

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ДЬЯКОВ АЛЕКСЕЙ ОЛЕГОВИЧ

РАСШИРЕНИЕ АНАЛИТИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ЗЕЕМАНОВСКОЙ
ААС С ЭТА НА НОВОМ ПРИНЦИПЕ ЛИНЕАРИЗАЦИИ
ДИНАМИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА

Специальность 02.00.02 – аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор физико-математических наук,
профессор, Львов Борис Владимирович

Санкт-Петербург - 2014

Оглавление

Введение.....	5
ГЛАВА 1. Градуировочные кривые в Зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии.....	10
1.1. Зеемановская атомно-абсорбционная спектроскопия.....	10
1.2. Факторы, влияющие на форму концентрационной кривой.....	13
1.3. Влияние различных факторов на величину уровня обращения.....	15
1.3.1. Немонохроматичность линий излучения и поглощения.....	17
1.3.2. Самообращение аналитической линии.....	18
1.3.3. Наличие в спектре источника не абсорбируемой радиации.....	21
1.3.4. Неоднородность распределения атомов в поглощающем слое.....	24
1.4. Расширение динамического диапазона в ААС.....	27
1.4.1. Использование систем дозирования (автодозаторов).....	28
1.4.2. Использование альтернативных линий.....	29
1.4.3. Трехполевой режим Зеемановского корректора.....	31
ГЛАВА 2. Влияние различных факторов на параметры Зеемановской концентрационной кривой.....	35
2.1. Влияние неоднородности распределения атомов в атомизаторе.....	35
2.2. Влияние неоднородности распределения излучения в ЛПК.....	39
2.3. Повторяемость определения уровня обращения.....	42
2.4. Наличие в спектре источника излучения не абсорбируемой радиации.	44
2.4.1. Одноэлементная и многоэлементная ЛПК на Cr.....	44
2.4.2. Лампа с полым катодом и ВЧ лампа на Cd.....	56
2.4.3. ЛПК на Cd с неоном и аргоном.....	60
2.5. Выводы к главе 2.....	63

ГЛАВА 3. Линеаризация градуировочных графиков в Зеемановской ААС с ЭТА.....	64
3.1. Алгоритм линеаризации.....	68
3.2. Экспериментальные условия.....	75
3.3. Результаты.....	77
3.4. Выводы к Главе 3.....	88
ГЛАВА 4. Усовершенствование алгоритма линеаризации.....	89
4.1. Теория.....	90
4.2. Выбор калибровочного раствора.....	92
4.3. Процедура проведения измерений.....	93
4.4. Результаты.....	96
4.5. Линеаризация в условиях реального анализа.....	107
4.6. Изменение формы аналитического сигнала.....	114
4.7. Использование техники линеаризации при анализе проб тканей и жидкостей животного происхождения.....	118
4.8. Выводы к главе 4.....	122
ГЛАВА 5. Оценка предела обнаружения.....	124
5.1. Ошибка измерения малого интегрального абсорбционного сигнала...	126
5.2. Влияние неселективного поглощения на точность измерения малого сигнала абсорбции.....	129
5.3. Процедура измерения.....	130
5.3.1. Зависимость фотометрической ошибки от параметра E	130
5.3.2. Определение зависимости напряжения на ФЭУ от интенсивности света.....	131
5.3.3. Изучение зависимости фотометрической ошибки от величины неселективного поглощения.....	133
5.3.4. Определение предела обнаружения.....	134

5.3.5. