

1

Univerzita Palackého
v Olomouci

Úvod

- AAS: v podstatě 4 atomizační techniky:
 - plamenová atomizace (FA),
 - elektrotermická atomizace (ETA),
 - generování těkavých hydridů (HG), určené pro stanovení As, Bi, Ge, Se, Sb, Sn, Pb, výjimečně In a Tl,
 - metoda studených par (CV), určená pouze pro stanovení Hg.
- Spojení AAS s dalšími metodami umožňuje přímou analýzu pevných látek a roztoků s extrémně nízkými koncentracemi, mění se citlivosti a meze stanovitelnosti.
- Každý způsob atomizace má své přednosti i nedostatky, ze kterých vyplývá rozsah použití jednotlivých technik ke stanovení určitého prvku v daném typu vzorku.
- Správná volba analytického postupu tak může výrazně ovlivnit výsledek analýzy.

2



Univerzita Palackého
v Olomouci

Porovnání atomizačních technik

– Koncentrační rozsah – LOD, LOQ:

- FA se optimální koncentrace pohybuje řádově desetiny a jednotky mg/l,
- ETA a HG je uvedená koncentrace řádově nižší (desetiny a jednotky $\mu\text{g/l}$),
- LOD a LOQ určuje nejen způsob atomizace, ale i samotný prvek.
- Pomocí HG lze omezený počet prvků stanovit v koncentracích odpovídajících desetinám $\mu\text{g/l}$. Spojením FA se zadržením atomů stanovovaného prvku ve speciální trubici tzv. STAT, lze i pomocí FA u některých prvků (např. u Cd) dosáhnout LOQ blízkých se technice ETA.
- Paradoxně nejhorší LOD mají pro FA hydridotvorné prvky.
- Obecně nelze očekávat výrazné zlepšení LOD jednotlivých technik atomizace. Zlepšení: spojení s prekoncentrační technikou (např. FIA FA AAS).

– Dynamický rozsah:

- Tj. závislost absorbance na koncentraci analytu lineární. Vyšší koncentrace analytu způsobují její nežádoucí zakřivení. Zkušený analytik může lineární kalibrační závislost nahradit závislostmi vyšších řádů.
- (Lineární) dynamický rozsah u AAS pouze 2-3 řády.

3



Univerzita Palackého
v Olomouci

Porovnání atomizačních technik

– Množství vzorku potřebného k analýze:

- ETA: do atomizátoru se dává 20 – 100 μl , nejčastěji pouze 20 μl . Celková spotřeba roztoku je přesto ve srovnání s FA zanedbatelná.
- FA: z podstaty atomizačního procesu vyplývá, že po celou dobu měření musí být zaručen přívod vzorku do plamene nasávaného 5 - 10 ml/min.
- HG s kontinuálním dávkováním: spotřeba roztoku obdobná jako u FA.

– Doba analýzy:

- Zahrnuje i čas potřebný na přípravu kalibračních a kontrolních standardů. U ETA se často musí připravit také roztok modifikátoru, u metody studených par a hydridové techniky roztok redukčního činidla, který musí být vždy čerstvý, a tím se prodlužuje doba přípravy analýzy.
- Za předpokladu: 1 analyt ve vzorku – výsledek nejrychleji technikou FA.

– Ekonomické parametry:

- Cena analýzy zahrnuje pořizovací a provozní náklady spektrometru, cenu práce operátora přístroje i personálu zajišťujícího přípravu vzorku k analýze, cenu použitých chemikálií i pomůcek.

4



Univerzita Palackého
v Olomouci

Vývoj měřicího postupu (metody)

- Rozhodovací proces volby analytického postupu ovlivňuje:
 - fyzikální stav vzorku,
 - matrice vzorku a její variabilita,
 - počet a charakter stanovovaných analytů a jejich očekávané koncentrace,
 - požadovaná preciznost,
 - náklady na vývoj metody a cenu vlastní analýzy,
 - přijatelná doba trvání vývoje metody a požadovaná rychlost analýzy reálných vzorků,
 - frekvence požadavků analýzy.
- Jednotlivé aspekty se navzájem prolínají a nelze jednoznačně určit, který je nejdůležitější.
- Předpokládaná koncentrace ve vzorku: výsledný obsah analytu ve vzorku lze ovlivnit volbou navážky pevného vzorku a objemem roztoku. S koncentrací analytu se však zvyšuje také koncentrace zbývajících prvků (matrice) a tedy navážku pevného vzorku nelze zvyšovat neomezeně, zejména jedná-li se o stopovou analýzu.

