

Handleiding AnalytikJena ContrAA 700 Flame Atomic Absorption Spectrometer

Universiteit Utrecht
Faculteit Bètawetenschappen
Departement Scheikunde
Scheikunde Practicum

juli 2009

Inhoudsopgave

1	Opstarten	3
2	Indeling software	3
3	Method	3
4	Sequence	7
5	Branderoptimalisatie	9
6	Meting	10
7	Analyse	11
8	Afsluiten	13

Opmerking vooraf

De ContrAA 700 AAS beschikt over een module voor het atomiseren van stoffen in een vlam (Flame, FAAS). Het apparaat heeft ook de mogelijkheid te atomiseren met een grafietoven, zie daarvoor de betreffende handleiding.

1 Opstarten

Als het goed is staan de AAS en de computer al aan. Zo niet, zet dan het apparaat aan met de groene schakelaar rechts aan de zijkant van het apparaat. Wacht hierna ongeveer 10 seconden met het opstarten van de software, want het apparaat heeft wat tijd nodig om te initialiseren.

Controleer ook of de gaskranen (naast de monitor van de AAS-computer) allemaal open staan. De leidingen voor argon en perslucht staan altijd open, maar die voor lachgas (N_2O) hoort op ongeveer 5 bar te staan, en die voor acetyleen (C_2H_2) op ongeveer 1,3 bar.

- Open het programma **ASpect CS** op het bureaublad van de computer.

Er verschijnt een scherm getiteld **Main Settings**. Hier kun je kiezen of je gebruik wilt gaan maken van de vlam of van de grafietoven.

- Vink onder het kopje **Technique** het vakje **Flame** aan. Klik daarna onder **Available accessories** op **Initialize**. Het apparaat gaat dan kijken welke onderdelen allemaal aanwezig zijn.
- Verander niets aan de andere velden en klik op **OK**.

Het openingsscherm opent zich met de titel **ASpect CS 1.4.0 Tech:Flame**.

2 Indeling software

Bij de bediening van het AAS-apparaat is het vaak alleen nodig de **Method** en de **Sequence** aan te passen. In de **Method** specificer je wat en hoe je wilt gaan meten: welke elementen, welke lijnen, welke branderinstellingen et cetera. Ook geef je hier aan of je eventueel gebruik maakt van een ijkreeks of standaardadditiereeks. De **Sequence** is een lijst met acties die het apparaat gaat uitvoeren, bijvoorbeeld het meten van een referentie, een ijkreeks en een aantal monsters, maar ook het uitschakelen van de brander en de lamp.

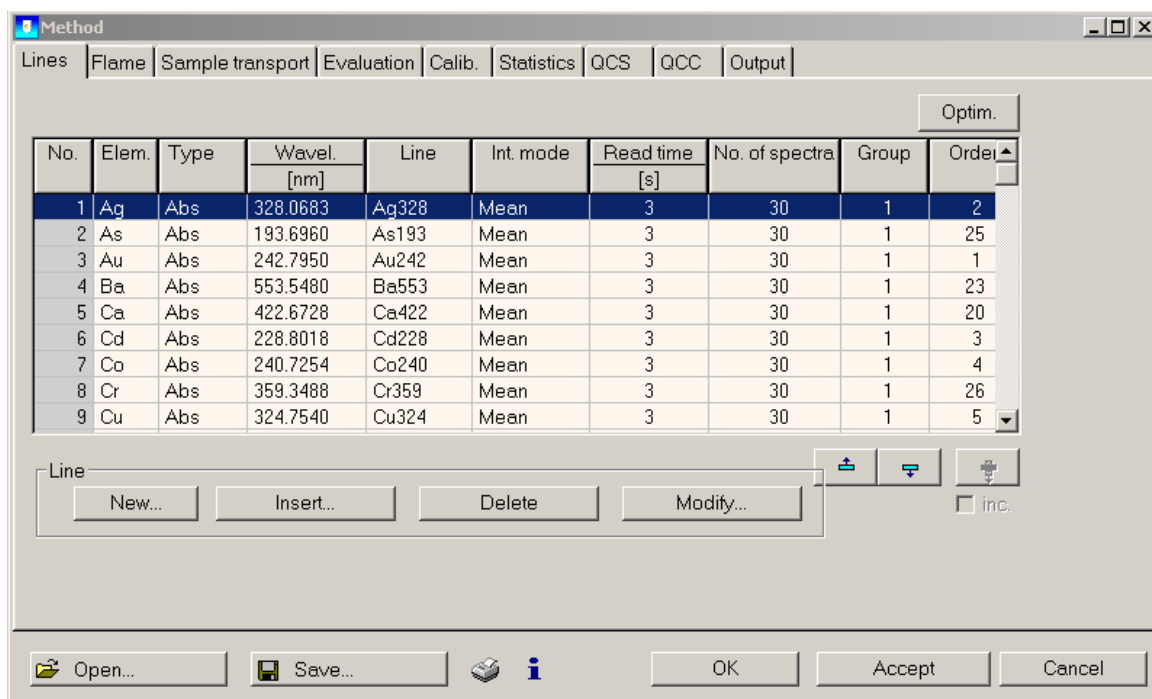
Het is zeer nuttig eens een kijkje te nemen in het **Cookbook**, dat je te allen tijde kunt oproepen door op het blauwe boekje in het midden van de taakbalk te klikken. Hierin staan van elk element geadviseerde meetcondities, golflengtes van de spectraallijnen en eventuele storende stoffen vermeld. Als je een reeks metingen hebt gedaan, analyseer je de betrouwbaarheid van de metingen met het onderdeel **Calibration**.

3 Method

In het **Method**-venster geef je aan wat je precies wilt gaan meten en hoe je dat wilt gaan doen.

- Klik in de balk helemaal links in het scherm op het icoontje **Method**.

