

**Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou
atomizací**

pracovní text pro Podzemní výukové středisko JOSEF

Oto Mestek



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

2010

Obecné základy

Atomová absorpční spektrometrie (zkratka *AAS*) je spektrometrická analytická metoda sloužící ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném roztoku. Metodou lze analyzovat přes 60 prvků periodické tabulky s citlivostí od tisícín do stovek mg/l. Metoda sleduje úbytek záření primárního zdroje absorbovaný volnými atomy. Mírou zeslabení záření je veličina absorbance definovaná jako logaritmus podílu světelného toku vstupujícího do absorpčního prostředí (Φ_0) a světelného toku vystupujícího ($\Phi = \Phi_0 - \Phi_{abs}$):

$$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi_0 - \Phi_{abs}}$$

Absorbance je mírou koncentrace atomů sledovaného prvku v absorpčním prostředí:

$$A = \varepsilon \cdot N \cdot b$$

Kde ε je tzv. atomový absorpční koeficient [m^2], N je koncentrace volných atomů sledovaného prvku v absorpčním prostředí [m^{-3}], a b je délka absorpční dráhy paprsku [m].

Při absorpci záření atomy se excitují energetické stavy valenčních elektronů atomů. Protože energetické rozdíly mezi excitovanými a základními elektronů jsou charakteristické pro jednotlivé prvky, lze volbou vlnové délky selektivně stanovovat jednotlivé prvky. Typickým zdrojem primárního záření je výbojka s dutou katodou (viz obrázek). Katoda je vyrobena z prvku, který má být analyzován, a výbojka proto vyzářuje pouze to záření, které je následně vzorkem absorbováno.



K atomizaci vzorku slouží buďto plamen nebo elektrotermický atomizátor. Ten je tvořen dutým grafitovým válečkem o délce 30 – 50 mm a vnitřním průměru kolem 5 mm (viz obrázek). V polovině délky válečku je malý otvor, který slouží pro dávkování vzorku do atomizátoru a odvod inertního plynu (argon nebo dusík), který během analýzy protéká jak vnitřkem, tak vně okolo atomizátoru a chrání ho před vzdušným kyslíkem



Ohřev atomizátoru, nutný pro odpaření a atomizaci vzorku, je realizován průchodem elektrického proudu. Záření vybojky s dutou katodou prochází podélnou osou atomizátoru a měření rozdílu intenzity záření probíhají před atomizací vzorku a v intervalu, kdy jsou atomy analyzovaného prvku odpařeny vysoko teplotou do vnitřního prostoru atomizátoru.

Časový průběh teploty atomizátoru se skládá z několika kroků:

- sušení: odpaří se rozpouštědlo (obvykle voda a anorganické kyseliny) a teplota je zde volena tak, aby nedošlo k varu a analyzovaný materiál nebyl rozptýlen po stěnách atomizátoru.
- pyrolýza: je odstraňována matrice vzorku. Pro zajištění lepšího oddělení analyzovaného prvku od matrice vzorku se často do atomizátoru ke vzorku přidává tzv. modifikátor matrice. Nejobvyklejšími modifikátory matrice jsou chlorid palladnatý, dusičnan hořečnatý nebo fosforečnan amonný.
- atomizace: dochází k atomizaci analyzovaného prvku a měření absorpce světla jeho volnými atomy. V tomto kroku se zastavuje proud ochranné atmosféry, aby uvolněné atomy nebyly vyplachovány z měřeného prostoru. Výsledný signál má potom tvar píku a pro vyhodnocení obsahu prvku ve vzorku se měří buď jeho výška nebo plocha.
- čištění: slouží k vyčištění kyvety před dalším měřením a kyveta se při něm při maximálním průtoku argonu kyvetou na několik sekund zahřívá na teplotu vyšší než je teplota atomizace.

Návod laboratorní práce:

1 Uvedení přístroje do chodu

- zapne se spektrometr (zelené tlačítko vpravo na čelní straně přístroje),
- zapne se zdroj elektrotermického atomizátoru (vypínač je na zadní straně přístroje),
- zapněte počítač a obrazovku,
- spustí se program GBC Avanta,
- spustí se oběh chladicí vody (zařízení je umístěno pod stolem),
- otevřete ventil tlakové lahve N₂ nebo Ar

2 Hlavní prvky ovládání software

Software spektrometru je rozdělen do šesti modulů, mezi kterými se volí pomocí tlačítek umístěných na levé liště:

