

# Stopová analýza prvků v Klinické biochemii

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

Cd, Hg, Pb, Al . . .



**A A S**

**A**tomová **A**bsorpční **S**pektrofotometrie

**I C P**

**I**nductively **C**oupled **P**lasma

(Indukčně vázané plazma)



**A A S**

**A**tomová **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**

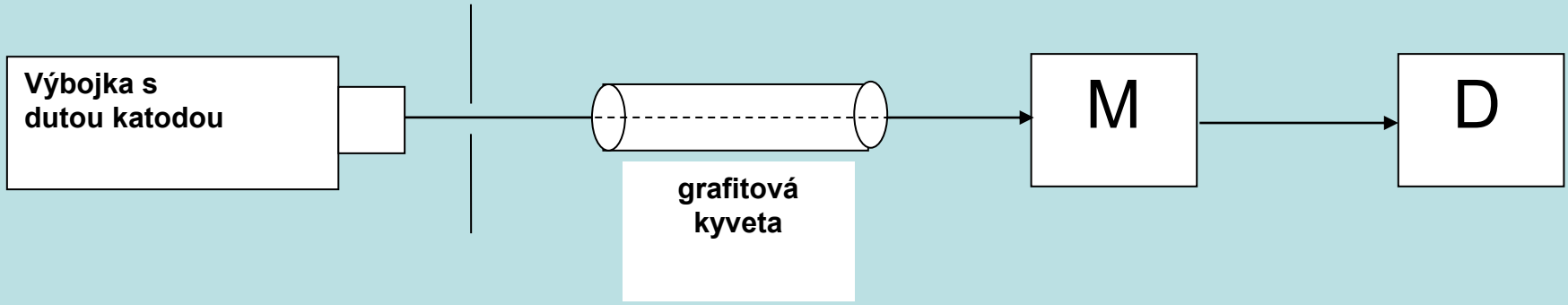
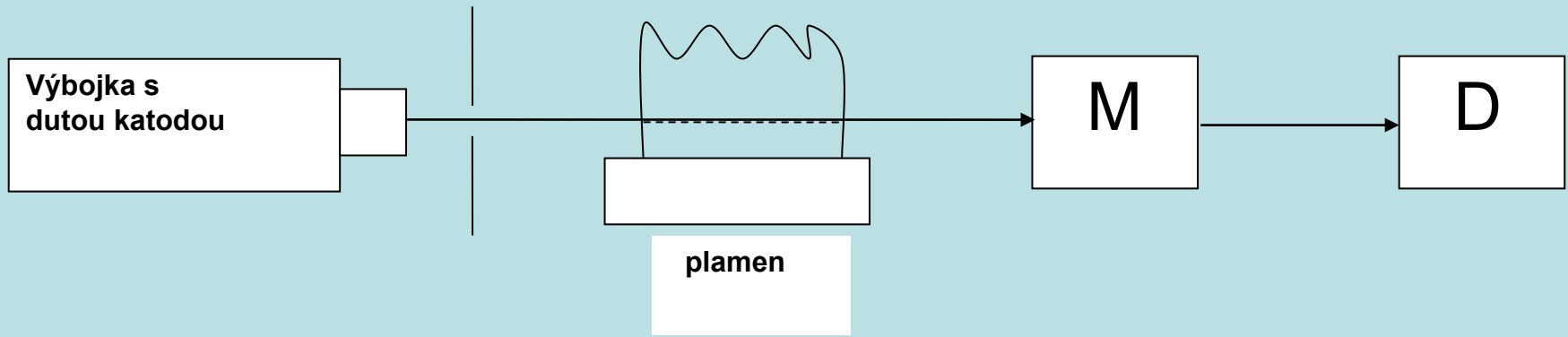
# A A S

## Plamenová technika

atomizace teplotou plamene  
(acetylén/vzduch; acetylén/N<sub>2</sub>O)

## 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),***

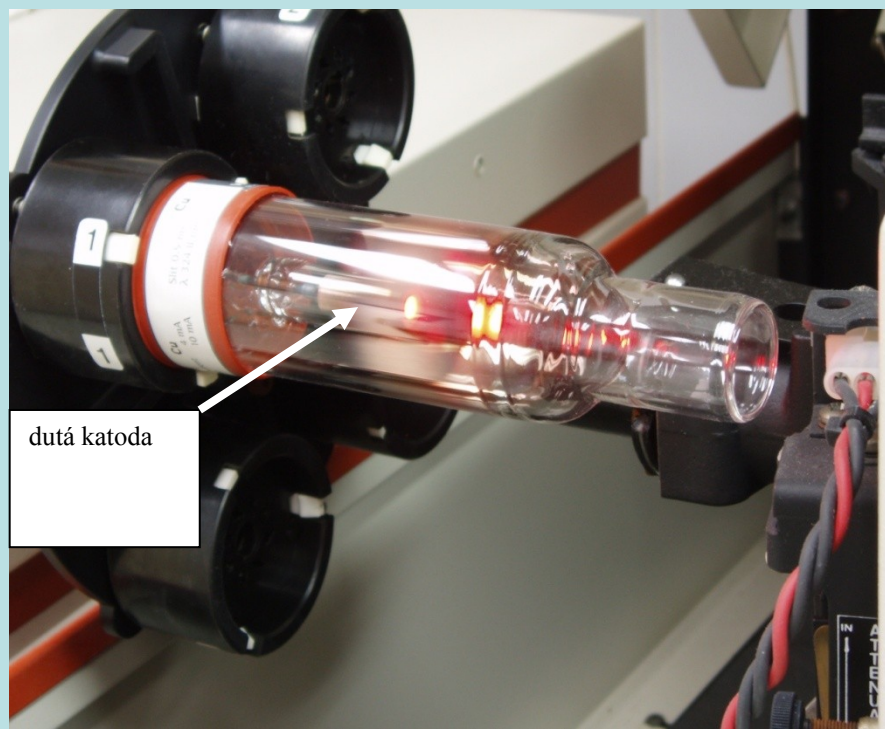
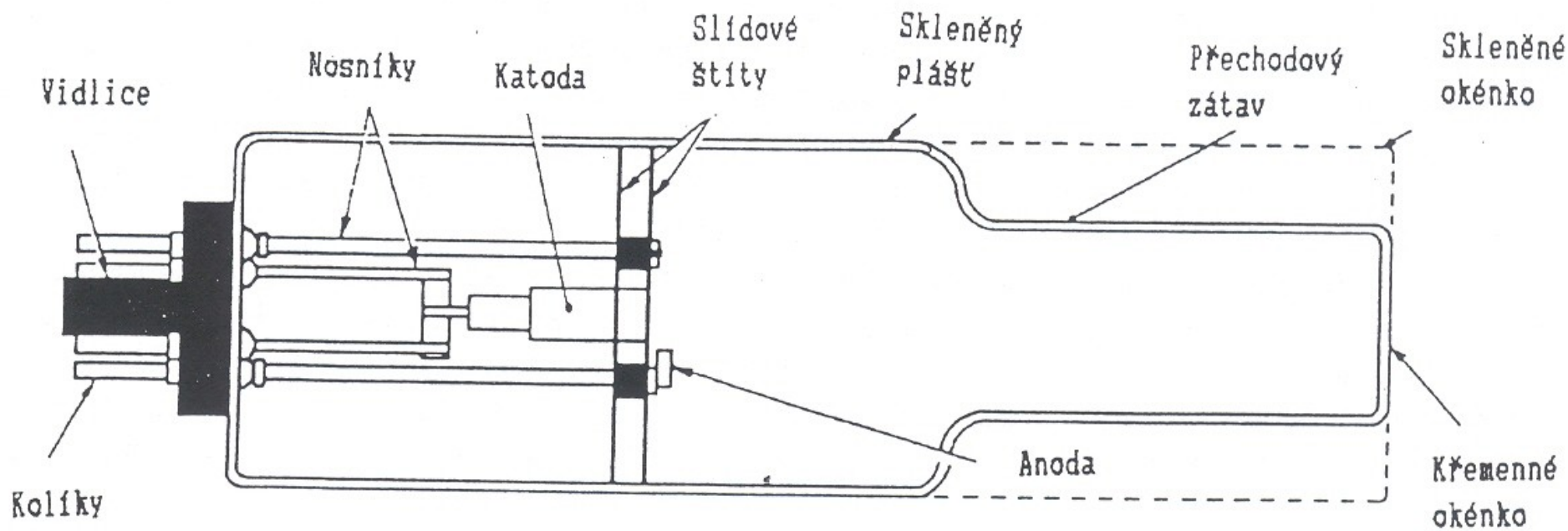
***bezelektrodové výbojky (EDL – Electrodeless Discharge Lamp)***