Het kan zijn dat er al een goede methode gemaakt is voor de analyse die je wilt doen. Als je op **Open...** klikt krijg je een lijst te zien met eerder opgeslagen methoden. In veel gevallen zul je echter zelf een methode moeten aanmaken. Hieronder worden de belangrijkste tabbladen besproken.



Lines

Op het tabblad **Lines** kies je de elementen die je wilt gaan meten en de golflengten waar je dat bij wilt doen.

- Klik op **New**. Er verschijnt een scherm met het periodiek systeem. Klik op het element dat je wilt gaan meten. Rechts op het scherm komt dan een lijstje te staan met emissielijnen van dat element. Kies hierbij de lijn die je wilt gaan meten (de **P** staat voor 'primair', de **S** voor 'secundair'). Kijk in je voorschrift of bedenk zelf (eventueel met behulp van het Cookbook) welke lijn het meest geschikt is voor jouw meting.
- Je kunt ook bij meerdere golflengten achter elkaar meten door, nadat je een golflengte geselecteerd hebt, nog een element en emissielijn aan te klikken. Alle geselecteerde lijnen komen onder het periodiek systeem te staan (bijvoorbeeld Ag328 voor de emissielijn van 328,0683 nm van zilver).

Als je het periodiek systeem hebt weggeklikt, zie je in het **Method**-venster de geselecteerde lijnen staan. Als je veel elementen tegelijk gaat meten, is het handig om de meetvolgorde te optimaliseren door op **Optim.** te klikken. De meetvolgorde wordt dan zo aangepast dat de monochromator snel kan overschakelen tussen de golflengten.

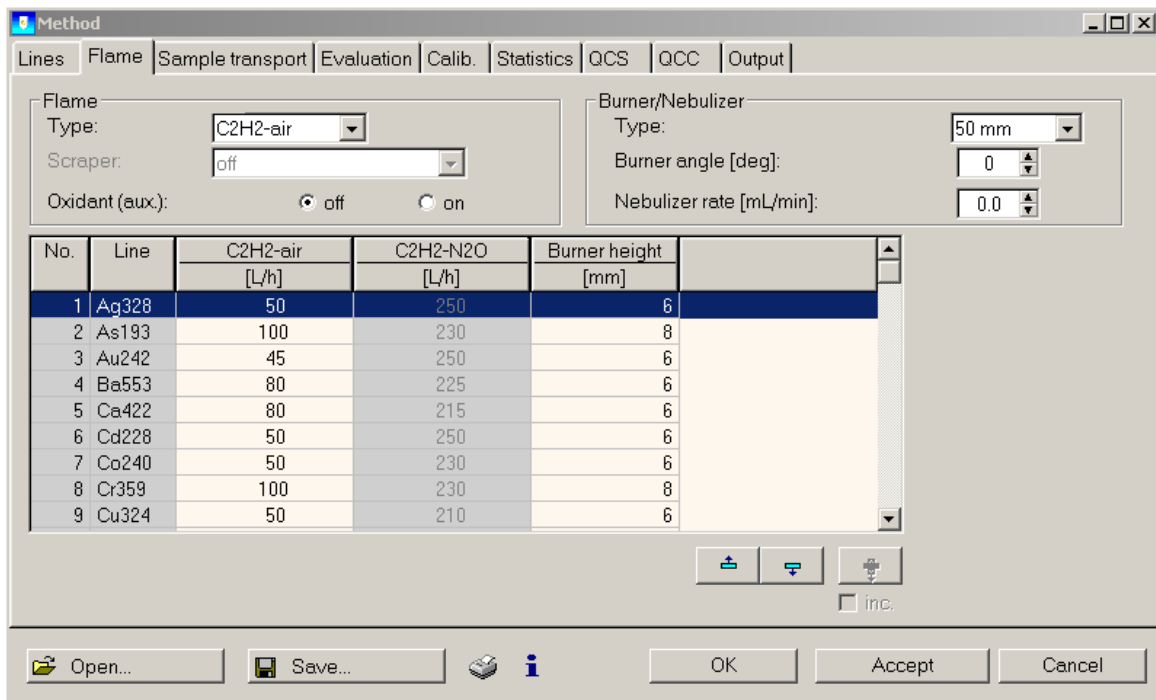
Flame

Op het tabblad **Flame** kies je de branderinstellingen voor je meting.

- In het vak **Flame** achter **Type** maak je de keuze tussen een acetyleen/lucht-mengsel (C_2H_2 -air) of een acetyleen/lachgas-mengsel ($C_2H_2-N_2O$) als brandstof voor de vlam. Voor veel elementen is een acetyleen/lucht-mengsel het meest geschikt, maar dit zul je moeten nakijken in het **Cookbook**.

Let op: je kiest de brandstof voor de hele methode. Je kunt dus niet wisselen tussen lachgas en lucht. Als je twee elementen wilt meten met verschillende brandstoffen, zul je twee aparte methoden moeten gebruiken.