Method: parametry měření,

Samples: popis a umístění vzorků,

Analysis: nastavení výstupních souborů,

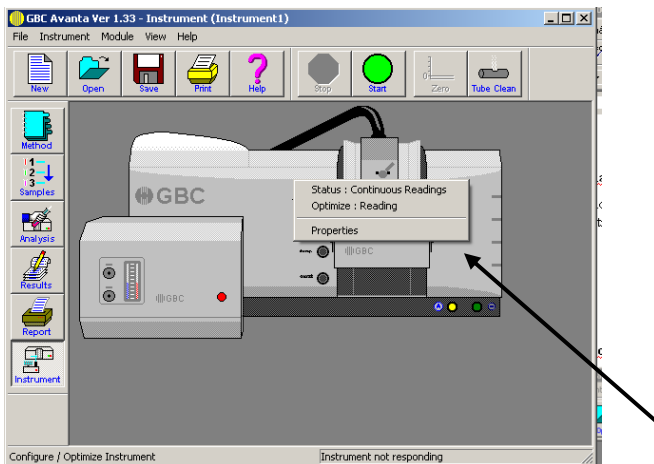
Results: zobrazení výsledků v tabulkové i grafické formě,

Instrument: hardwarové nastavení.



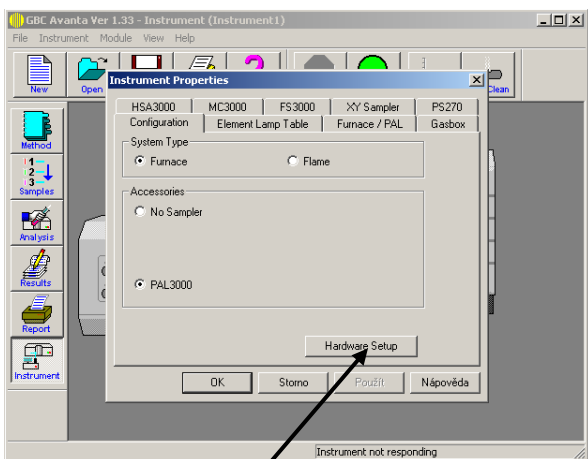
3 Ověření hardwarového nastavení

Zvolí se modul **Instrument**, pravým tlačítkem myši se klikne na obrázek atomového spektrometru a z nabídky se zvolí položka **Properties**:

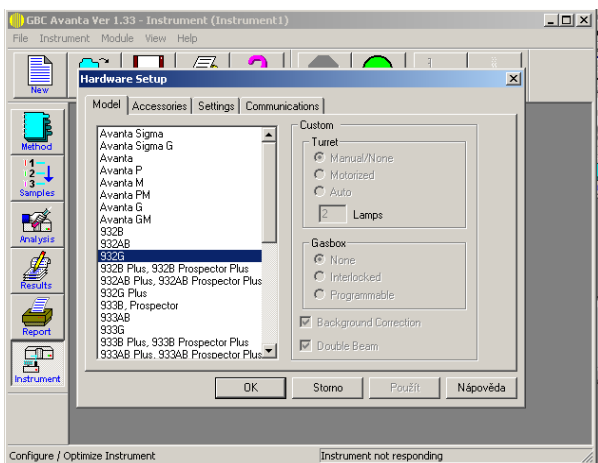


Záložka **Configuration**:

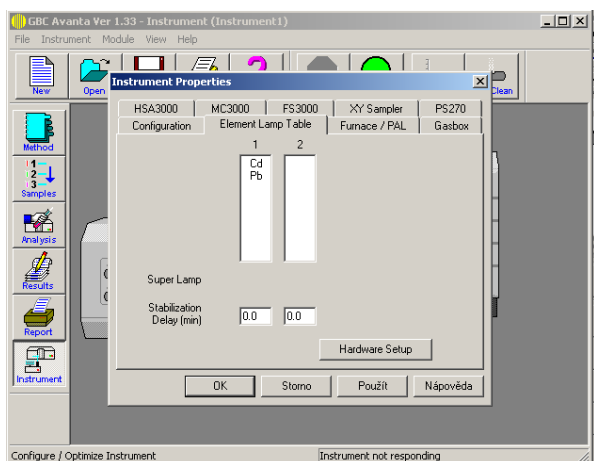
- System Type: Furnace
- Accessories: PAL3000



- Hardware Setup: Model 932G:



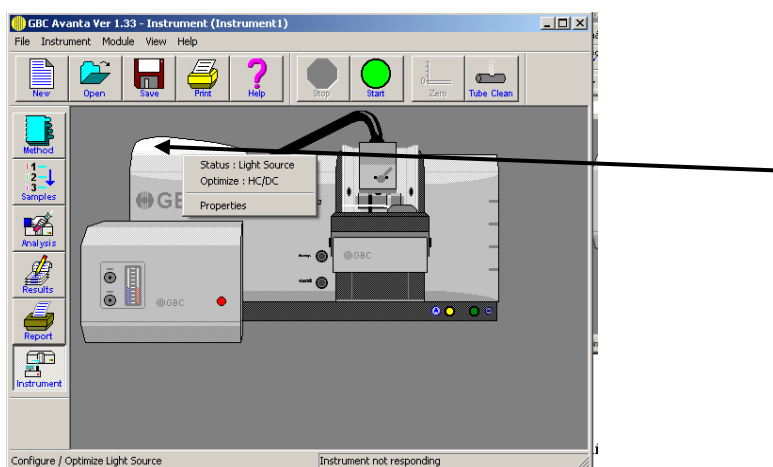
Záložka **Element Lamp Table**: ve sloupci č. 1 musí být zapsány chemické značky všech stanovovaných prvků:



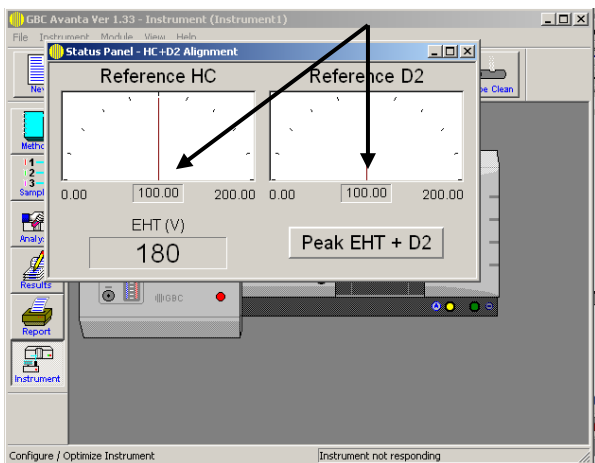
4 Manuální příprava spektrometru k měření

Nastavení polohy VDK a deuteriové lampy

Pravým tlačítkem myši se klikne na horní pravý roh obrázku spektrometru a z nabídky se zvolí položka **Optimize HC/DC**:



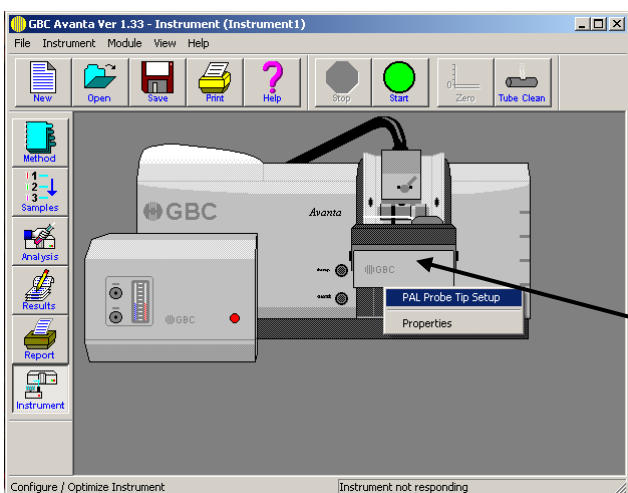
Pomocí točitek umístěných na pravé straně spektrometru se nastaví poloha lamp taková, aby se získal maximální emisní signál:



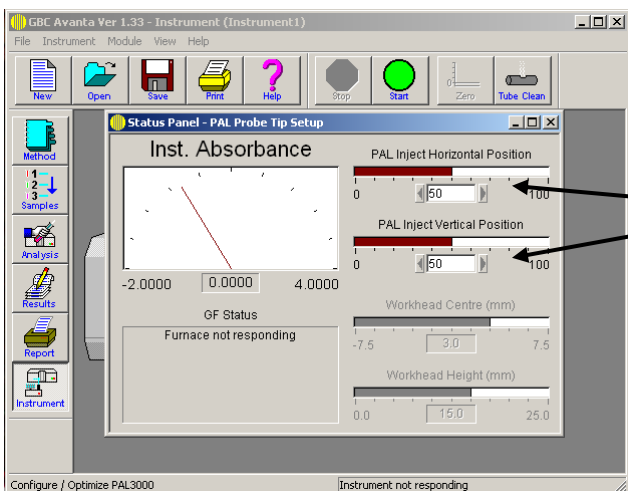
Nastavení polohy kapiláry dávkovače

Pravým tlačítkem myši se klikne na obrázek dávkovače a z nabídky se zvolí položka **PAL Probe**

Tip Setup:



Pomocí software se nastaví se výšková a horizontální (pravo-levá) poloha kapiláry:



Předo-zadní poloha kapiláry se upraví manuálně posunováním celého dávkovače pomocí točítka umístěného na jeho spodní straně. Kapilára by měla směřovat doprostřed atomizátoru těsně nade dno.