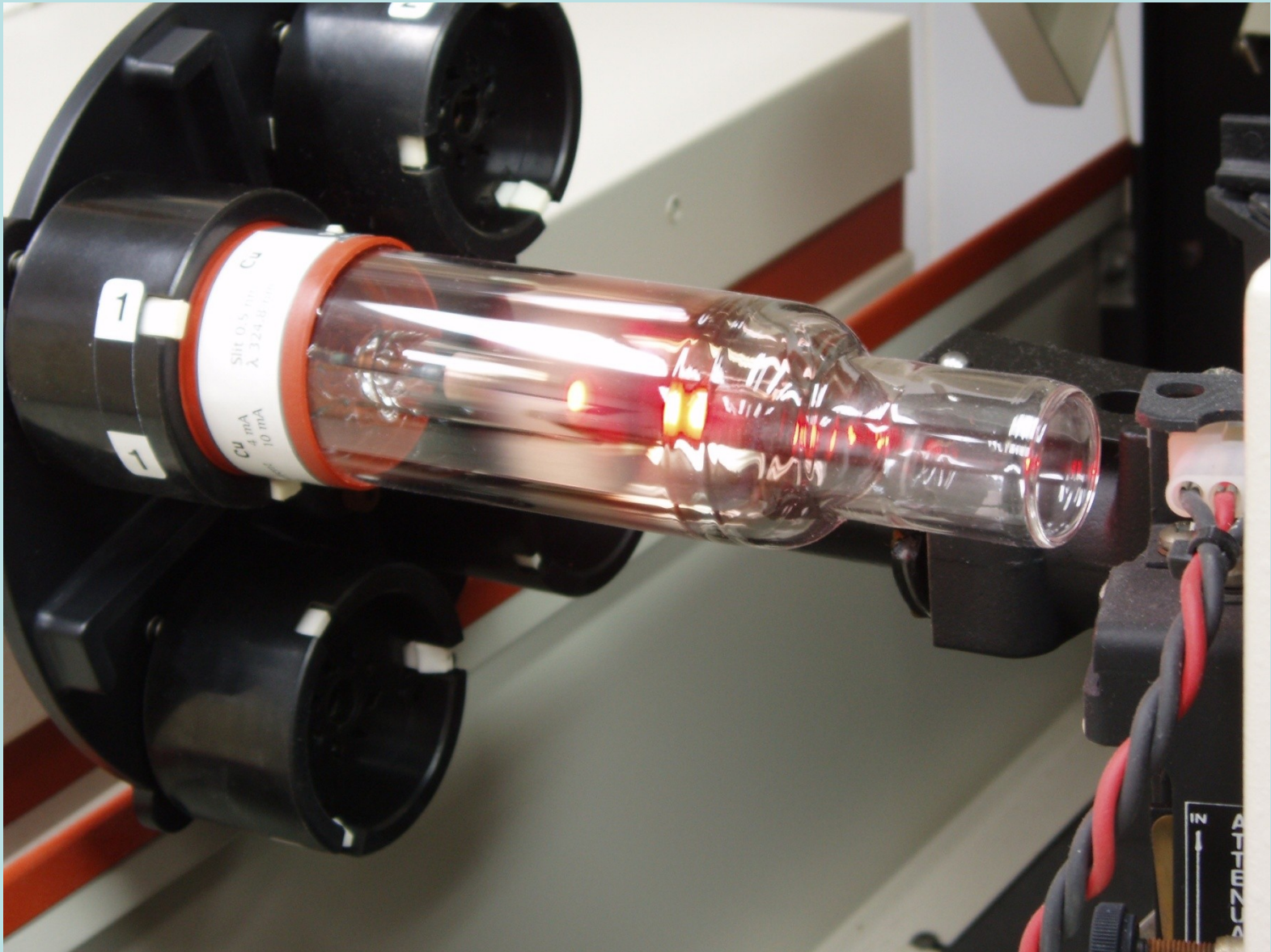
***superlampy.***

Jako velmi perspektivní zdroj se ukazují

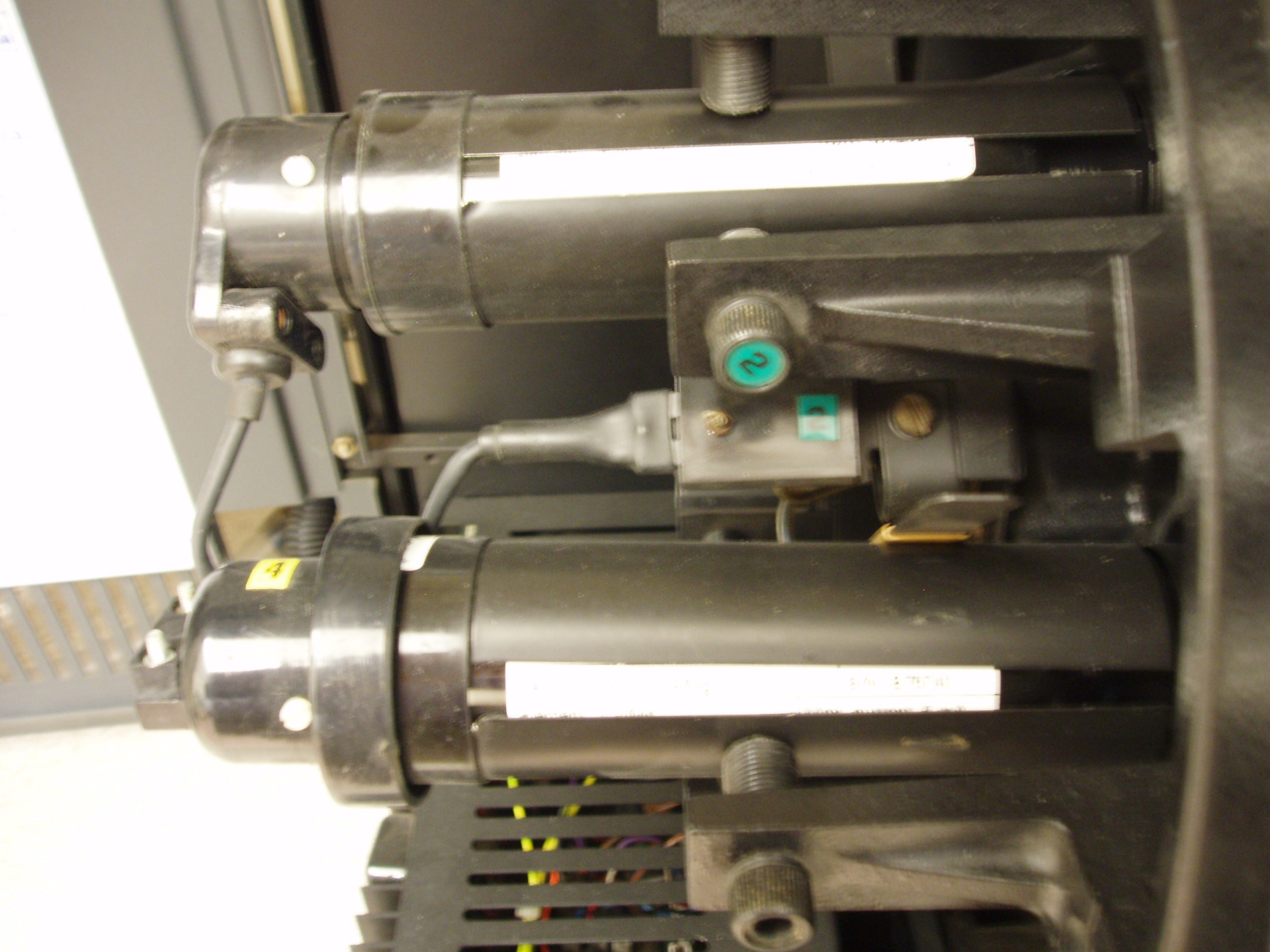
***laserové diody***

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











**LAMP  
CURRENT**



**O<sub>2</sub> LAMP**  
**H. HIGH**  
**L. LOW**