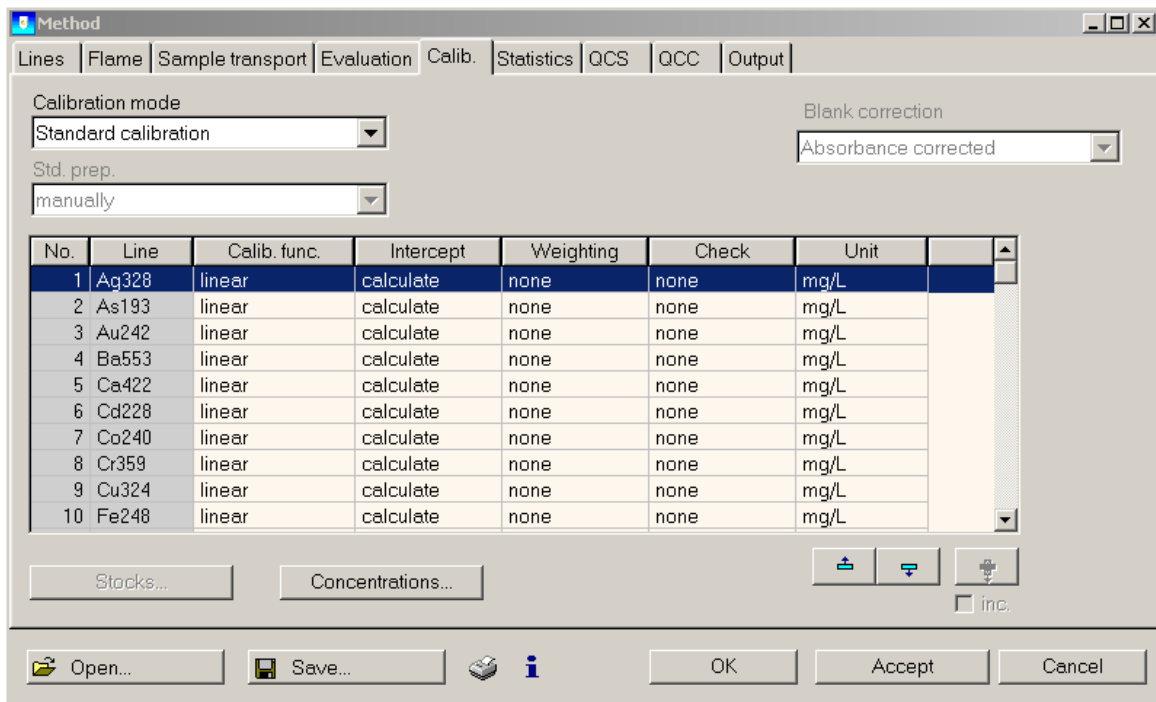
Op het tabblad **Flame** zie je ook de toevoersnelheid van de brandstof en de hoogte van de brander in de lichtbundel weergegeven. Deze parameters hebben grote invloed op de sterkte van het meet-sig-naal. Je kunt deze waarden op dit tabblad wijzigen, maar verstandiger is de brander automatisch



te laten optimaliseren. Zie daarvoor het onderdeel **Brander optimalisatie**.

Calibration

Op het tabblad **Calib.** stel je in op welke manier de concentratie van een monster bepaald gaat worden.



– Kies onder **Calibration mode** voor een van de calibratiemethoden:

No calibration

Er worden geen oplossingen met bekende concentratie gemeten. Deze instelling wordt alleen gebruikt als je puur kwalitatief wilt weten wat voor elementen er in je monster zitten.

Standard calibration

Het apparaat meet een reeks ijkoplossingen. Er wordt dan een ijklijn getrokken en de concentratie van van het monster kan worden uitgelezen bij de gemeten extinctie.

Method of additions

Er wordt een additiereeks gemaakt door aan steeds dezelfde hoeveelheid monster een toenemende hoeveelheid oplossing met bekende concentratie analyt toe te voegen. De concentratie analyt kan dan bepaald worden met de afsnede op de x-as van de ijklijn door de gemeten extinctiewaarden.

- Klik op **Concentrations...** om aan te geven hoeveel ijkoplossingen gemeten gaan worden en welke concentraties ze hebben. Met de pijltjes naast **Cal. standards** en **Cal-Zero** varieer je het aantal ijkoplossingen. **Cal-Zero** is de oplossing zonder de te meten stof, maar wel met dezelfde matrix als je monster en de andere ijkoplossingen. Het is dus je blanco, maar niet hetzelfde als de **Reference!** Als je in dit scherm al de juiste concentraties van de ijkoplossingen invoert, berekent het programma de concentratie te meten stof in je monsters. Je moet voor alle elementen en lijnen concentraties opgeven, en je ijkreeks moet ook alle opgegeven elementen bevatten.

Calibration Table

Cal. standards: 9 Cal-Zero: 1

	Type	Rec	Ca mg/L	Mg mg/L
1	Cal-Zero1		0	0
2	Cal-Std1	-	1	2
3	Cal-Std2	-	2	4
4	Cal-Std3	-	3	6
5	Cal-Std4	-	4	8
6	Cal-Std5	-	5	10
7	Cal-Std6	-	6	12
8	Cal-Std7	-	7	14
9	Cal-Std8	-	8	16
10	Cal-Std9	-	9	18

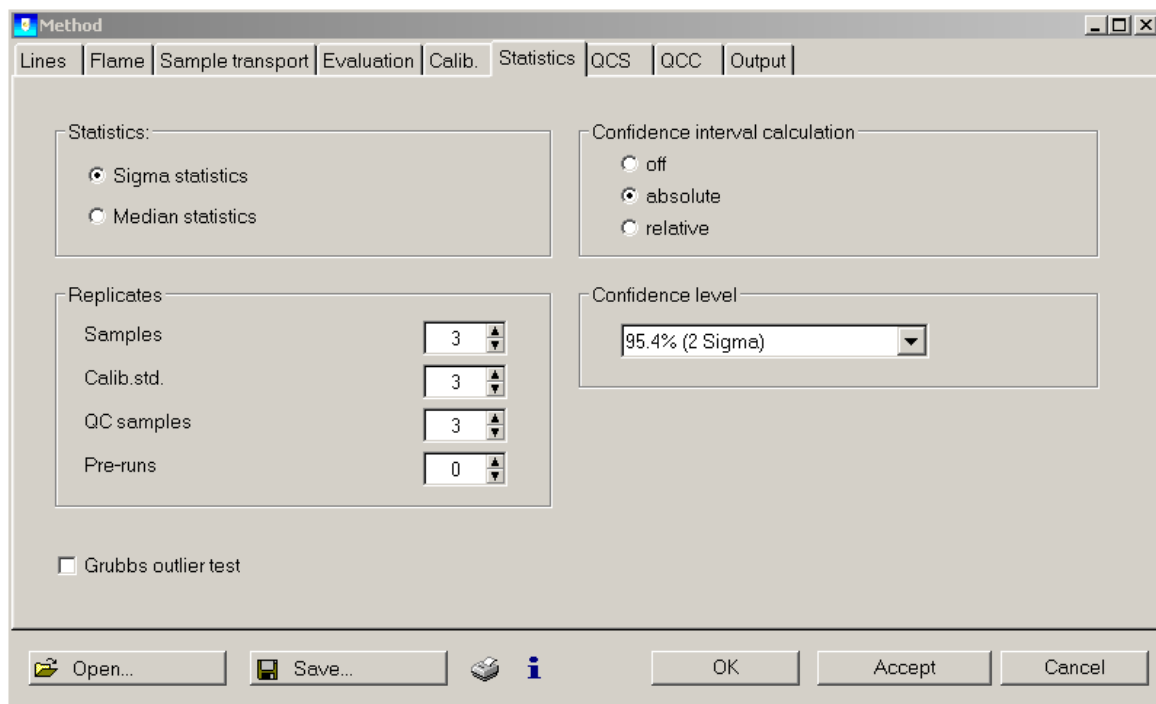
inc.