5 Kontrola a úpravy měřící aplikace

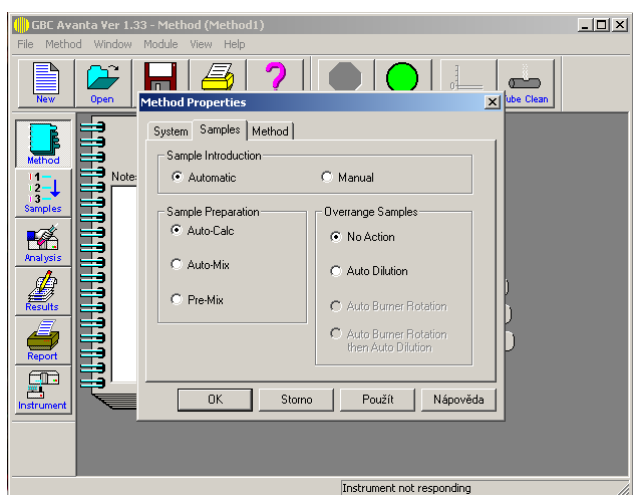
Všechny úpravy se provádějí pomocí modulu **Method**.

Kontrola základního nastavení:

Pravým tlačítkem myši se klikne na panel **Method** a z nabídky se zvolí položka **Properties**:

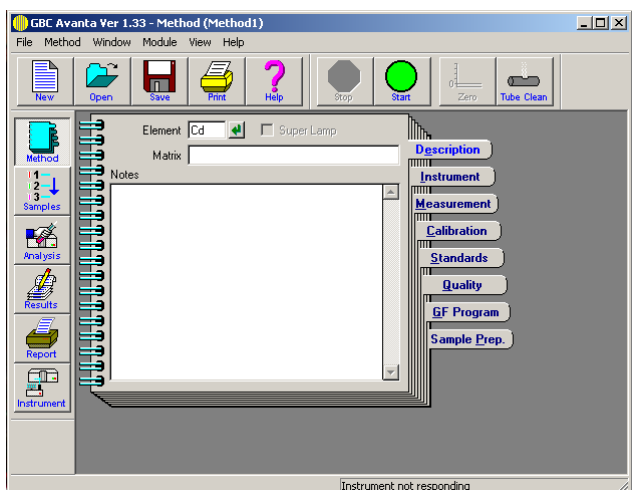
- záložka **System**: System Type – Furnace
- záložka **Samples**: Sample Introduction – Automatic

Sample Preparation – Auto-Mix



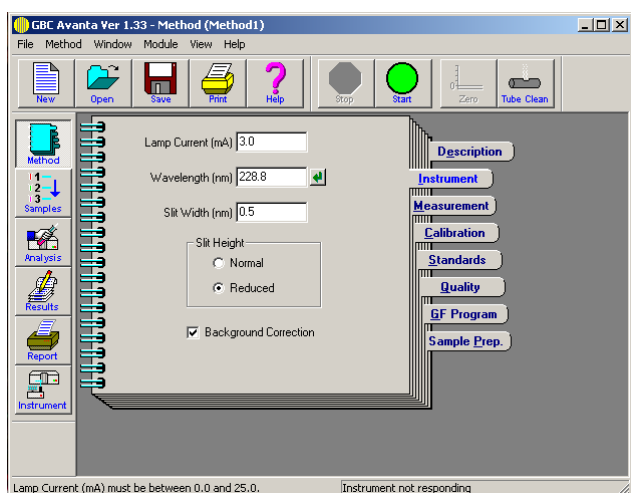
Vlastní nastavení:

- záložka **Description**:



zvolí se analyzovaný prvek, ostatní údaje mají pouze popisný charakter a nejsou povinné.

- záložka **Instrument**:



Žhavicí proud výbojky (Lamp Current): nastaví se automaticky po volbě stanovovaného prvku

Vlnová délka (Wavelength): v případě Pb se zapíše hodnota 283,3 nm; v případě Cd se ponechá automatická volba

Šířka štěrbinu monochromátoru (Slit Width): nastaví se automaticky po volbě stanovovaného prvku

Výška štěrbinu monochromátoru (Slit Height): pro elektrotermickou atomizaci se volí redukovaná šířka štěrbinu

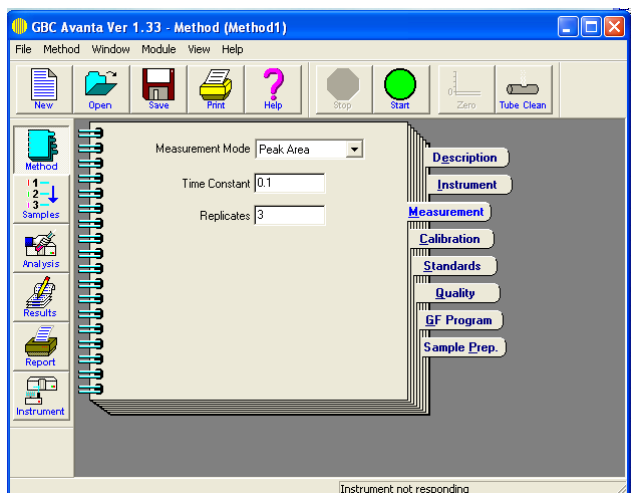
Korekce pozadí (Background Correction): zapnuta.

- záložka **Measurement:**

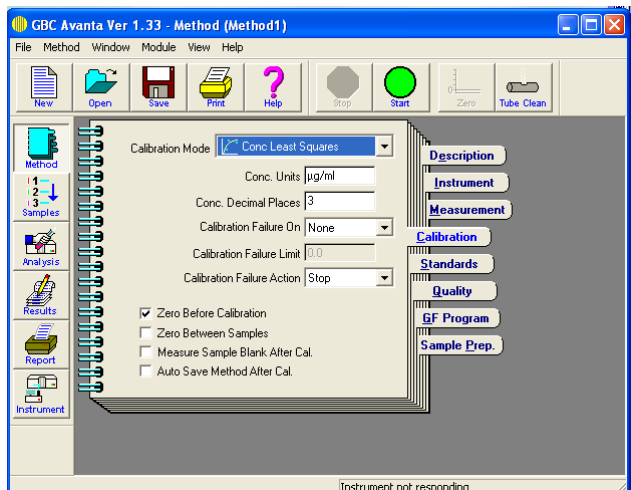
Způsob vyhodnocení signálu (Measurement Mode): v závislosti na typu úlohy se volí vyhodnocení z plochy píku (Peak Area) nebo z výšky píku (Peak Height).

Časová konstanta detektoru (Time Constant): v závislosti na typu úlohy se zadá 0 nebo 0,1 s.

Počet opakování měření (Replicates): v závislosti na typu úlohy se zvolí v rozmezí 3 – 10.

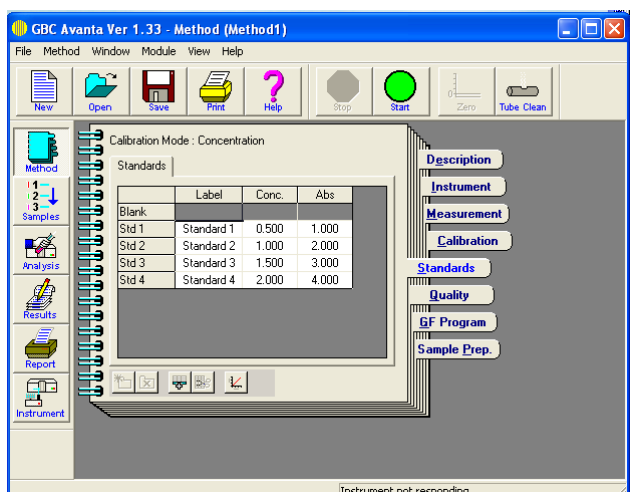


- záložka **Calibration:**



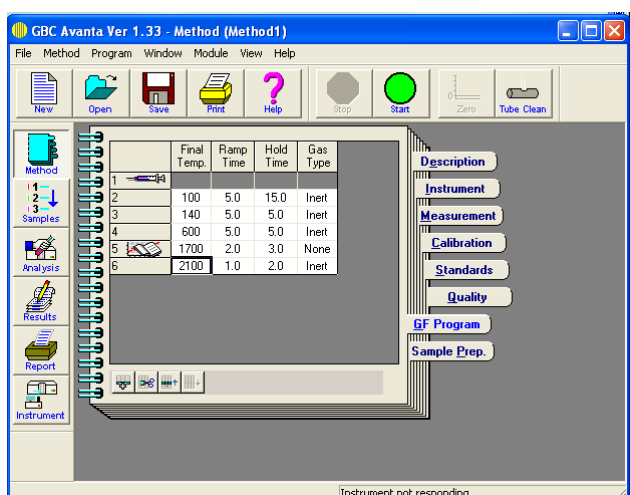
Způsob vyhodnocení kalibrační závislosti (Calibration Mode): vybere se vhodný způsob vyhodnocení kalibrační závislosti, např. metodou nejmenších čtverců.

- záložka **Standards:**



Zapíší se koncentrace kalibračních roztoků. V případě stanovení Cd to budou koncentrace 0,5; 1,0; 1,5 a 2,0 ng/ml Cd. V případě stanovení olova to budou koncentrace 10, 20, 30 a 40 ng/ml.

- záložka **GF program:**



V tabulce se upřesní teplotní program grafitového atomizátoru. V kroku č. 1 se provádí dávkování vzorku do atomizátoru, v kroku č. 2 dojde k odpaření rozpouštědla, v kroku č. 3 dojde k dosušení vzorku, v kroku č. 4 dojde k pyrolýze vzorku, v kroku č. 5 k atomizaci a k měření a záznamu hodnoty absorbance, v kroku č. 6 se vyčistí kyveta.

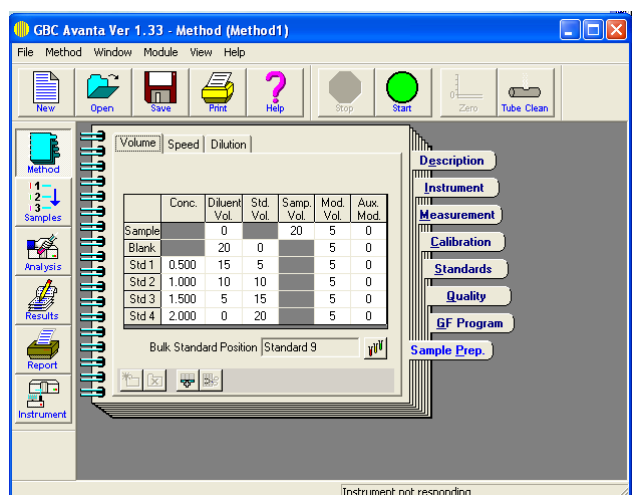
Jednotlivé parametry mají tento význam:

- Final Temp.: konečná teplota[°C],
- Ramp Time: doba nárůstu [s],
- Hold Time: doba setrvání [s],

- Gas Type: volí se vhodný typ ochranné atmosféry. Atomizátor pracuje se dvěma zdroji plynů označenými jako Inert a Auxilary, je možné zvolit jeden z nich, mísit je dohromady či průtok ochranné atmosféry úplně zastavit.

Během optimalizace teplotního programu se mění hodnota konečné teploty v krocích pyrolýzy a atomizace a hodnota doby nárůstu v kroku atomizace.

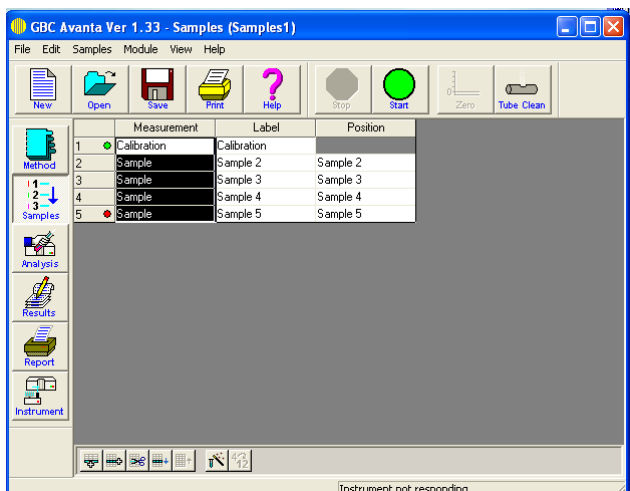
- záložka **Sample Prep.:**



Zapíše se dávkované objemy všech roztoků, údaje jsou v μl . Objem dávkovaného vzorku bude vždy $20 \mu\text{l}$, objem modifikátoru bude podle řešené úlohy 0 nebo $2 \mu\text{l}$, objemy základního kalibračního roztoku a ředícího roztoku se volí tak, aby jejich součet byl $20 \mu\text{l}$ a zároveň po smíchání vznikl roztok o požadované koncentraci.

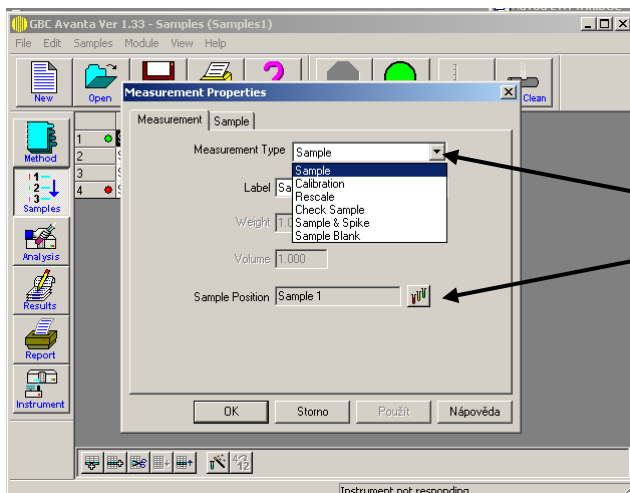
6 Vzorky a jejich měření

V panelu **Samples** se zadá měřená série vzorků:



- Measurement: typ vzorku (kalibrace, vzorek, kontrolní vzorek apod.). Typ vzorku se volí poté, co se pravým tlačítkem myši klikne na příslušném řádku tabulky a nabídka se vybere příkaz

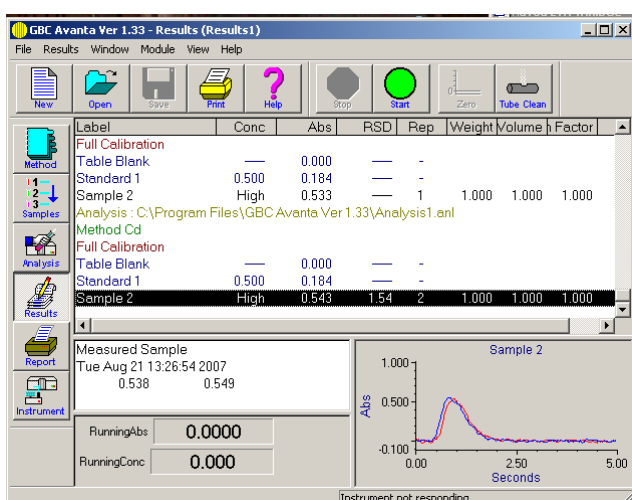
Properties:



- Label (název vzorku): zapíše se zvolený název vzorku.
- Position (poloha): označuje umístění vzorku v karuseli automatického dávkovače. Zadává se obdobným způsobem, jako typ vzorku.

Pozor: některá místa v karuselu jsou vyhrazena pro speciální roztoky: modifikátor se umístí do polohy označené **M**, ředí roztok do polohy označené **B** a základní kalibrační roztok se umístí do polohy **K**.

Výsledky měření jsou zobrazeny v panelu **Results**. Horní část panelu udává přehled o všech měřených vzorcích: název vzorku, naměřená absorbance, vypočtená koncentrace a další. V levé spodní části panelu je možné nalézt detailní údaje o zvoleném vzorku: datum a čas měření a výsledky jednotlivých opakování. V pravé spodní části panelu je umístěn grafický záznam průběhu měření zvoleného vzorku, případně je zde možné zobrazit kalibrační křivku.



Na horní liště programu jsou umístěna tlačítka pro ovládání měření:

Start: spuštění měření série vzorků zdané v panelu **Samples**,

Stop: předčasné ukončení měření,

Zero: nastavení nulové absorbance,

Tube Clean: vyčistění grafitového atomizátoru.

7 Úlohy

Úloha 1

Optimalizace teplotního programu

nastavení:

počet opakování: 3

měřicí program: jeden vzorek 40 ng/ml Pb nebo 2 ng/ml Cd, bez kalibrace

časová konstanta detektoru: 0,1 s

vyhodnocení signálu: výška píku

- a) optimalizace teploty pyrolýzy s použitím modifikátoru modifikátor: 2 μ l 20% ního roztoku $H_4H_2PO_4$
teplota atomizace: 1 800 °C
- b) optimalizace teploty pyrolýzy bez použití modifikátoru
teplota atomizace: 1 800 °C
teplota pyrolýzy: od 400 °C, zvyšuje se po 50 °C až do výrazného poklesu signálu
teplota pyrolýzy: od 400 °C, zvyšuje se po 50 °C až do výrazného poklesu signálu
- c) optimalizace teploty atomizace s použitím modifikátoru
teplota pyrolýzy: optimální teplota zjištěná v předešlém kroku
teplota atomizace: od 1 100 °C, zvyšuje se po 100 °C až po stabilizaci signálu
- d) optimalizace průtoku ochranné atmosféry
teplota pyrolýzy: optimální teplota zjištěná v předešlém kroku
teplota atomizace: optimální teplota zjištěná v předešlém kroku
průtok ochranné atmosféry: od 4 dílků na rotametri, zvyšuje se po 1 dílku. Sleduje se výšku píku i opakovatelnost signálu (RSD).
- e) optimalizace rychlosti nárůstu teploty atomizačního kroku
snižuje se hodnota „Ramp time“ z 2,5 s po 0,5 s až na hodnotu odpovídající maximální možné rychlosti nárůstu teploty. Sleduje se výšku píku i jeho tvar – chvostování a případné rozdvojení.