**1**



**2**

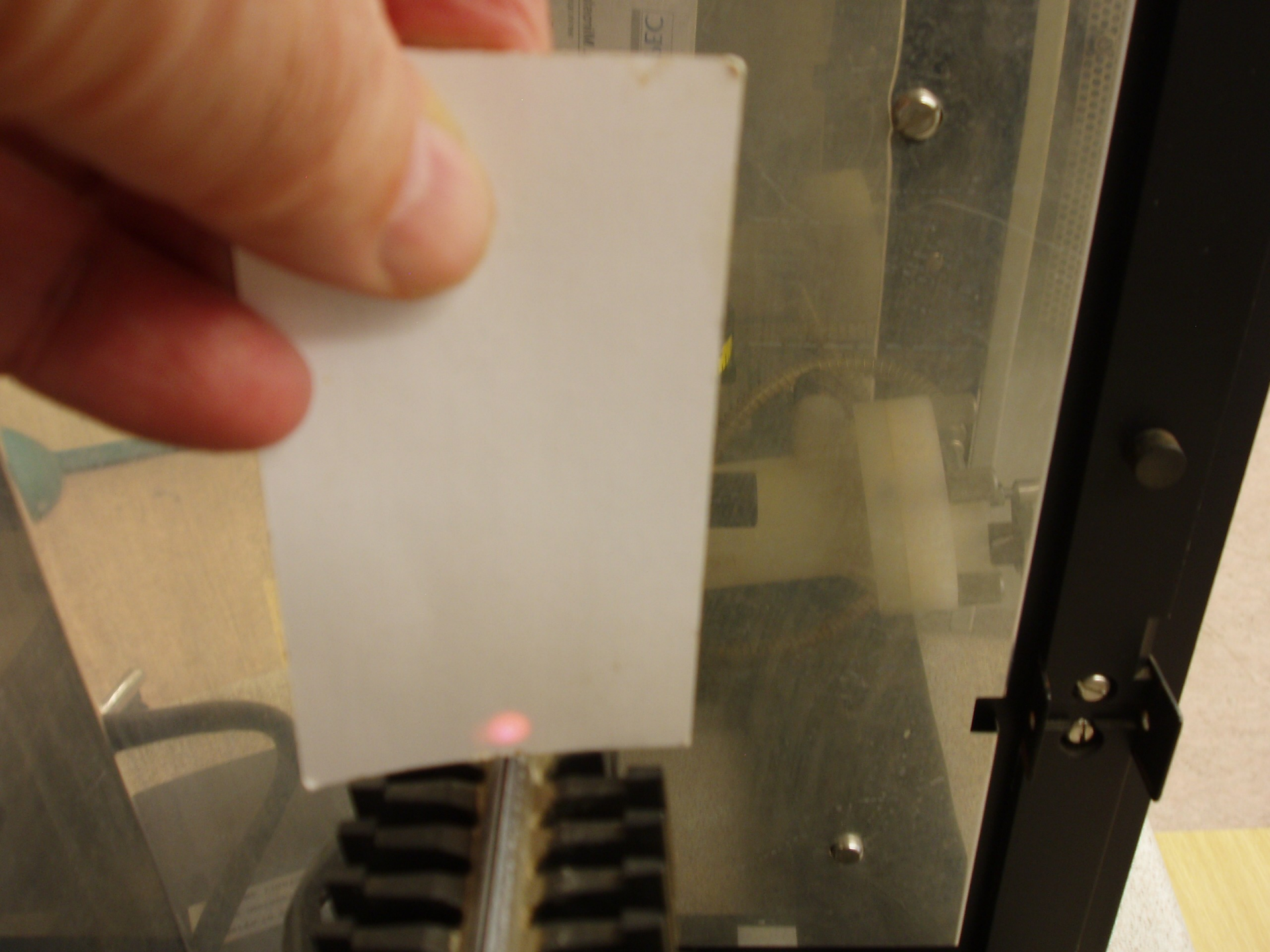


**3**

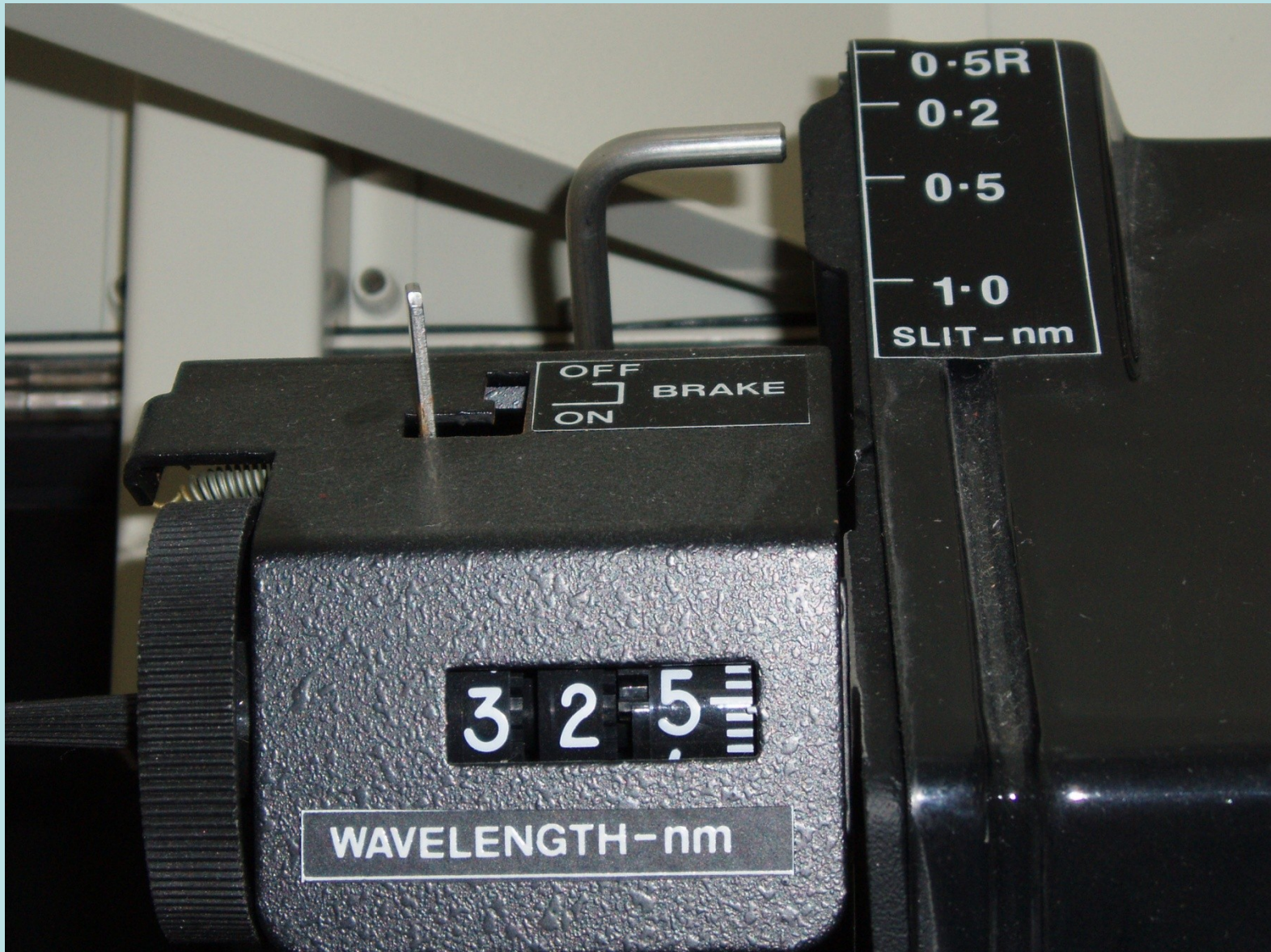


**4**









OFF  
ON BRAKE

3 2 5

WAVELENGTH-nm

0.5R  
0.2  
0.5  
1.0  
SLIT-nm

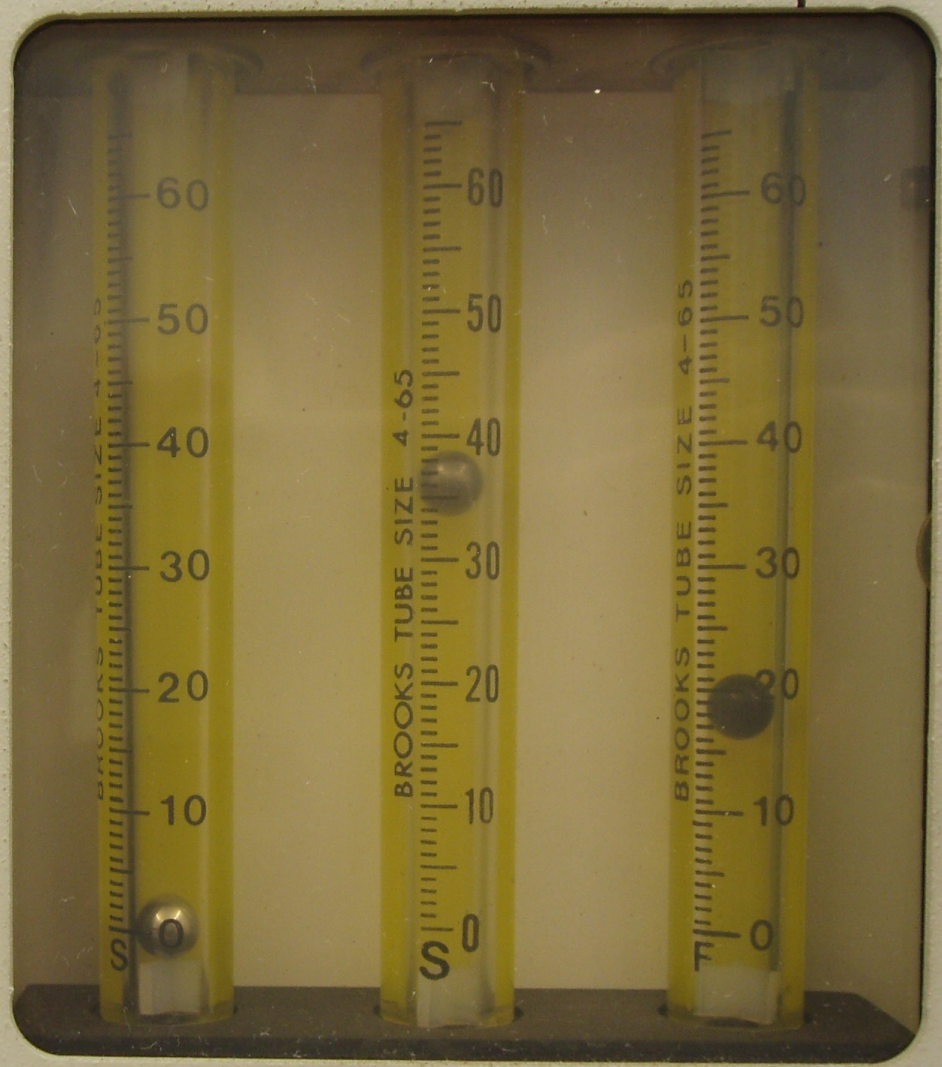
# P l y n y

acetylén

vzduch

oxid dusný ( $\text{N}_2\text{O}$ )