OK

Statistics

Op het tabblad **Statistics** kun je enkele parameters instellen die van invloed zijn op de betrouwbaarheid van je resultaten.

- Onder **Replicates** kun je het aantal extinctiemetingen instellen. Je eindresultaat wordt nauwkeuriger als je elke meting een paar keer herhaalt en een gemiddelde extinctie daarvan berekent. Als je de replicaties van metingen aan **Samples** en **Calib.std.** op 3 instelt, is dat in de meeste gevallen nauwkeurig genoeg.
- Het **Confidence level** kun je het beste instellen op 95%. Met dit betrouwbaarheidsinterval kun je bij de analyse van je meetresultaten bepalen of een punt beschouwd kan worden als



een uitschieter.

Opslaan

Als de methode helemaal goed ingesteld is, kun je hem opslaan. Zo hoef je niet alles weer opnieuw in te stellen (als de meting bijvoorbeeld mislukt is), maar kun je gewoon je eigen methode inladen.

- Klik in het **Method**-venster in een van de tabbladen op **Save...** Geef de methode een duidelijke naam! Vermeld in de naam de elementen die gemeten worden en de matrix (bijvoorbeeld "Ca kraanwater"), en zet in de **Description** je achternaam en eventuele overige bijzonderheden van je meting.

4 Sequence

In het **Sequence**-venster geef je een lijst met acties op die het apparaat gaat uitvoeren.

- Klik in de balk links in het beginscherm op het icoontje **Sequence**

In veel gevallen is er al een goede sequence gemaakt voor de analyse die je wilt doen. Als je op **Open...** klikt krijg je een lijst te zien met eerder opgeslagen sequences. Hier staan bijvoorbeeld een standaard sequence voor een ijkreeks met tien oplossingen en twee monsters (zie de beschrijving bij elke opgeslagen sequence). In sommige gevallen zul je echter zelf een sequence moeten aanmaken.

- Klik onder **Row** op **New** om een nieuwe rij in de sequence toe te voegen. Je ziet dan een lijst met acties die je kunt invoegen. Als je bijvoorbeeld een sequence wilt maken voor zes ijkoplossingen en twee monsters, dan klik je (met tussen elke stap **Accept**) in het scherm **Edit sequence**:

Reference

Begin ALTIJD met het meten van een **Reference**. Het apparaat gebruikt die meting om zijn detector op 0 te stellen. De referentievloeistof is altijd demiwater en hoeft niet hetzelfde te zijn als de eerste ijkoplossing van de ijkreeks **Cal-Zero** (die laatste is namelijk een zelfde oplossing als al je ijk- en monsteroplossingen minus de te meten stof).

Calibration

Als een methode gemaakt of geladen hebt en je selecteert **Calibration**, dan opent het programma automatisch de gegevens van de ijkreeks die je gespecificeerd hebt. Deze gegevens verschijnen in de rechterhelft van het venster.

Samples

Selecteer met de pijltjes het aantal monsters dat je wilt gaan meten, in dit voorbeeld twee.

Special action

→ **Idle time**

Na de meting van het laatste monster moet het aanzuigslangetje terug in demiwater worden gezet. Hiervoor voeg je een pauze van een minuut in de sequence. De vlam blijft dan branden, en de laatste restjes monster worden uit het systeem gespoeld of verbrand.

