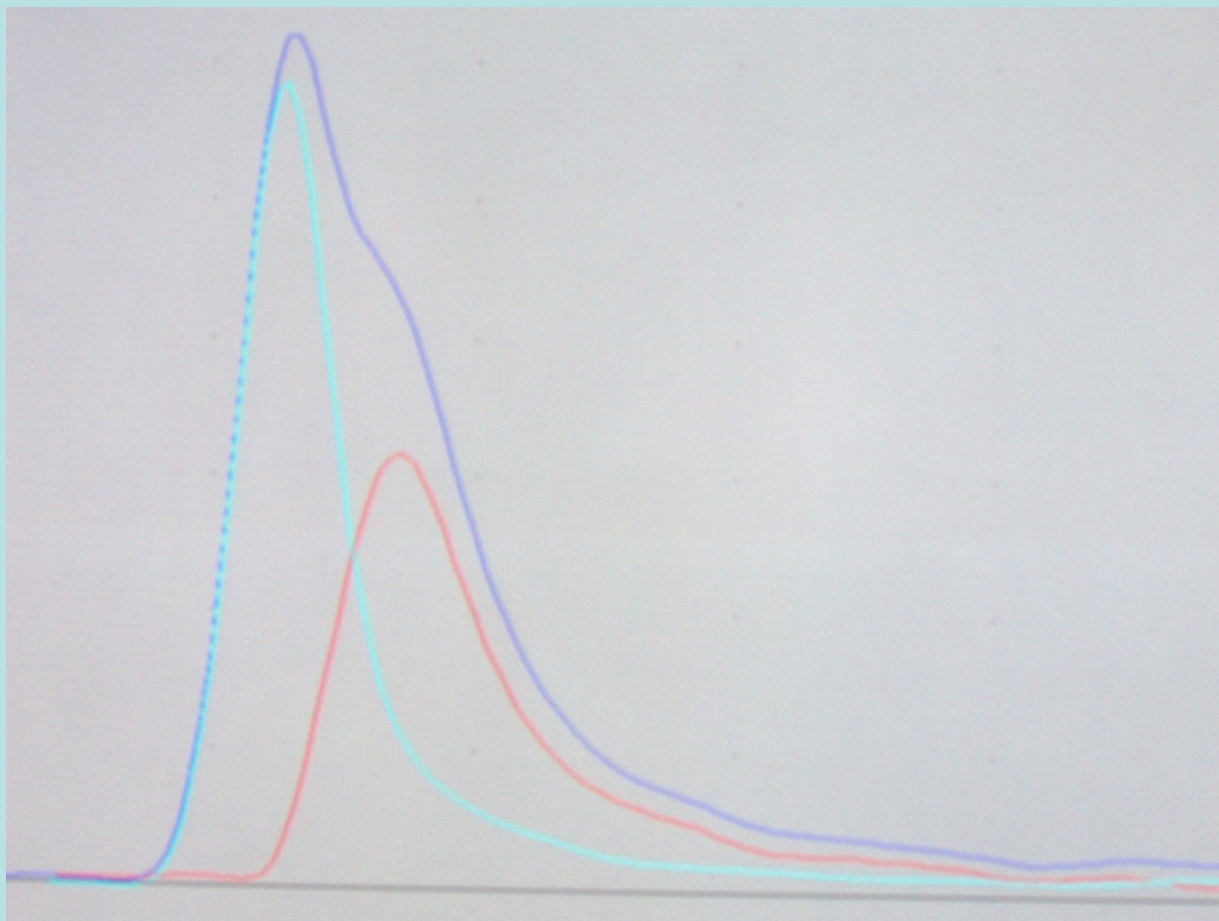
celková absorbance

absorbance pozadí

korigovaná absorbance

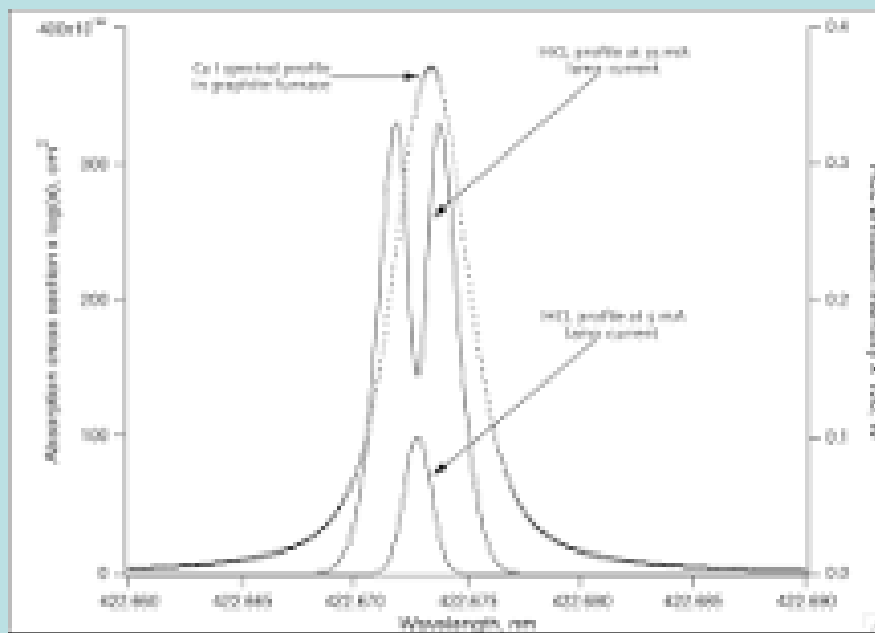
Direct Zeeman





System

Smith – Hieftje
[hívče]



ICP

Inductively **C**oupled **P**lasma

(Indukčně vázané plazma)

(ta)...to plazma...

Skupenství