AUX SUPPORT GAS

SUPPORT GAS





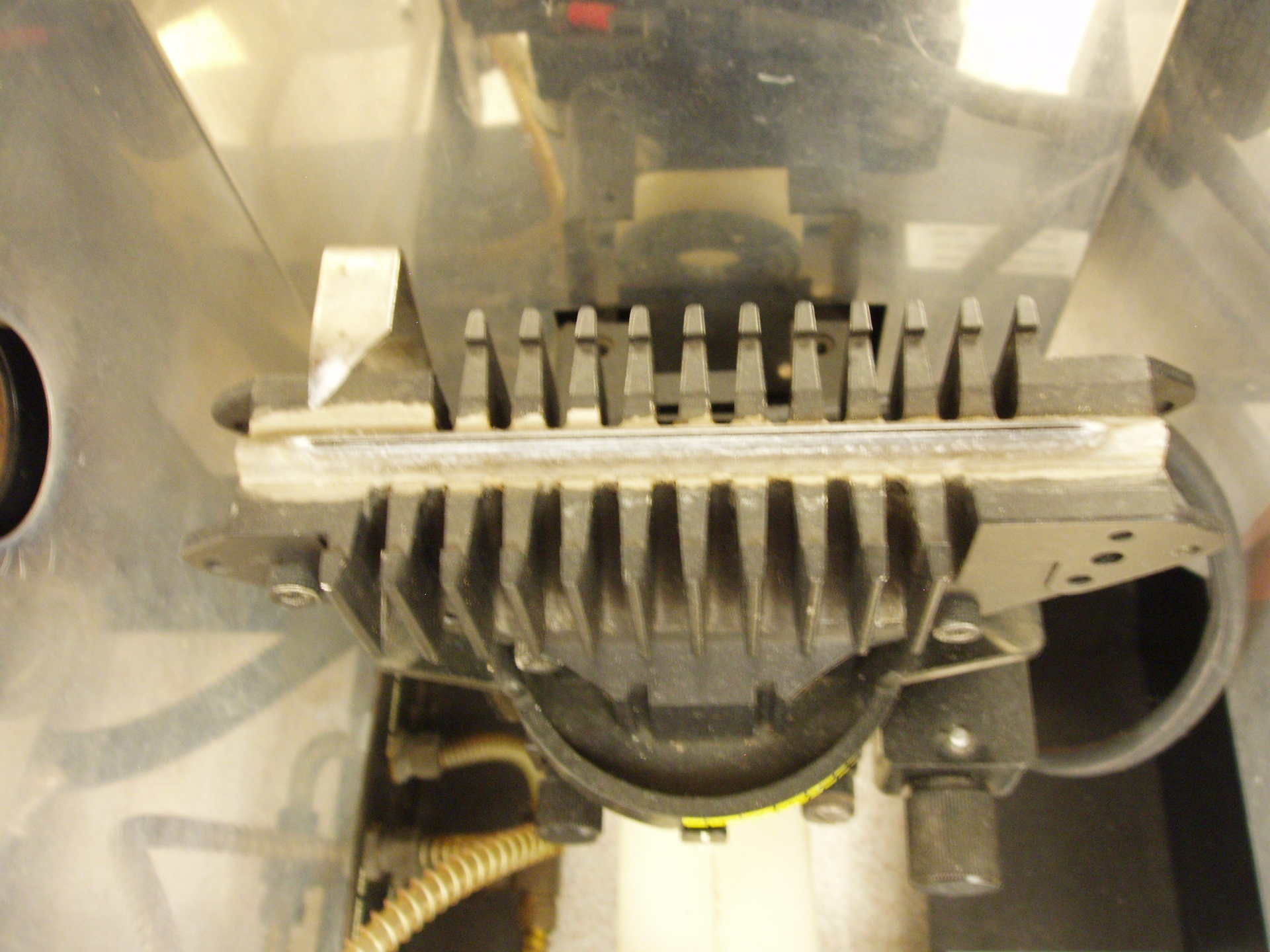
0.3 3

0° 30° 60°

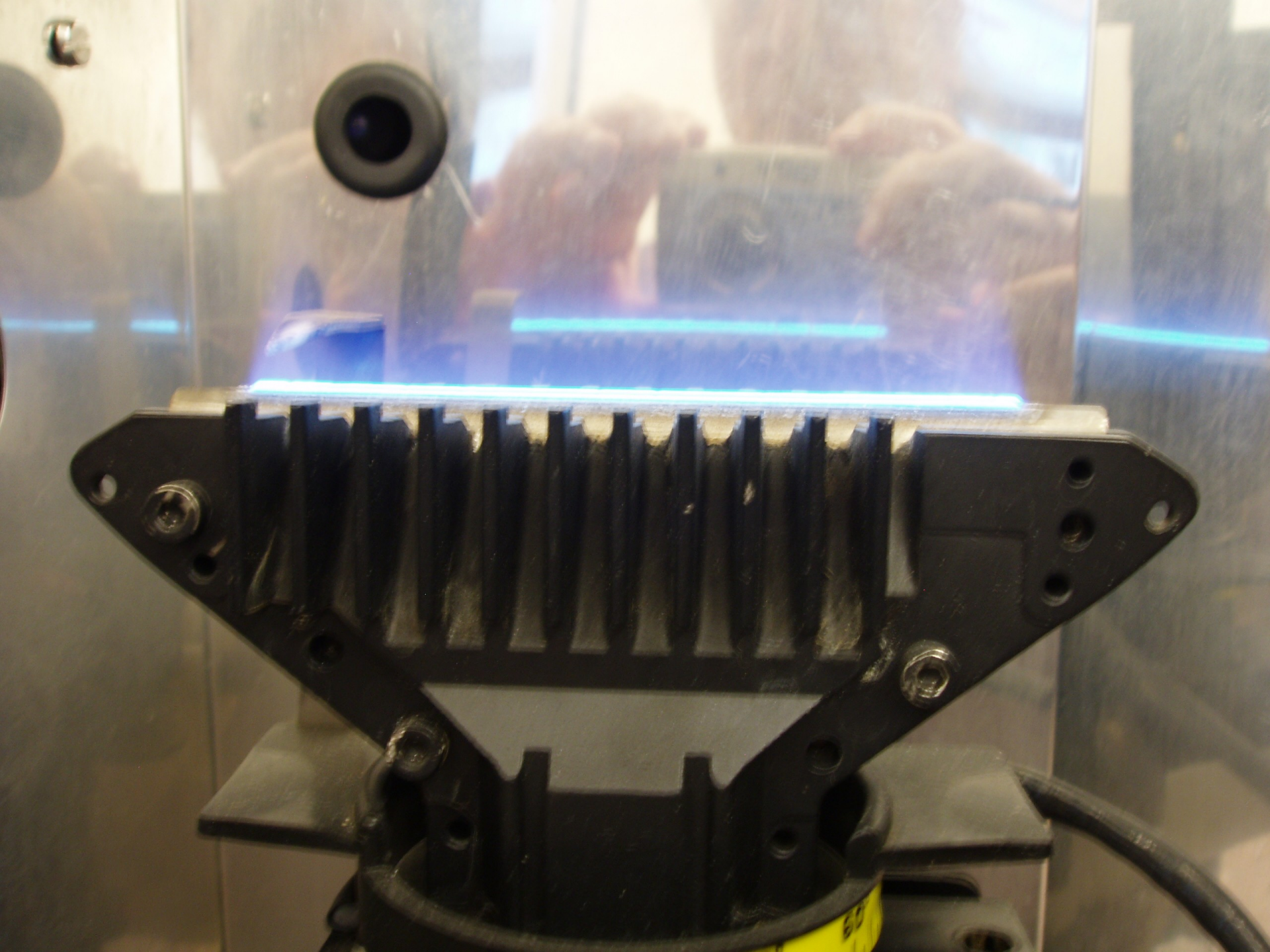


SEEK TO SECTION 4.3.3 OF THE INSTRUCTION MANUAL BEFORE LIGHTING FLAME

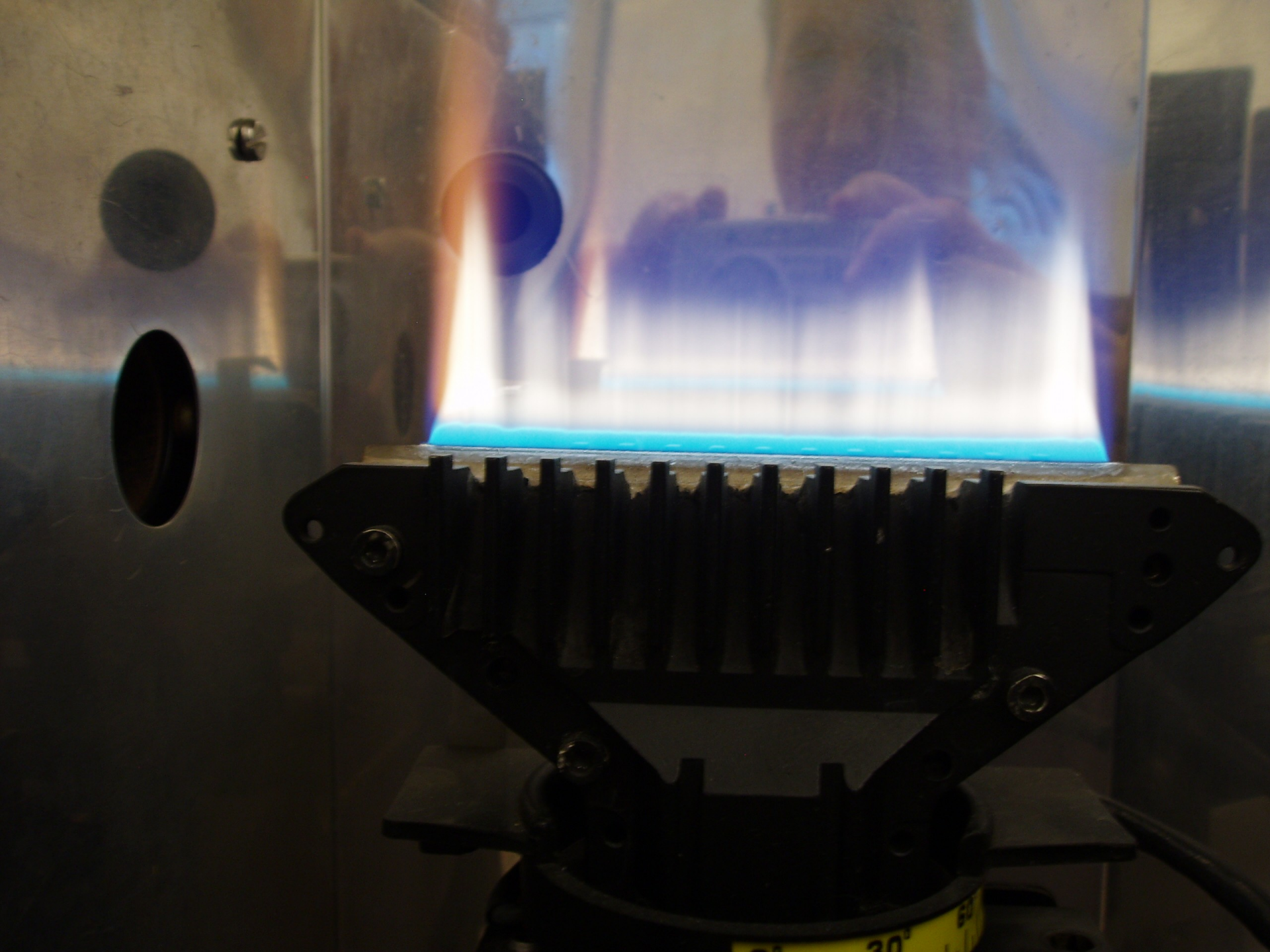








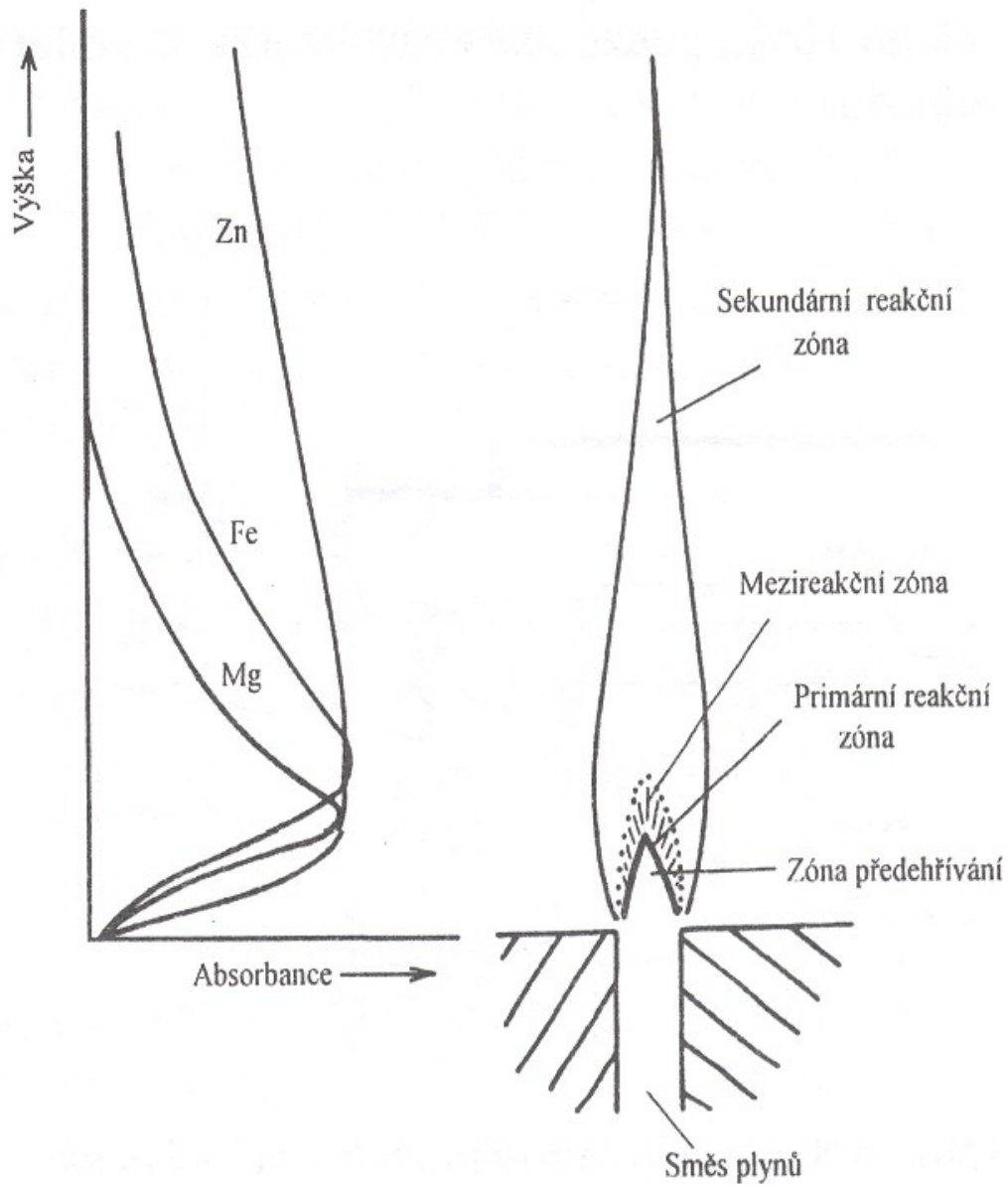








# Stechiometrie plamene





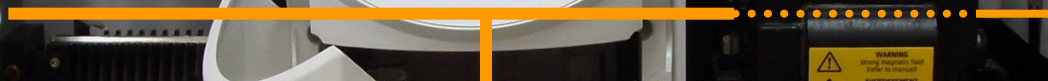








0.41	1.00	1.43	1.86	2.29
0.81	1.60	2.36	3.12	3.89
1.21	2.40	3.53	4.56	5.54
1.61	3.20	4.53	5.84	7.12