Special action

→ **Flame off**

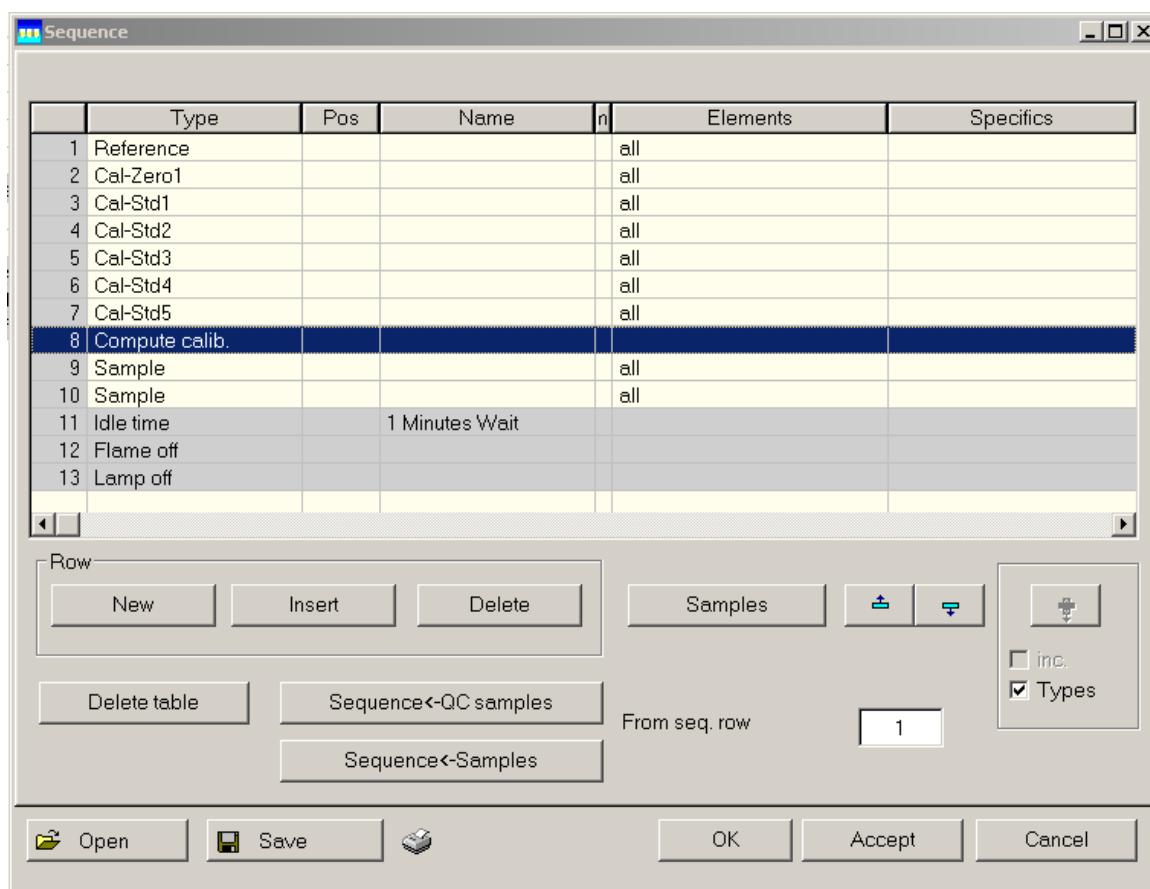
De vlam wordt gedoofd

Special action

→ **Lamp off**

De lamp wordt uitgezet

- Als je na het invoegen van de laatste actie het scherm wegklikt, zie je als het goed is onderstaande sequence staan.



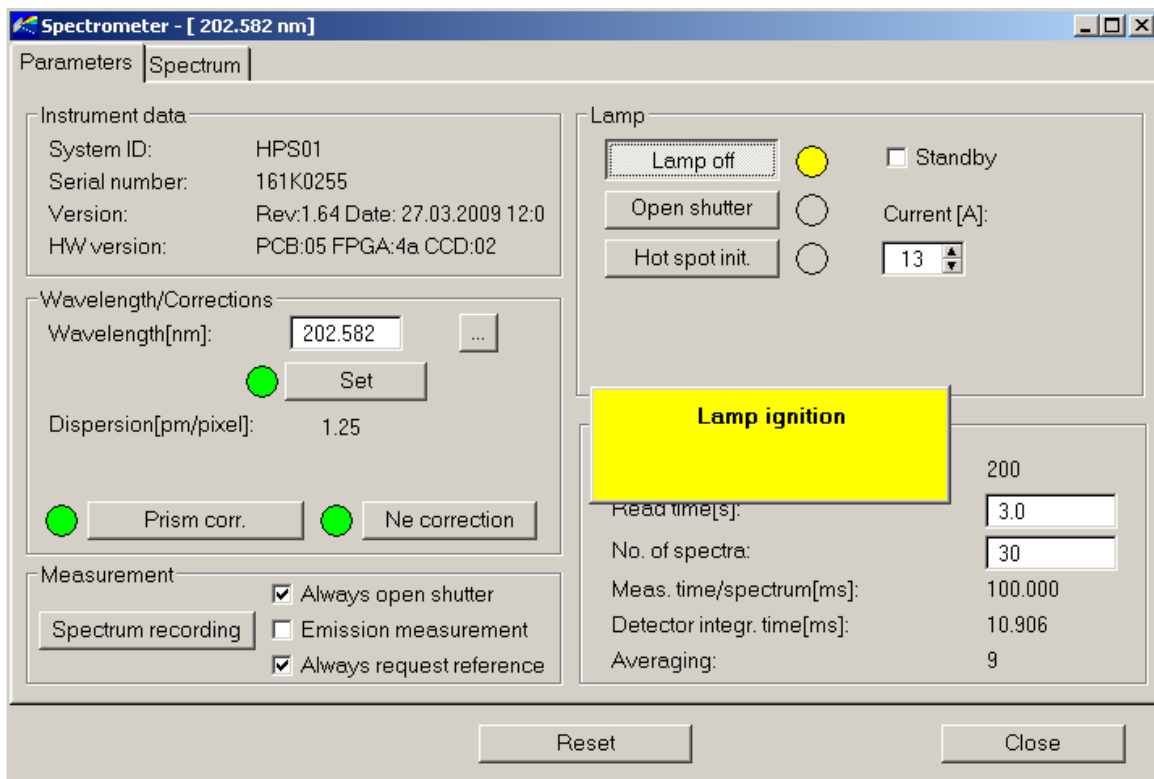
- Je kunt de sequence opslaan door op **Save** te klikken. Geef de sequence een duidelijke naam! Gebruik de afkorting 'pt' voor punt en 'mn' voor monster. De sequence die hierboven beschreven staat, heet dan "6pt2mn". Geef bij **Description** een volledige beschrijving van

de sequence, dus voor bovenstaande sequence: reference, 6 ijkoplossingen, 2 monsters, 1 min pauze, vlam uit, lamp uit.