pevné

kapalné

plynné

plazma

pevně vázané

molekuly
volně vázané

volné

atomy
rozdělené
jádra⁺ elektrony⁻

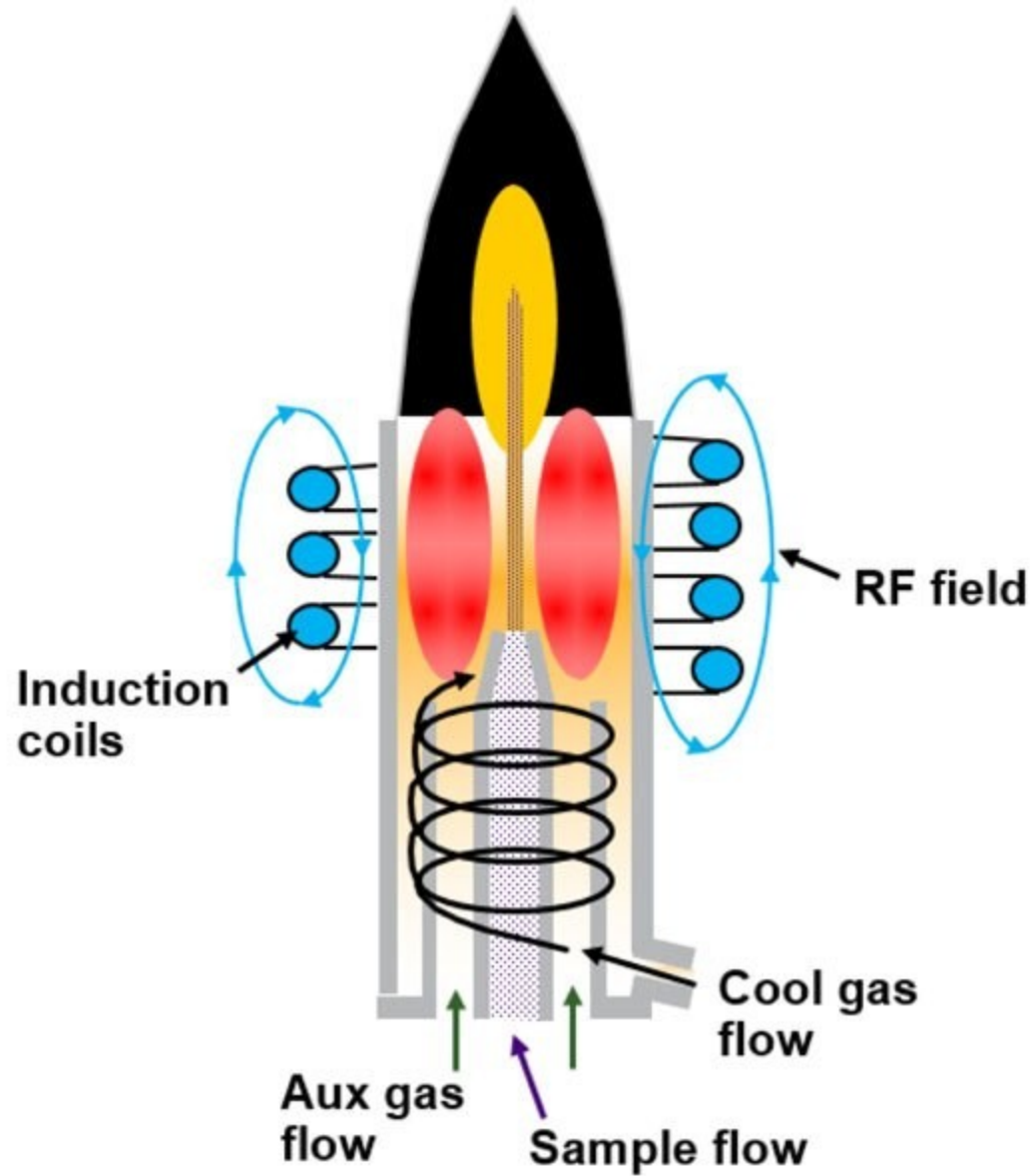
Při proudění Argonu hořákem působí vysokonapěťový výboj (jiskra), který ionizuje část atomů argonu za vzniku jader a elektronů (**ionizace**).