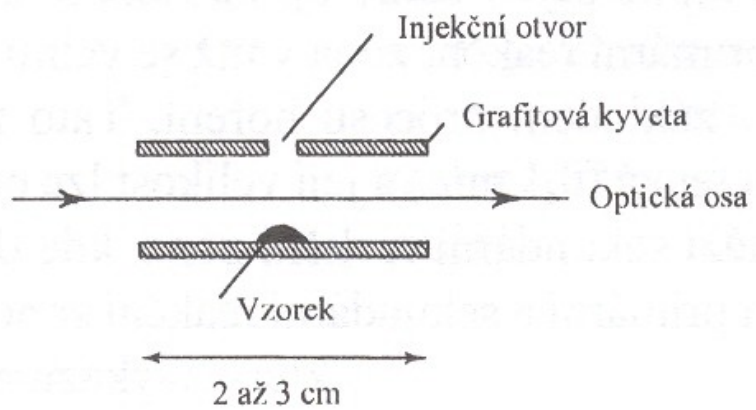
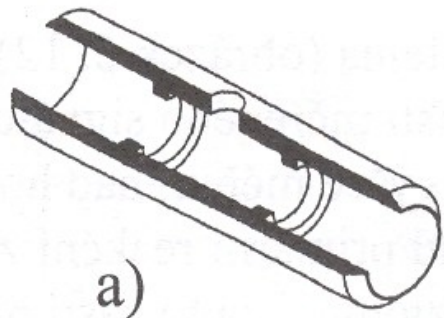


# Elektrotermická technika

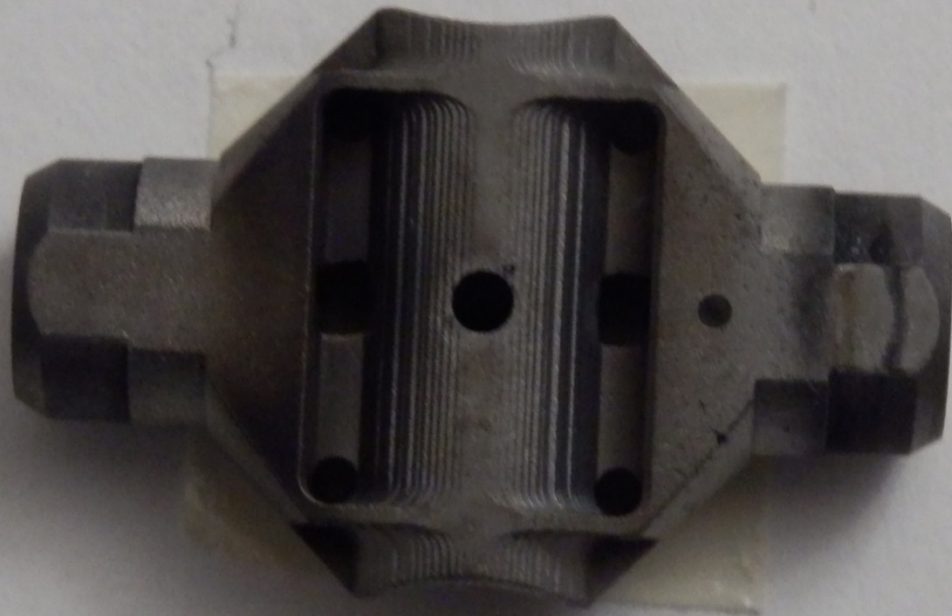
atomizace teplotou elektrické energie  
(grafitová kyveta)



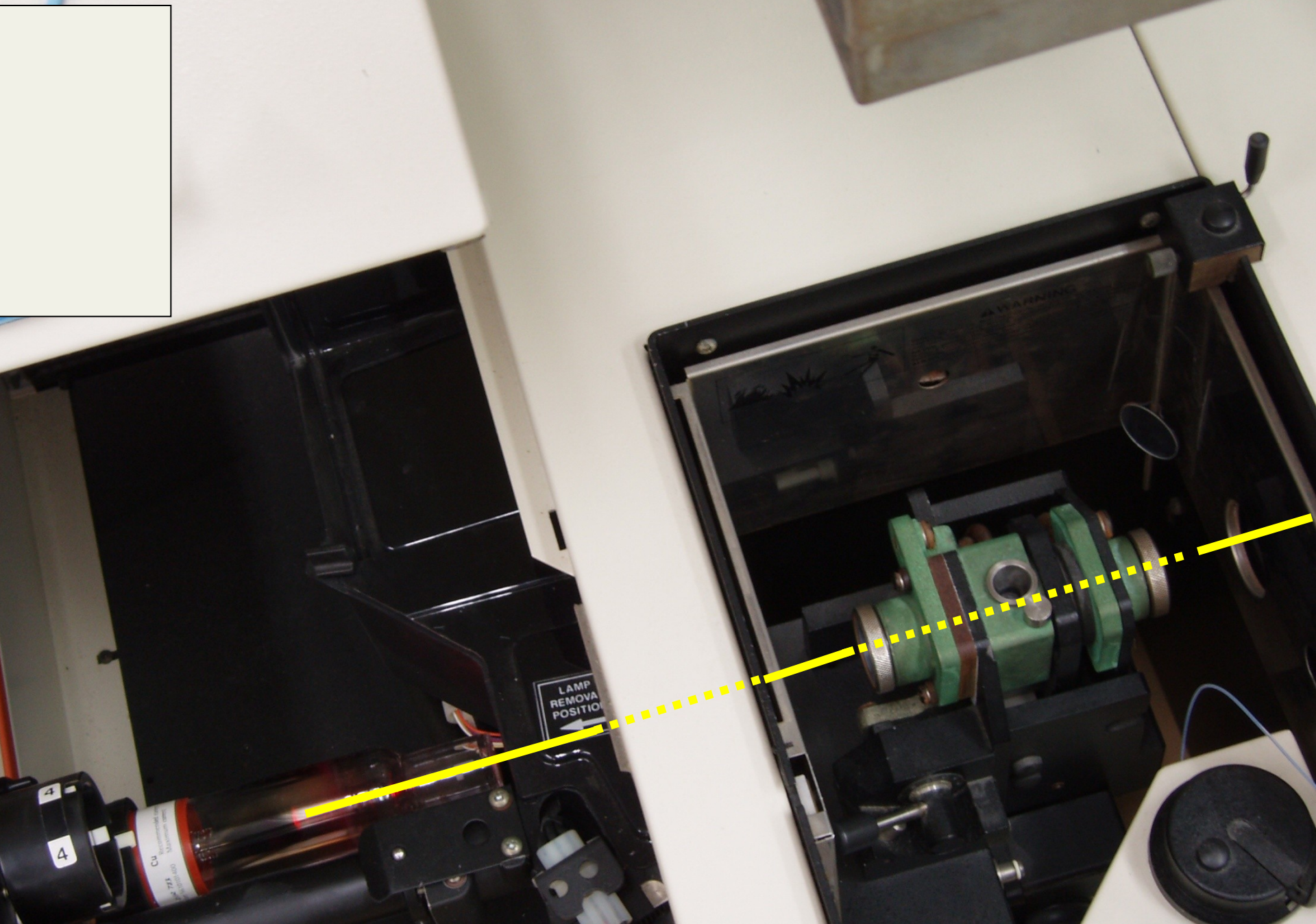
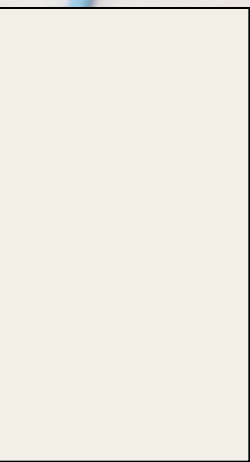