5 Branderoptimalisatie

De extinctie die de detector meet hangt zeer sterk af van de samenstelling van het brandstofmengsel en de hoogte waarop de lichtbundel door de vlam gaat. In het **Cookbook** staan wel goede meetcondities vermeld, maar in de praktijk zijn de optimale meetomstandigheden zeer sterk afhankelijk van de matrix waar de te meten stof zich in bevindt. De sterkte van het signaal kan gerust een factor tien hoger worden als de brander bijvoorbeeld enkele millimeters omhoog wordt geschoven. Daarom is het nodig om de branderinstellingen te optimaliseren als je voor de eerste keer een experiment doet met een bepaald monster. Je gebruikt voor de optimalisatie een oplossing die een meetbare hoeveelheid van de te meten stof bevat, bijvoorbeeld een oplossing uit het midden van je ijkreeks. Zorg er wel voor dat je genoeg oplossing voorhanden hebt, want de optimalisatie kan in een ongunstig geval een paar minuten duren. Aan een ijkoplossing van 50 mL heb je meestal genoeg voor optimalisatie én een meting, maar het is veiliger om een aparte optimalisatieoplossing te maken.

- Zet eerst handmatig de lamp aan. Dit doe je door op het icoontje **Spectrometer** te klikken links in het beginscherm. Je krijgt dan onderstaand scherm te zien. Klik onder **Lamp** op **Lamp on**. Er verschijnt dan een gele rechthoek waar **Lamp ignition** instaat. Het kan enkele tientallen seconden duren voordat de lamp goed opgewarmd is. Als het gele schermpje verdwijnt, zijn er als het goed is alleen maar groene rondjes te zien in het **Spectrometer**-venster. Je hoeft verder niks te veranderen in dit venster. Druk op **Close**.



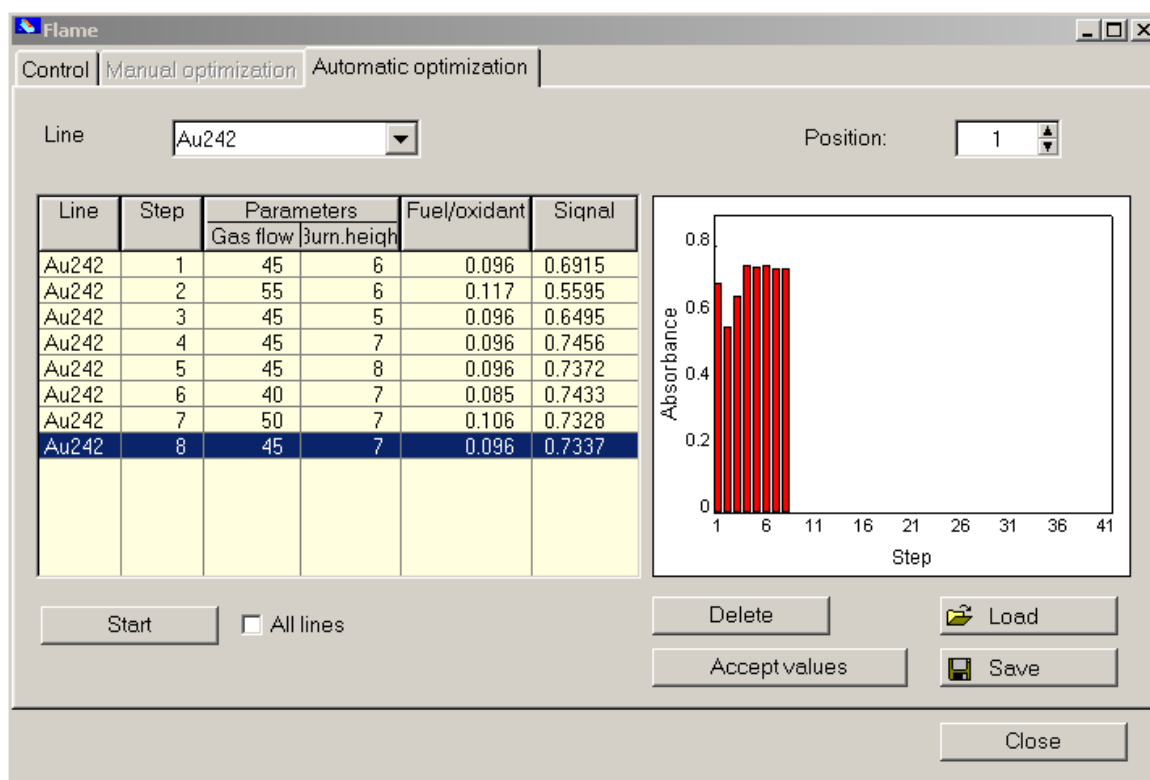
- Ga in het venster **Flame** (klik op het icoontje links in het beginscherm) naar het tabblad **Automatic optimization**. Kies achter **Line** het element en de lijn waar je de brander voor wilt optimaliseren. Het programma geeft alleen de lijnen weer die in de op dat moment geladen methode opgegeven zijn, dus zorg dat je eerst een goede methode maakt of laadt.

- Klik op **Start**. Het programma vraagt dan of je de geoptimaliseerde branderinstellingen in wilt voegen in de huidige methode, en of je ze wilt opslaan. Vink hier alleen het eerste hokje aan, en klik op **OK**.

De vlam wordt dan aangestoken. Het programma last dan een pauze van 30 seconden in (**Idle time**) zodat de vlam de tijd krijgt om stabiel en gelijkmatig te worden.

- Het programma vraagt je dan om het aanzuigslangetje in een monster (die natuurlijk het te meten element bevat) te plaatsen. Doe dit, en klik op **OK**.

Het apparaat gaat nu zelf de toevoersnelheid van het gas en de hoogte van de brander variëren, en noteert bij alle instellingen de sterkte van het signaal. Hij gaat net zo lang door tot hij geen verbetering meer kan vinden.



- Als de optimale instellingen gevonden zijn, kun je het venster sluiten. De instellingen zijn dan automatisch ingevoerd in de methode die op dat moment geladen was. Je moet nu de methode nog een keer opslaan, om te zorgen dat de instellingen meegenomen worden als er een volgende keer met die methode gemeten wordt. Als er in de methode meerdere elementen of lijnen tegelijk worden gemeten, kun je dit optimalisatieproces voor elk element of lijn herhalen.