Úloha 2

Vliv časové konstanty detektoru a způsobu vyhodnocení signálu na opakovatelnost měření

nastavení:

optimální teplotní program s použitím modifikátoru

počet opakování: 10

měřicí program: jeden vzorek 40 ng/ml Pb nebo 2 ng/ml Cd, bez kalibrace.

Proměří se tyto kombinace parametrů a zvolí optimální kombinace která vede k nejvyšší přesnosti měření:

- a) časová konstanta 0 s, výška píku
- b) časová konstanta 0 s, plocha píku
- c) časová konstanta 0,1 s, výška píku
- d) časová konstanta 0,1 s, plocha píku

Úloha 3

Stanovení meze detekce

nastavení:

optimální teplotní program s použitím modifikátoru

optimální časová konstanta a způsob vyhodnocení signálu

počet opakování: 4

kalibrační roztoky: slepý roztok – demineralizovaná voda

10 ng/ml Pb nebo 0,5 ng/ml Cd, naředí se automaticky ze zásobního roztoku 40 ng/ml Pb nebo 2 ng/ml Cd,

vzorky: 2% (v/v) kys. dusičná v demineralizované vodě umístěná do deseti vzorkovacích pozic.

Úloha 4:

Proměření kalibrační křivky, stanovení Pb nebo Cd v pitné vodě VŠCHT a ve vzorku certifikovaného referenčního materiálu biologického materiálu nebo vzorku horniny

Rozklad CRM biologického materiálu:

Do předem vyčištěných a suchých rozkladných nádobek se naváží 0,5 g vzorku, mírně se ovlhčí a přidají se 3 ml konc. HNO₃. Nádobka se uzavře a rozkládá v mikrovlnném rozkladném zařízení podle předvoleného teplotního. Rozložený vzorek se převede do 50 ml odměrné baňky a doplní po rysku demineralizovanou vodou. Rozkládá se 2 × vzorek a 1 × slepý pokus (do nádobky se přidá pouze 3 ml HNO₃). Pozor: nezaměňovat tento slepý pokus se slepým pokusem použitým k ředění kalibračních vzorků.

Rozklad horniny:

Do předem vyčištěných a suchých rozkladných nádobek se naváží 0,2 g vzorku, mírně se ovlhčí se a přidají se 4 ml konc. HNO_3 a 2,5 ml konc. HF. Nádobka se uzavře a rozkládá v mikrovlnném rozkladném zařízení podle předvoleného teplotního. Rozložený vzorek se převede do 50 ml plastové odměrné baňky a doplní po rysku demineralizovanou vodou. Digerát se převede do suché polyethylenové lahvičky a podle pokynů asistenta se před analýzou naředí demineralizovanou vodou. Rozkládá se 2 × vzorek a 1 × slepý pokus (do nádobky se přidá pouze HNO_3 a HF).

Úprava vzorku pitné vody:

obsah Pb v pitné vodě VŠCHT kolísá, připraví se proto vzorek vody 100× a 10× ředěný, tj. pipetuje se 1 případně 10 ml pitné vody do 100 ml odměrné baňky, okyselí se 2 ml kyseliny dusičné a doplní demineralizovanou vodou po rysku. V případě stanovení Cd se analyzují neředěný vzorek vody.

Nastavení spektrometru:

optimální teplotní program s použitím modifikátoru

optimální časová konstanta a způsob vyhodnocení signálu

počet opakování: 4

kalibrační roztoky: slepý roztok demineralizovaná voda

roztoky 10, 20, 30 a 40 ng/ml Pb které se naředí automaticky ze

zásobního roztoku 40 ng/ml Pb

nebo roztoky 0,5; 1,0; 1,5 a 2,0 ng/ml Cd které se naředí automaticky ze

zásobního roztoku 2,0 ng/ml Cd

vzorky: vzorky rozložených vzorků CRM včetně rozložených slepých pokusů a zředěná a neředěná pitná voda

8 Zpracování výsledků a protokol

Kromě principu měření AAS musí protokol obsahovat tabelárně a graficky zpracované výsledky optimalizace, měření kalibračních křivek a vlastních vzorků. Součástí protokolu je i příprava kalibračních roztoků včetně výpočtu navážek příslušných chemikálií. V protokolu musí být dále uvedeny optimální podmínky, při kterých bylo měření absorpce prováděno, tj. vlnová délka, šířka spektrálního intervalu, napájecí proud výbojky, hodnotu napětí na fotonásobiči, teplotní program atomizátoru aj.

9 Kontrolní otázky

Jaké jsou hlavní kroky teplotního programu elektrotermického atomizátoru

Jaká je funkce ochranné atmosféry.

Jak se optimalizuje teplotní program elektrotermického atomizátoru

Jaká je funkce modifikátoru matrice $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$