LAMP  
REMOVA  
POSITIO  
←

WARNING

CU  
773  
Maximum

4

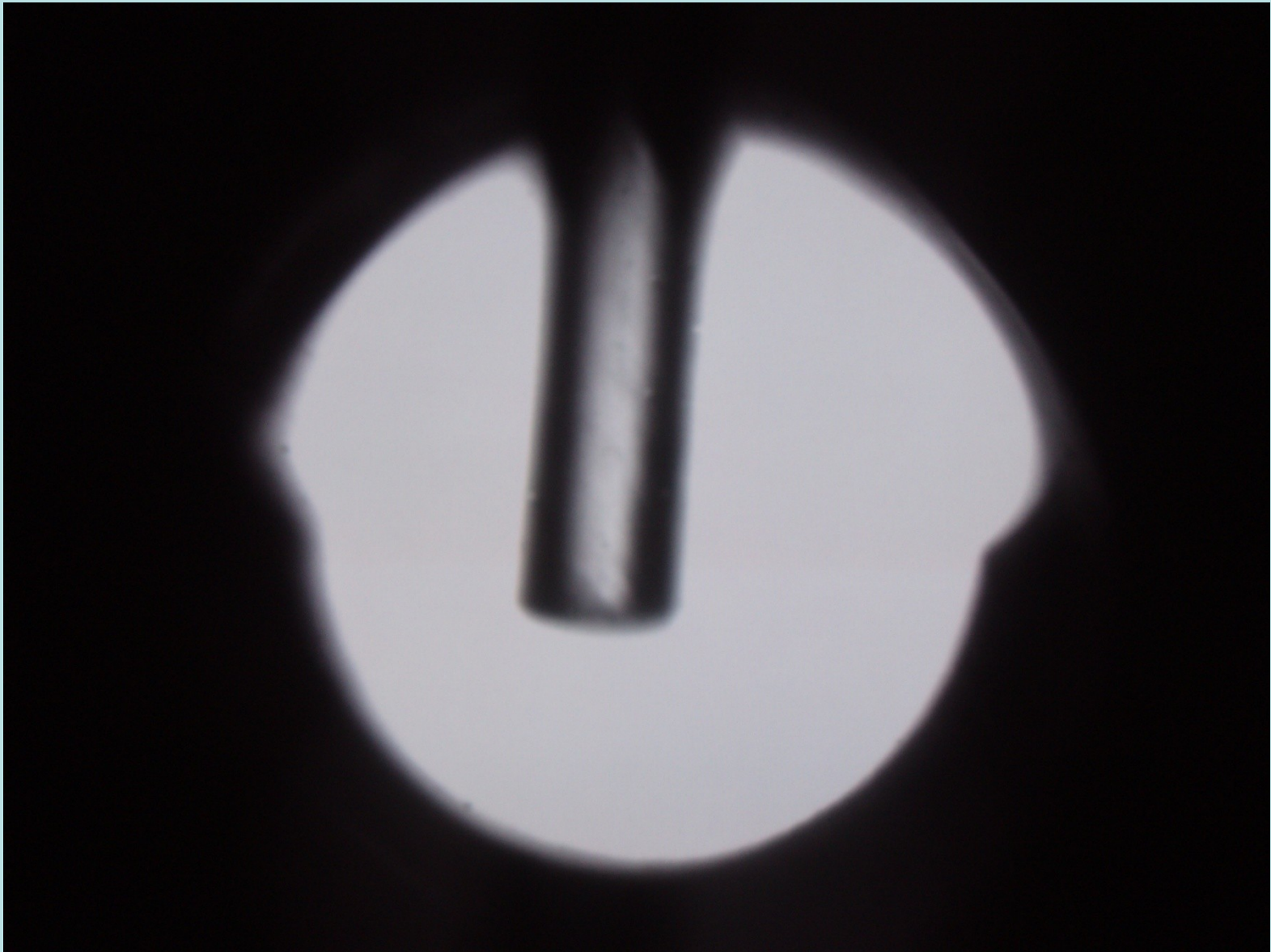
4





# Přídavná zařízení grafitové kyvety

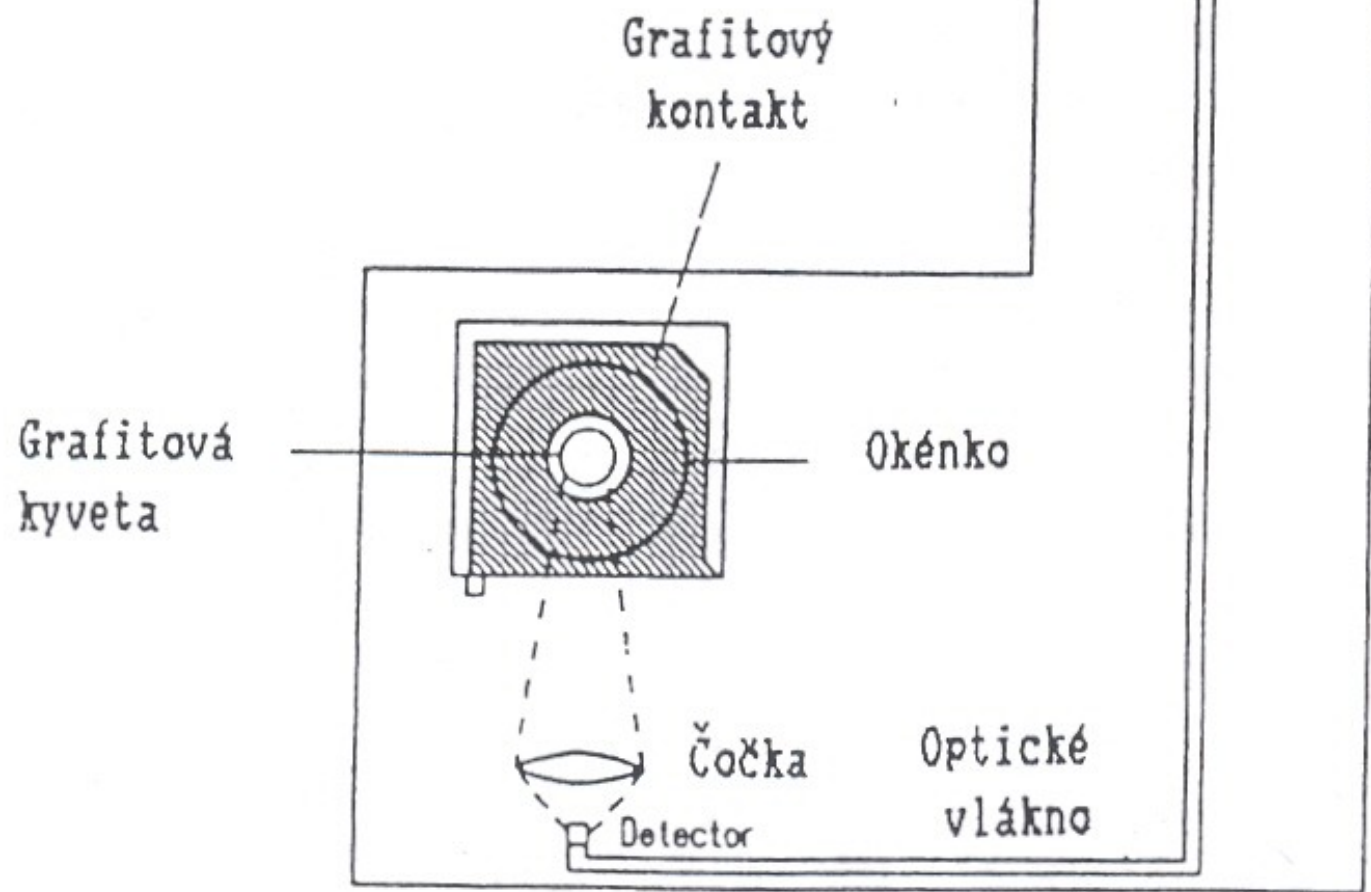
- Mikrokamera
- Přívod inertního plynu (argon)
- Pyrometr (křemíková fotodioda)
- Chladicí blok



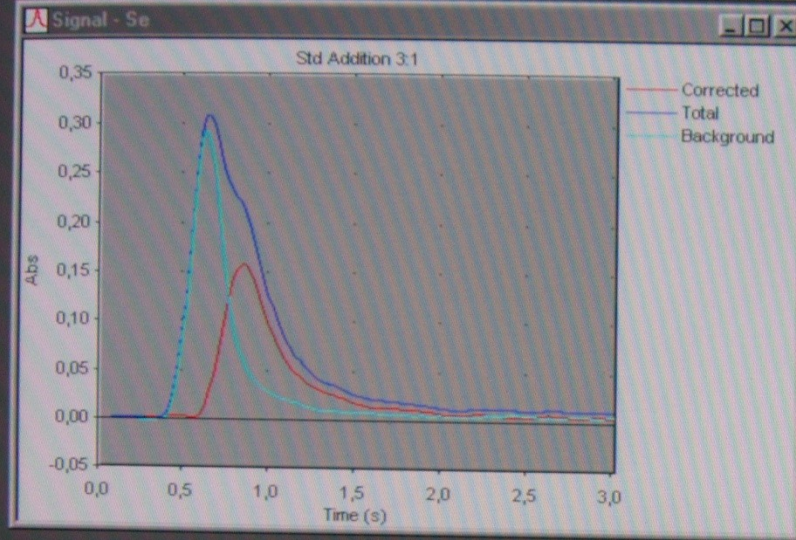




K detektoru do  
desky pro zdroje







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
<b>Analysis 85</b>			7:14:32	23.2.2006
<b>Se</b>	<b>Abs (Height)</b>	<b>%</b>	<b>µmol/l</b>	
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	
<b>Std Addition 3</b>	<b>0,1578</b>	<b>0,0</b>	<b>0,63</b>	
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



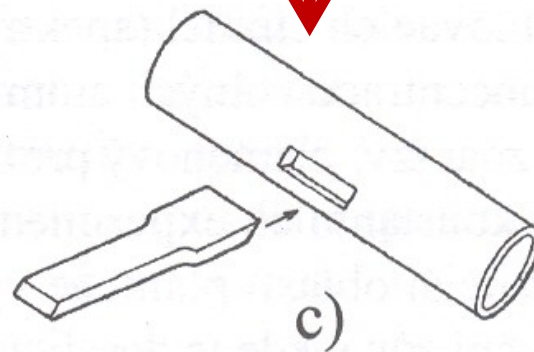
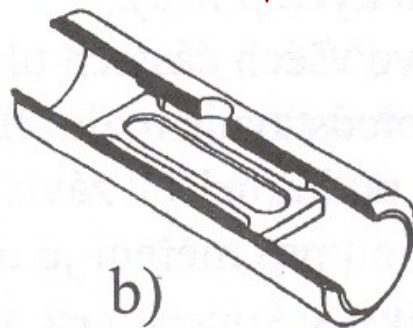