6 Meting

Als je al het voorgaande in deze handleiding doorlopen hebt, kun je de meting gaan starten. Als het goed is staat de sequence die je aan hebt gemaakt of geladen in de linkerkolom van het grote beginscherm.

- Klik op de twee groene pijltjes helemaal links bovenin de taakbalk.



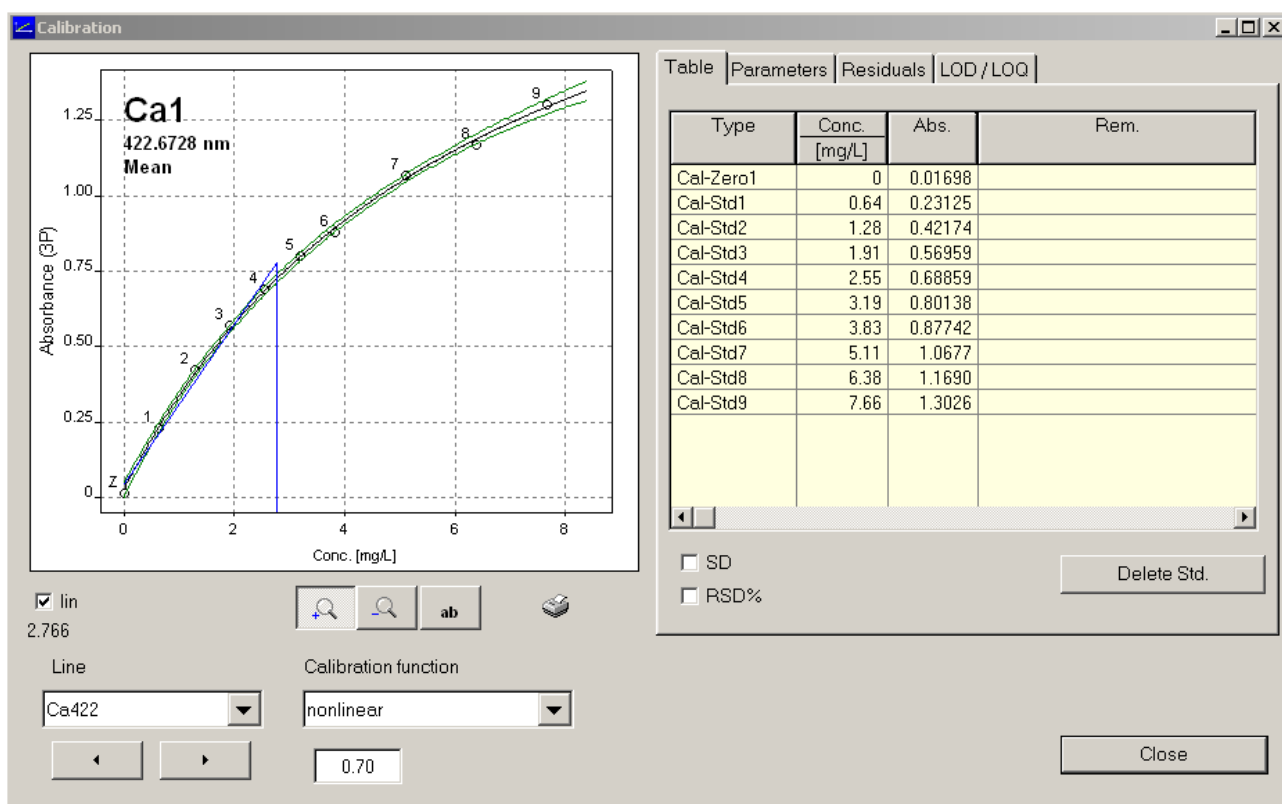
- Er verschijnt een venster **Start Sequence: 'naam van sequence'**. Geef de **Results file** een naam in de vorm **elementafkorting_matrix_naam_datum(dd_mm_jj)**, dus bijvoorbeeld Ca_leidingwater_PietjePuk_21_05_09 als Pietje Puk op 21 mei 2009 de calciumconcentratie in leidingwater bepaalt. Selecteer onder **Folder** de map **student** als locatie voor de resultaten.
- Klik op **OK**.

Het apparaat gaat nu de lamp inschakelen (**Lamp ignition**) en de vlam aansteken. De lamp heeft soms enkele tientallen seconden nodig om op te warmen en te stabiliseren. Als alles gereed is, verschijnt er een venstertje dat je vraagt om het opzuigslangetje in de **Reference** te plaatsen. Plaats dit slangetje in demiwater (vaak zit hij al in demiwater) en klik **OK**. Het apparaat zal vervolgens steeds een meting doen en je vragen het slangetje in de volgende oplossing plaatsen tot de hele sequence doorlopen is. Als je aangekomen bent bij de **Idle time** van een minuut, plaats je het opzuigslangetje terug in demiwater en wacht je tot de vlam en de lamp uit zijn.

7 Analyse

Tijdens het meten zijn er al extinctiewaarden van alle oplossingen verschenen in de rechterhelft van het grote beginscherm. Als je bijvoorbeeld het aantal replicaties op 3 hebt ingesteld, zie je achteraan in elke rij drie afzonderlijke extinctiewaarden (**Single values(Abs.)**), en onder **Abs.** het gemiddelde van die drie metingen. De software kan ook ijklijnen trekken en indicaties geven voor de betrouwbaarheid van je meting.

- Klik, na de meting, op het icoontje **Calibration** links in het scherm.