5



Univerzita Palackého
v Olomouci

Vývoj měřicího postupu (metody)

- Jednotlivé techniky atomizace mají určitá omezení, které do jisté míry ovlivňují jejich použití v analýze reálných materiálů. Z tohoto hlediska lze rozdělit stanovované prvky do několika skupin:
 - **Alkalických kovy a kovy alkalických zemin.** Jejich teplota atomizace je nízká a i technikou plamenové atomizace lze dosáhnout poměrně nízké detekční limity. Navíc se ve většině vzorků běžných matric vyskytují v koncentracích, pro které je tato technika dostačující.
 - **Hydridotvorné prvky.** Pokud se tedy nejedná o speciální materiály (např. slitiny Sn atd.), stanovují se technikou elektrotermické atomizace nebo atomizace hydridů, protože FA není dostačující.
 - **Zbývajcí prvky kovového charakteru.** V závislosti na očekávané koncentraci ve vzorku se stanovují FA nebo ETA.
 - **Hg:** ze stanovit, ale především technikou CV. Pro její stanovení se v současnosti ve všech typech vzorků upřednostňuje jednoúčelový atomový absorpční spektrometr, známý pod obchodním názvem AMA 254.
 - **Nekovy.** Analýza těchto prvků, jako P a S, je možná, ale v praktických aplikacích výjimečná.

6



Univerzita Palackého
v Olomouci

Optimalizace přístrojových parametrů

- Přístrojové parametry optimalizujeme na velikost absorbance nebo preciznost výsledků.
- Metoda stanovení analytu v dané matici vypracována na jednom typu přístroje není úplně přenosná na jiný typ přístroje. Použitelnost musíme ověřit, případně postup modifikovat.
- Důležitým pomocníkem je manuál přístroje.
- Optimalizace závisí na atomizační technice. Pro všechny techniky jsou společné: vlnová délka, šířka spektrálního intervalu, napájecí proud zdroje záření, doba měření, integrace. Část údajů je v manuálu.
- **FA:** typ plamene, průtok paliva a oxidovadla, pozorovací výšku (vzdálenost osy paprsku od ústí hořáku), rovnoběžnost štěrbinu hořáku s osou paprsku.
- **ETA:** materiál atomizátoru, způsob korekce pozadí, pokud přístroj umožňuje jeho volbu, nastavení atomizátoru do osy paprsku, teplotní program, dávkované množství vzorku, průtok inertního plynu, použití modifikátoru matrice.

7



Univerzita Palackého
v Olomouci

Studium interferencí

- Orientační studium interferencí při vývoji nové metody vychází z obecných znalostí o interferencích v jednotlivých technikách AAS. Ověření interferenční studií: proměření vhodně připravených roztoků s předpokládaným obsahem matričních prvků a činidel, použitých při úpravě reálného vzorku.
- Lze vypustit v případě, že zaváděná metoda byla již popsána v normovaných postupech ČSN nebo ISO, popř. zpracovaná a ověřená v jiné laboratoři pro jiný přístroj.
- Nejsou-li k dispozici literární údaje, musí se experimentální studium interferencí provést podrobněji:
 - Spektrální interference (nespecifická absorpce) se mění příliš vysokou rychlostí a použitý korektor pozadí zaznamenává překompenzování signálu, nebo se projevuje překryv absorpční čáry analyzovaného prvku rozšířeným křídlem blízké absorpční čáry jiného prvku.
 - Nespektrální interference lze potlačit celou řadou technik (modifikátory, ionizační pufry, uvolňovací činidla).

8



Univerzita Palackého
v Olomouci

Terminologie složení vzorku

- **Podle obsahu:**
 - Hlavní (matriční) prvky: > 0,1 % – např. Na, K, Mg, P, Si
 - Vedlejší prvky: < 0,1 % – např. Mn, Fe
 - Stopové prvky: ppm – ppb
 - Ultrastopové prvky: < ppb
- **Podle funkce:**
 - Oligoelementy – prvky nezbytné k životu (Fe, Cu, Mn, Zn, B, Co)
 - Asimilované prvky – živými organismy z půdy či vody
 - Toxické prvky (Cd, Hg, Be, Ba, Ir, ...)
 - Esenciální a současně toxické prvky – podle koncentrace (Se, Cr, Zn, ...)