Teplotní režim grafitové kyvety

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



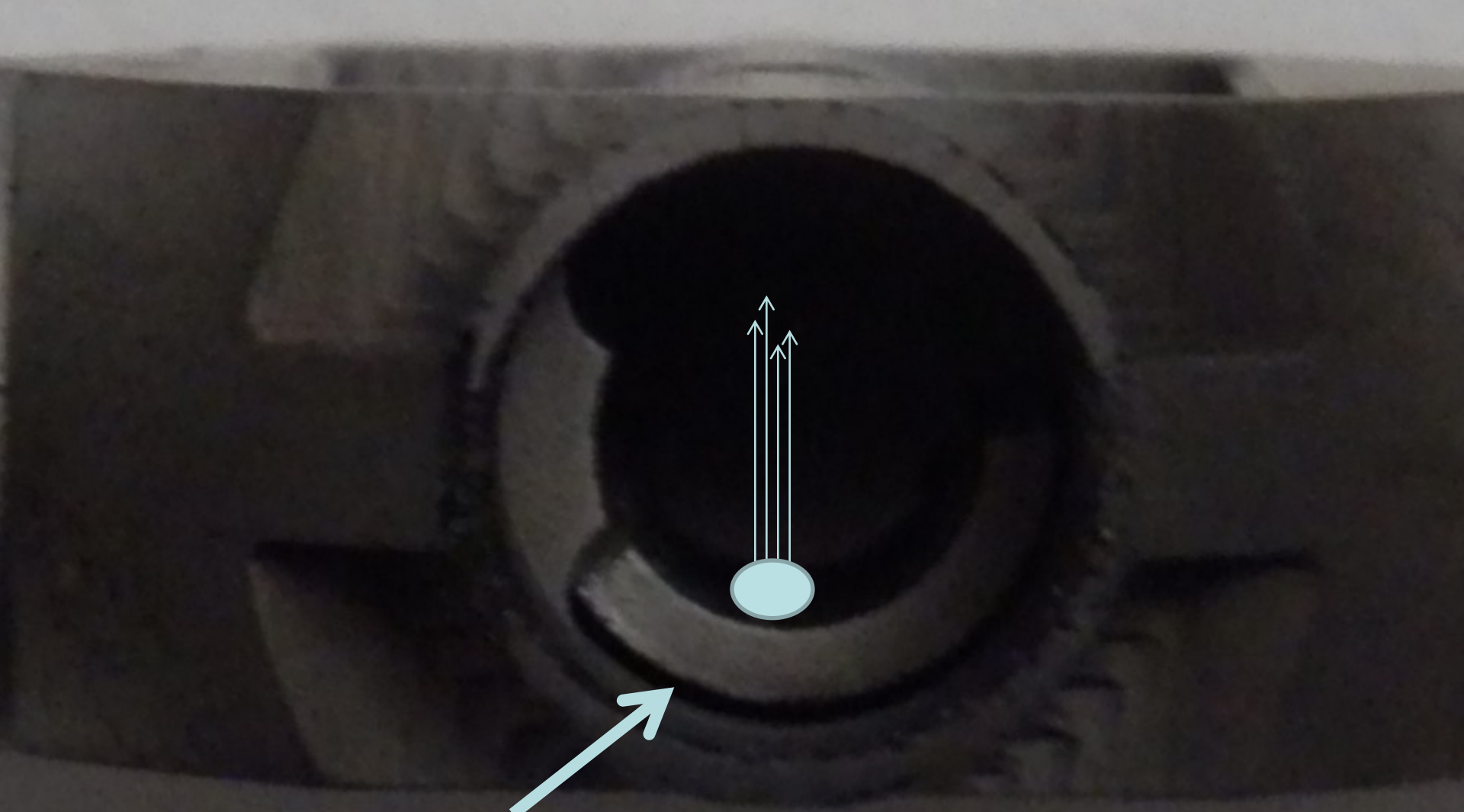
# Izotermická atomizace











Lvovská platforma



# Korekce pozadí při A A S

Deuteriová lampa

Zeemanův princip

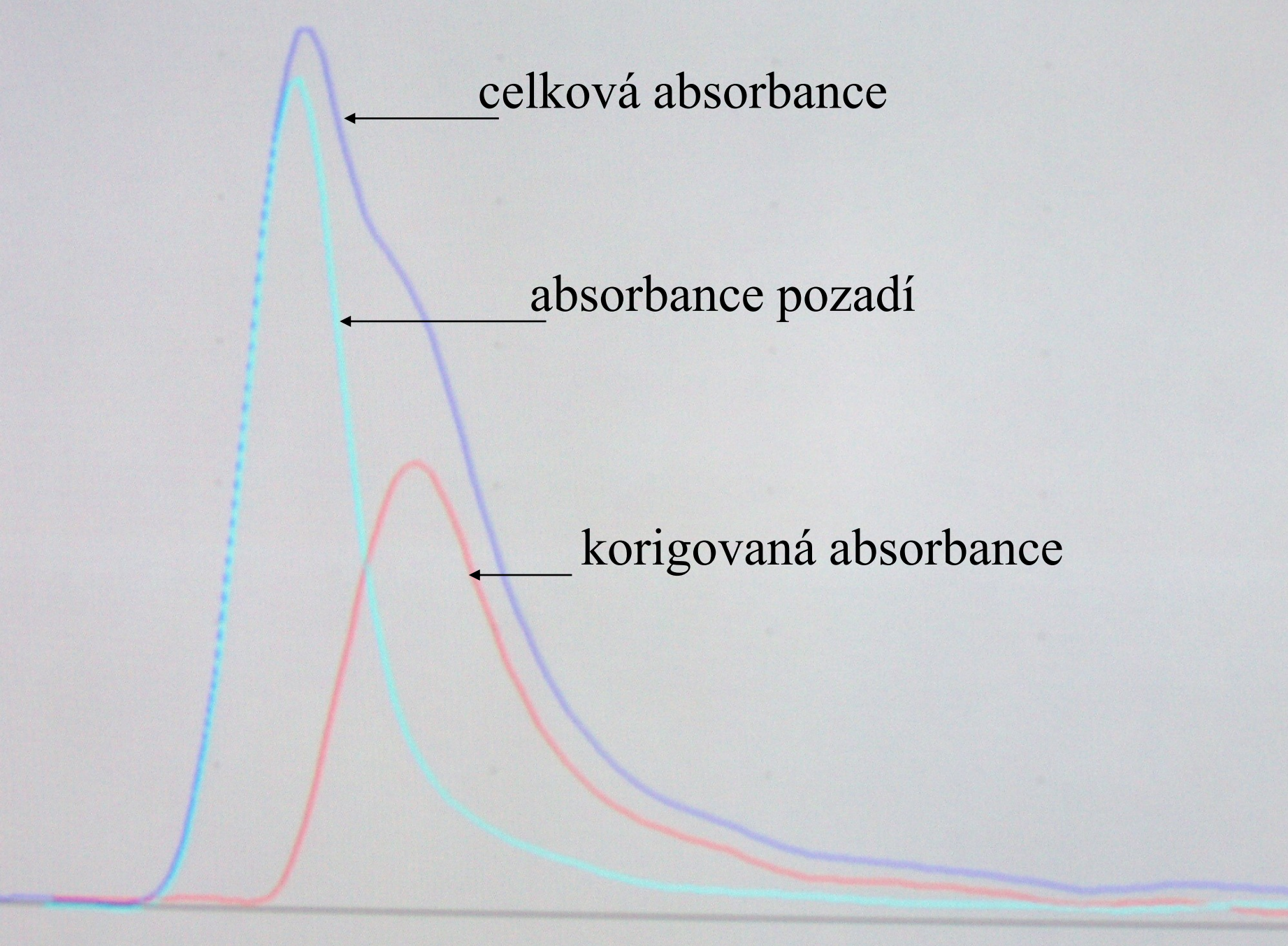
## ***Korekce pozadí*** pomocí zdroje kontinuálního záření (**deuteriová lampa**)

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

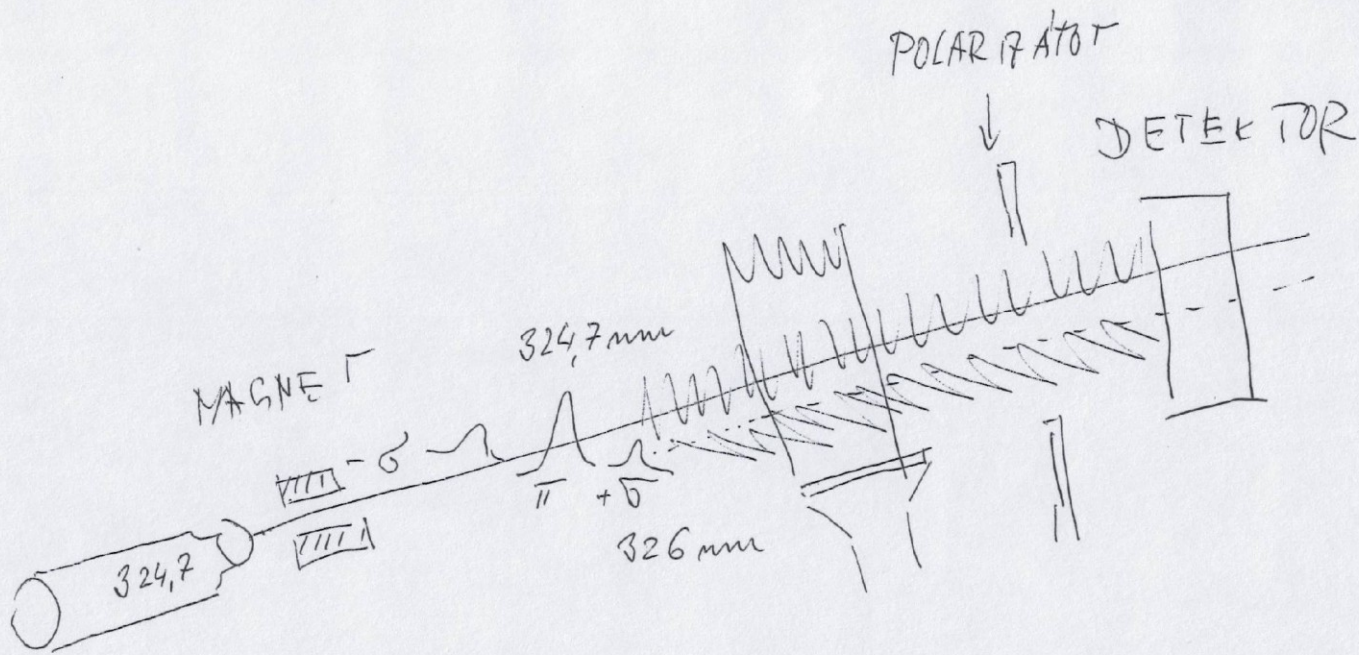
Silné magnetické pole působí částečné rozštěpení a posun vlnové délky paprsku vycházejícího z výbojky s dutou katodou