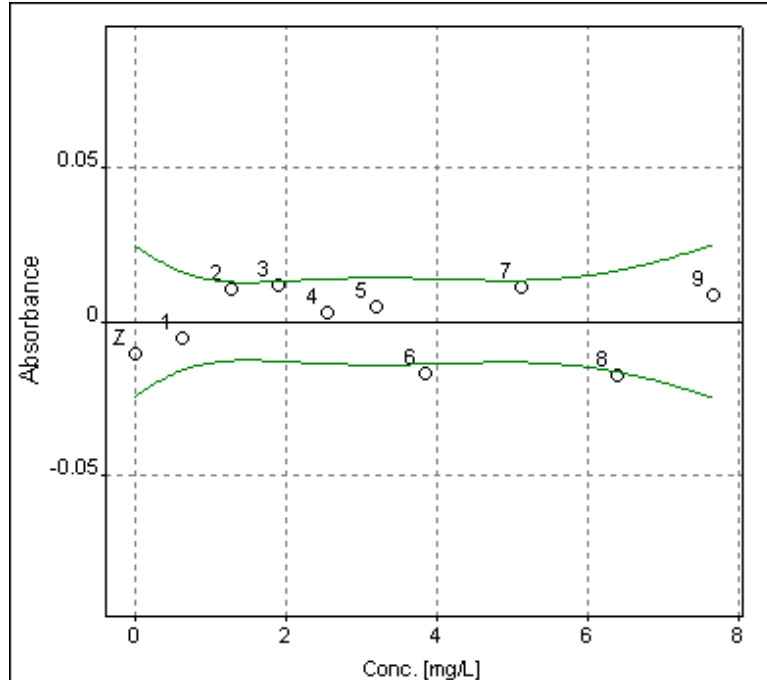
Links in het venster zie je de getrokken ijklijn. In dit voorbeeld is deze krom, wat bij AAS vrij vaak voorkomt. Een kromme ijklijn is in principe geen bezwaar, maar het is beter om je ijkreeks zo veel mogelijk in het lineaire gebied te laten vallen. Waar dit zogenaamde **lineaire werkgebied** ligt, kun je zien door linksonder het vakje naast **lin** aan te vinken. Er wordt dan een blauwe lijn getekend die

het lineaire werkgebied aangeeft, met onder het vinkje de bovengrens van dat gebied (in mg L^{-1}). Verder kun je onder **Calibration function** een rechte of juist kromme lijn forceren door je punten.

In het tabblad **Parameters** staan enkele gegevens van de getrokken ijklijn gegeven, met als belangrijkste de R^2 -waarde (maat voor de kwaliteit van de ijklijn) en de functie (in de vorm $y = ax+bx$ of $y = (a+bx)/(1+cx)$).

Table	Parameters	Residuals	LOD/LOQ
Calibration data			
$R^2(\text{adj.})$:	0.998826871		
Slope:	0.35826 Abs./mg/L		
Method SD:	0.08193 mg/L		
Char.conc.:	0.01217 mg/L/1%A		
$y=(a+bx)/(1+cx)$			
a=0.0277288	b=0.3624857	c=0.1524335	

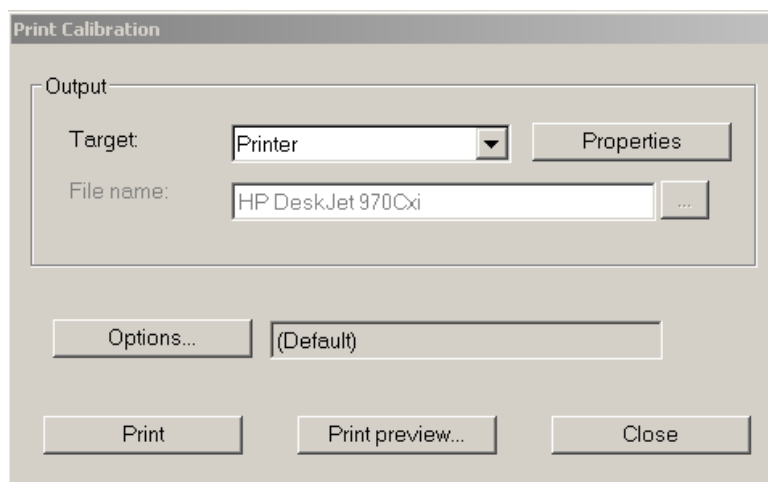
De twee groene lijnen naast de ijklijn geven het betrouwbaarheidsinterval van de lijn aan (de grootte van dat interval heb je ingesteld in de methode, waarschijnlijk 95 %). Je kunt bekijken of al je meetwaarden binnen het betrouwbaarheidsinterval liggen door het tabblad **Residuals** aan te klikken. Je ziet hier duidelijk welke punten mooi op de ijklijn liggen en welke niet. In dit geval wijken punt



6 en punt 8 bijvoorbeeld vrij sterk af van de trend door de andere punten. Je kunt kijken of de ijklijn sterk verbetert (door bij de **Parameters** te kijken) als je een of meer van dit soort punten weglaat. Dit doe je door op het tabblad **Table** een punt te selecteren en op **Delete Std.** te klikken. Dat punt wordt dan weggelaten en de ijklijn wordt opnieuw getrokken. Soms is een punt duidelijk een uitschieter en mag hij met goed fatsoen weggelaten worden. Ga met dit soort trucs echter wel verstandig om: als je de helft van je metingen moet weglaten om een redelijke ijklijn te krijgen, kun

je toch beter een nieuwe ijkreeks maken.

Je kunt de resultaten printen door in het **Calibration**-venster op het printericoontje te klikken.



Als je op **Options...** klikt, kun je aanvinken welke gegevens je allemaal geprint wilt hebben. Klik ook even op **Print preview** om te kijken of alles wat je wilt weten ook echt afgedrukt wordt. Soms is de laatste pagina praktisch leeg en staat er bijvoorbeeld alleen de datum op. Laat het printen van die pagina dan ook achterwege. Als alles is zoals je het wilt hebben, klik dan op **Print**. De gegevens worden dan afgedrukt op de printen direct achter het AAS-apparaat.

8 Afsluiten

- Laat geen oplossingen/labjournaals/tissues achter bij het apparaat.
- Zorg dat het opzuigslangetje in een erlenmeyer of bekeerglas met demiwater hangt.
- Laat het apparaat aanstaan, laat de gaskranen open en sluit de software niet af.