9



Univerzita Palackého
v Olomouci

Postupy zabezpečení kvality výsledků

- Stabilizace (okyselení, zmrazení) vzorků před analýzou, homogenizace vzorků.
- Vhodný způsob rozkladu:
 - ověření pomocí maticových CRM nebo „spikování“ vzorků,
 - rozklady a analýza slepých pokusů.
- Studium rušivých vlivů v daném typu vzorku a jejich eliminace.
- Správná kalibrace (koncentrační rozsah, maticí kalibrace) a vhodná frekvence rekalibrací – zejména u ETA-AAS (stárnutí kyvety).
- Používání QC vzorků a maticových CRM.
- Kontroly správného chodu spektrometru.

10



Univerzita Palackého
v Olomouci

Základní požadavky na správnou kalibraci

- Obvykle ředění komerčně dostupných „standardů“, dnes na úrovni CRM:
 - dostupné různé koncentrace pro různé prvky (např. platinové kovy),
 - stabilizují se různými kyselinami – u směsných kalibrací může dojít k vysrážení některého kovu.
- **Frekvence přípravy:**
 - ~ ppm a vyšší – stabilní i 3 měsíce, pokud jsou okyselené a skladovány v plastových nádobkách,
 - ~ 10^2 ppb a nižší – denně čerstvá příprava.
- **Složitá a známá matrice – matriční kalibrační roztoky.**
- **Technika přidavku standardů:**
 - běžná v ETA-AAS, časově náročná,
 - vzorek + 3 přidavky (= 4 kalibrační body), lineární část kalibrační křivky.

11



Univerzita Palackého
v Olomouci

Porovnání systémů korekce pozadí

Parametr	Deuteriová korekce	Zeemanova korekce
Investice	Menší, více výrobců	Větší, méně výrobců
Korekce velkých nesespecifických Abs	Dostačující, až $A = 1$	Velmi dobrá, až $A = 2$
Oblast korekce	190 – 360 nm	Celý rozsah v AAS
Strukturované pozadí	NE	ANO
Úplný překryv čar	NE	NE
Částečný překryv čar	NE	ANO
Citlivost	Velmi dobrá	Horší, zejména pro některé prvky (Be, Cu, Bi, Tl, V)
Dynamický rozsah	Větší, ± 2 řády	Omezený („roll-over“)


12


 Univerzita Palackého
v Olomouci

Faktory ovlivňující opakovatelnost (RSD) u ETA-AAS

Komponenta	Příčina	Náprava
Dávkování vzorku	<ul style="list-style-type: none"> - ucpávání kapiláry, únik vzorku - špatné vypouštění vzorku 	<ul style="list-style-type: none"> - kontrola, vyčištění, výměna - oplach kapiláry např. ethanolem
Teplotní program	<ul style="list-style-type: none"> - sušení: krátká doba, rychlý ohřev 	<ul style="list-style-type: none"> - vizuální kontrola (kamera, zrcátko) + úprava programu
Atomizátor	<ul style="list-style-type: none"> - narušení pyrolytické vrstvy; paměťové efekty 	<ul style="list-style-type: none"> - kontrola a vyčištění povrchu, výměna květy za novou
Primární zdroj	<ul style="list-style-type: none"> - výbojka – stabilita, intenzita 	<ul style="list-style-type: none"> - kontrola, výměna, intenzivnější zdroj

13


 Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 1

– Analýza vod a vodných roztoků:

- napájecí vody a kondenzáty z elektráren: menší skupina prvků, jejichž koncentrace se pohybují řádově v $\mu\text{g/l}$ – použití ETA a HG. Není zapotřebí eliminovat interference a matriční vlivy.
- pitná voda: koncentrace zdraví škodlivých látek řádově v $\mu\text{g/l}$ – použití HG, CV a ETA, FA pro alkalické kovy a kovů alkalických zemin, popř. Zn, Fe.
- povrchová voda: výběr sledovaných analytů mnohdy závisí na účelu, za jakým se analýza provádí. Limitní koncentrace daná vyhláškou pak nepřímo určuje techniku atomizace.