Původní vlnová délka zaznamenává specifickou i nespecifickou absorpci pozadí

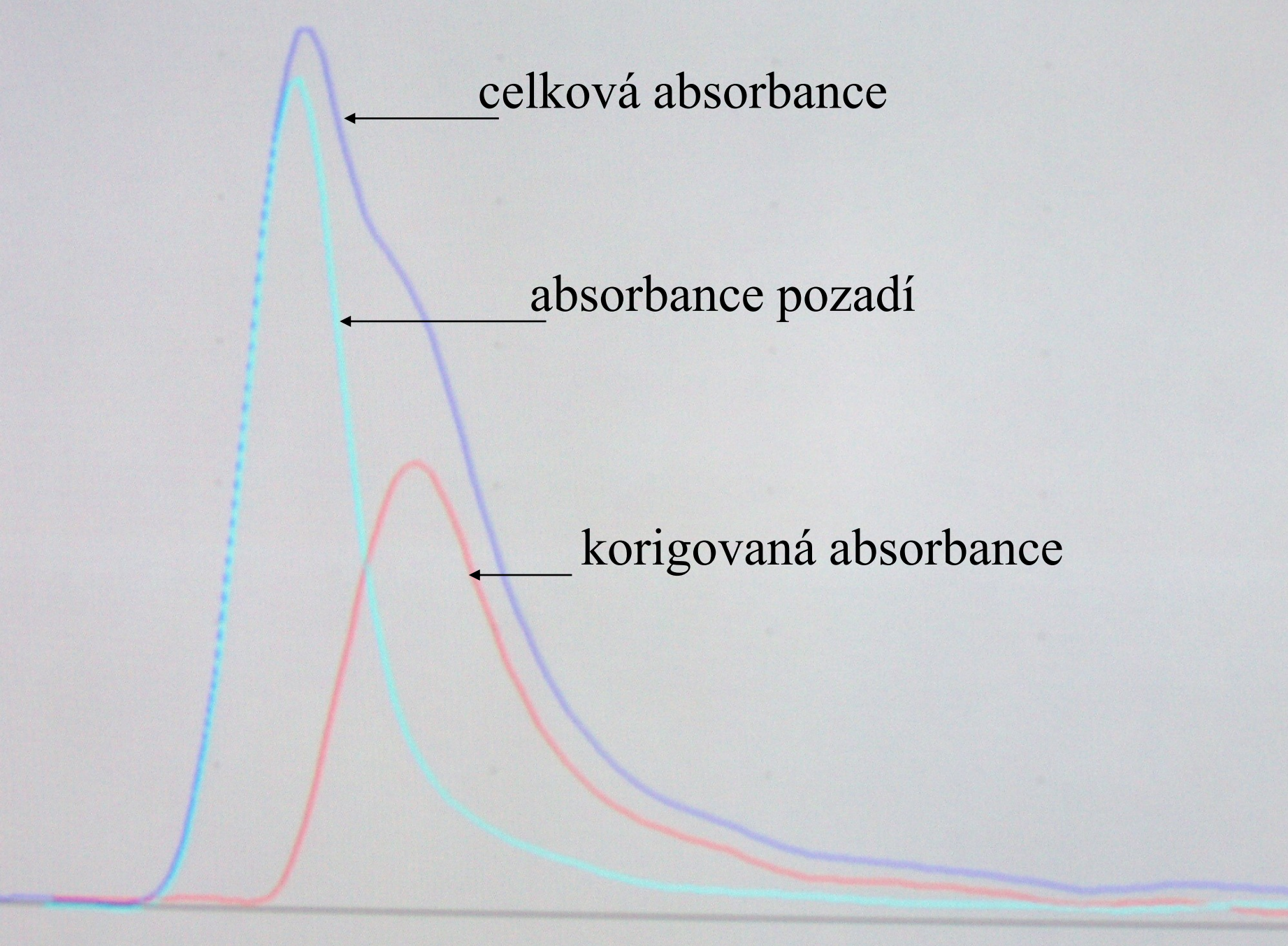
Odštěpená vlnová délka zaznamenává pouze nespecifickou absorpci pozadí

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









celková absorbance

absorbance pozadí

korigovaná absorbance



# 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<sup>+</sup> elektrony<sup>-</sup>

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.

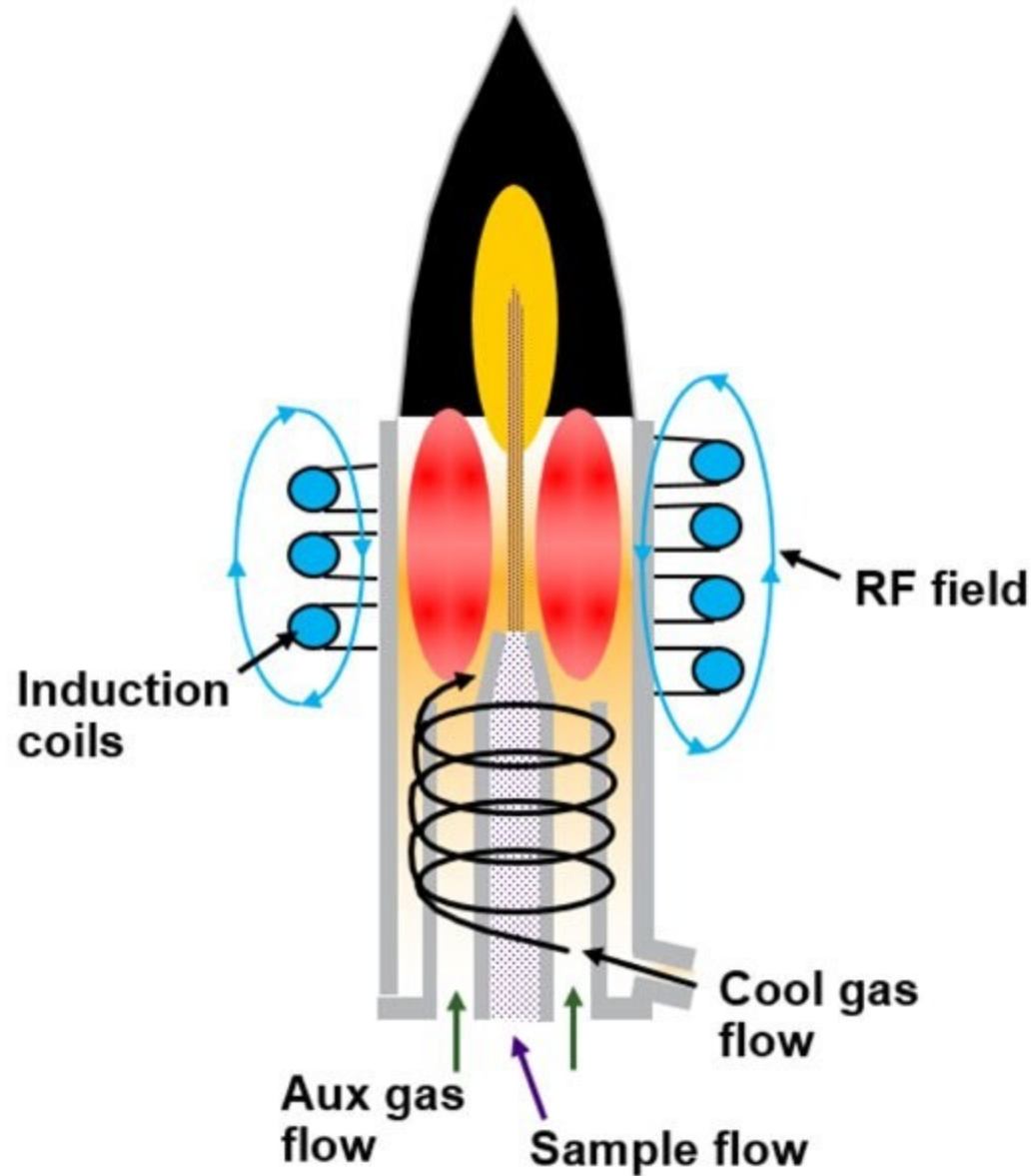
Jádra a elektrony Argonu v hořáku jsou ovlivněny elektromagnetickým polem a jsou urychlovány a srážejí se s dalšími atomy argonu. ....vzniká

**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

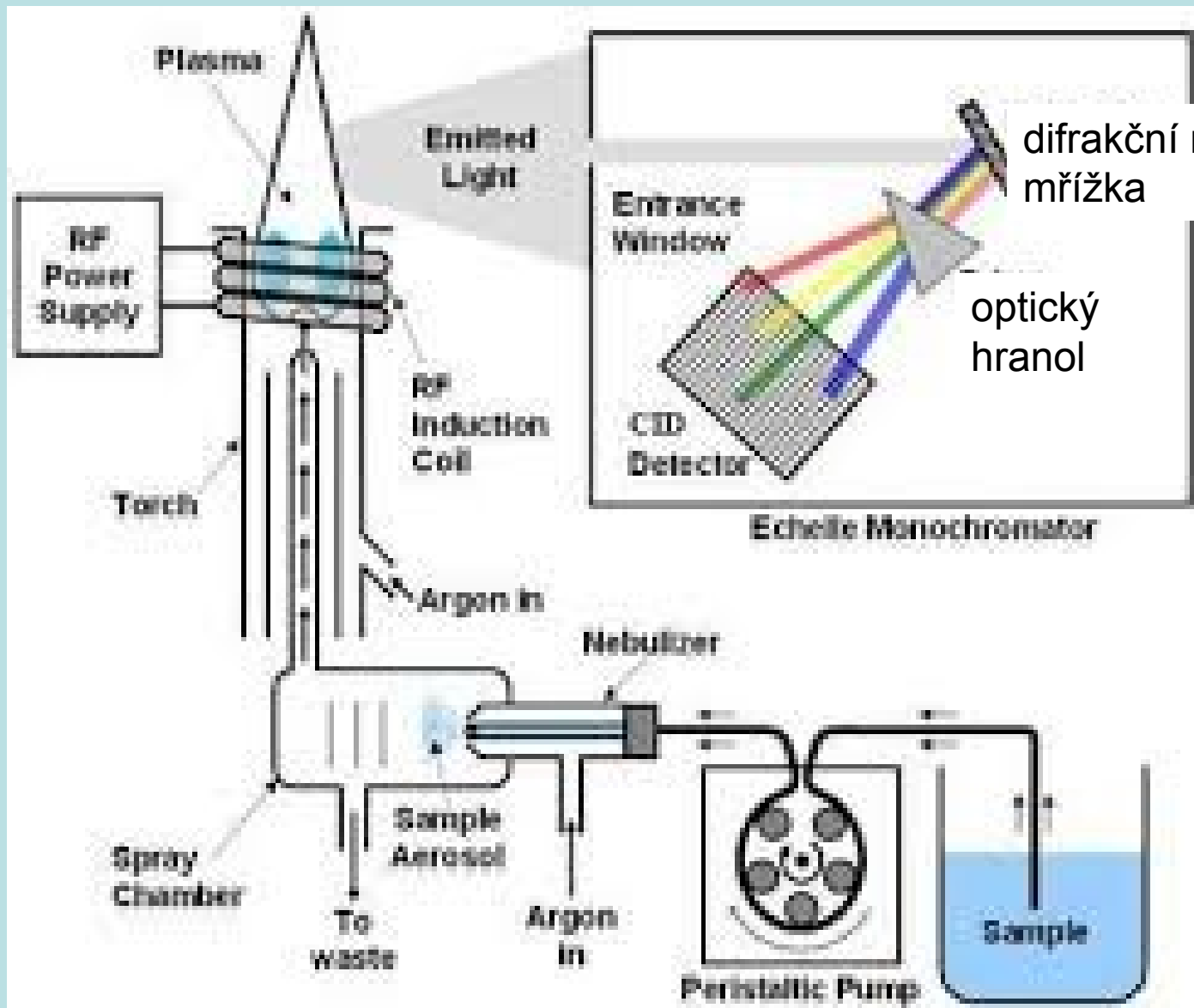
Optical  
Emission  
Spectrometry

# ICP - MS

Inductively  
Coupled  
Plasma

Mass  
Spectrometry





difrakční reflexní mřížka

optický hranol

Echelle Monochromator