RF generátor dodává energii do indukční cívky a vytváří vysokofrekvenční střídavý proud, který indukuje elektromagnetické pole v hořáku.

Jádra a elektrony Argonu v hořáku jsou ovlivněny elektromagnetickým polem a jsou urychlovány a srážejí se s dalšími atomy argonu.vzniká argonové plazma

**Pohyb elektronů a iontů v „hořáku“ vytváří obrovské množství tepla
5000 - 10.000° C**

atomizace a excitace atomů



ICP - OES

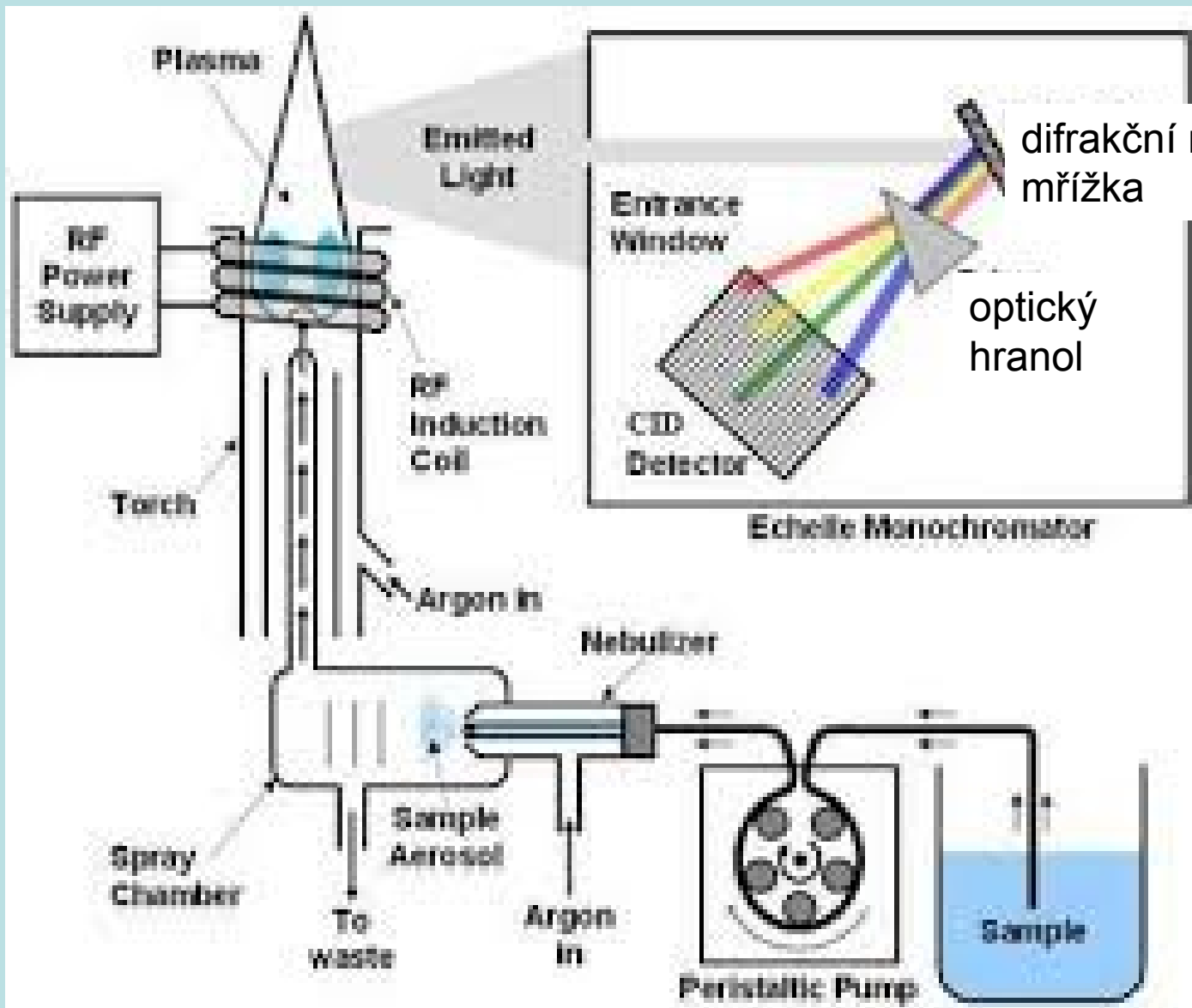
Inductively
Coupled
Plasma

Optical
Emission
Spectrometry

ICP - MS

Inductively
Coupled
Plasma

Mass
Spectrometry



difrakční reflexní mřížka

optický hranol

Echelle Monochromator