14



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 2

– Analýza vod a vodných roztoků:

- odpadní voda: postup analýzy je možné modifikovat na základě zadání analýzy. Buď oddělení vodné a nevodné fáze a analýza každé fáze jednotlivě. Pokud jsou obě fáze dobře mísitelné, je možné vzorek po mineralizaci analyzovat jako vodný roztok.
- minerální a mořská voda: vysoký obsah rozpuštěných solí může způsobovat neselektivní absorpci – ETA se Zeemanovskou korekcí pozadí může pomoci.
- vodné výluhy a roztoky po sekvenční extrakci: výsledný extrakt obsahuje velmi různorodé kationy i aniony, komplexní sloučeniny matričních i stopových prvků.
- Existuje řada ČSN norem, které mohou laboratořím pomoci.

15



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 3

– Geologické materiály: horniny (různé minerály, sedimenty), rudy s převažujícím obsahem určité složky a půdy.

- Nejobtížnějším krokem je kvantitativní převedení analytu do roztoku, jelikož se jedná převážně o silikátovou matici – potřeba přísad HF.
- Některé obtížně rozložitelné materiály je vhodnější vytavit.
- Stanovení matričních i stopových prvků současně často vyžaduje více různých způsobů převedení vzorku do roztoku.
- Vlastní stanovení lze pak rozdělit na stanovení matričních prvků – FA a analýzu stopových prvků, při které se využije technika ETA nebo HG.
- **Půdy** se analyzují ze 2 důvodů: kontroluje se zemědělská velkovýroba a sleduje se kontaminace půd toxickými prvky. Analýza půd zahrnuje analýzu celkového obsahu kovů, ale také jejich obsah v různých extraktech (nejpoužívanější HNO_3 o $c = 2 \text{ mol/l}$).

16



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 4

- **Kovové materiály:** dělí se na železné kovy (např. surové železo, oceli, litiny), neželezné kovy, drahé kovy a slitiny.
 - Lze rozlišit tři základní koncentrační úrovně; analýza matričních, legujících a stopových prvků.
 - Stanovení matričních a legujících prvků – FA. Koncentrace stopových prvků: ETA nebo HG.
 - S ohledem na matici je nutné ověřit případné spektrální interference.
 - S mineralizací kovů nebývají obtíže. Výjimky: vysoce rezistentní kovy a slitiny (W, Fe-W) a nové materiály s např. Zr, B, Ce, La.
 - V řadě případů však nelze analýzu legujících, matričních i stopových prvků realizovat z roztoku připraveného pouze jedním postupem.
 - V této oblasti uplatnění AAS již existují normované postupy – ČSN.

17



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 5

- **Organické materiály:** dělí se roztoky s organickými rozpouštědly, ropu a její produkty, oleje a maziva.
 - FA i ETA dovoluje analyzovat vzorky s organickým rozpouštědlem.
 - FA: problémy ve zmlžovacím procesu a spalováním některých rozpouštědel (např. chloroformu) vznikají jedovaté produkty nebo jsou spalována nedokonale (např. benzen, toluen). Poměr paliva a oxidovadla se musí optimalizovat! Další problém může nastat při přípravě kalibračních standardů. Vhodnější organokovové sloučeniny, rozpustné přímo v nevodných rozpouštědlech, jsou málo dostupné.
 - ETA: analýza vzorků s organickými rozpouštědly není omezeno jejich těkavostí a toxicitou. Vhodná volba teplotního programu umožňuje použít jakékoli rozpouštědlo, jelikož termický rozklad lze upravit přívodem kyslíku. Ve srovnání s FA nejsou problémy s kalibrací.

18



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 6

- **Organické materiály:** dělí se roztoky s organickými rozpouštědly, ropu a její produkty, oleje a maziva.
 - **Ropa a ropné produkty:** analýza vzorků těchto typů je dobře popsána v normovaných postupech, jako je např. stanovení Na, Ni, V nebo nízkých koncentrací Pb v benzínu.
 - **Oleje, maziva:** kovy i nekovy v motorových olejích pocházejí především z aditiv (např. B, Ba, Ca, V, Mg, Mo, P, Sb, Zn), které zlepšují jejich vlastnosti. Proto se sleduje jejich koncentrace v olejích. Vedle prvků pocházejících z aditiv se stanovuje Al, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Ti a W. V důsledku špatné funkce filtru mohou obsahovat také Na nebo K. K úpravě vzorků lze použít mineralizaci s HNO_3 , méně časté jsou metody kyselého nebo alkalického tavení olejů.
 - Podle koncentrace stanovaného prvku se určuje způsob atomizace.

19



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 7

- **Biologické materiály:** lze dělit na klinické vzorky, potraviny, rostlinné a živočišné tkáně.
 - Více než u jiných materiálů je nutné dodržovat systém uchovávání vzorků – lednička, mraznička, kapalný N_2 .
 - **Klinické materiály:** alkálie FA, obsahy většiny toxických kovů se musí stanovit ETA nebo HG. Vedle nízkých obsahů většiny toxických kovů v tělních tekutinách i svalovině je postup analýzy dále limitován omezeným množstvím vzorku. Lze analyzovat nemineralizované (pouze naředěné) nebo mineralizované vzorky tělních tekutin. Více než u jiných vzorků doprovází stanovení technikou ETA interference a musí se optimalizovat především krok pyrolýzy.

20



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 8

- **Biologické materiály:** lze dělit na klinické vzorky, potraviny, rostlinné a živočišné tkáně.
 - **Potraviny a krmiva:** sledování analytů, které mohou výrazně ovlivnit kvalitativní ukazatele potravin i krmiv. Vedle makro složek a mikrosložek se v převážné míře jedná o stopovou analýzu kontaminantů, negativně ovlivňujících zdravotní stav obyvatelstva i chovného dobytka. Na rozdíl od klinických materiálů nejsou problémy s množstvím vzorků a do jisté míry s jeho časovou stabilitou.
 - **Rostlinného a živočišné tkáně:** se analyzují zejména z hlediska znečištění životního prostředí a často jsou tedy zařazovány do kategorie vzorků životního prostředí. Sledují se obvykle stopové koncentrace toxických prvků – ETA. Vzorky se analyzují po mineralizaci, která závisí na typu vzorku (seno, jehličí, listí, ...).

21



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 9

- **Odpady:**
 - Analýza látek všech skupenských stavů. Zpravidla se jedná o zjištění koncentrace toxických složek ohrožujících životní prostředí. Proto se musí vzorky deklarované jako odpad vždy považovat za vysoce toxický materiál a podle toho s nimi v laboratoři nakládat.
 - Mezi nejvíce zastoupené kategorie odpadů patří:
 - odpady z energetické výroby (popely, popílký, úlety),
 - odpady metalurgického průmyslu a strojírenské výroby,
 - odpadní nátěrové hmoty, odpady z výroby keramiky a skla,
 - odpady z papírenského průmyslu a zpracování dřeva,
 - odpady ze zpracování kůže (impregnační roztoky apod.),
 - odpady z agrochemie,
 - komunální dopad,
 - čistírenské kaly z čistíren odpadních vod,
 - neznámé odpady ze starých ekologických zátěží.

22



Univerzita Palackého
v Olomouci

Příklady aplikací AAS – 10

– Odpady:

- Použití AAS v analýze odpadů je komplikováno velkou variabilitou matrice a chemickou komplexností matrice.
- Velký význam má tedy správná optimalizace procesu a důsledná kontrola činnosti celého systému v průběhu práce, a to analýzou kontrolních vzorků.
- ETA je experimentálně náročná a z hlediska interferencí velmi riziková.. Komplikovaná matrice může způsobovat, že při teplotě atomizace se vypařují i jiné sloučeniny zastoupené v matrici, které zvyšují pozadí, výsledný signál je špatně kompenzován a výsledek je nesprávný. V některých případech nemusí použití Zeemanovské korekce pozadí nezaručovat správnost výsledku.
- Základní podmínkou získání správných výsledků je kvalitně provedená mineralizace, což je v případě odpadů mnohdy problematické.

23



Univerzita Palackého
v Olomouci

Použitá literatura

1. Hoenig M., de Kersabiec A-M.: Jak zajistit kvalitu výsledků v elektrotermické atomové absorpční spektrometrii? Spektroskopická společnost JMM, Praha 1997.
2. Seidlerová J.: Aplikace atomové absorpční spektrometrie. In: Atomová absorpční spektrometrie, sborník přednášek z kurzu. Ing. Václav Helán – 2 THETA, Český Těšín 2003.
3. Welz B., Sperling M.: Atomic Absorption Spectrometry, 3rd Ed. Wiley-VCH, Weinheim 1999.

<https://youtu.be/zkDoRFfc1fE>

24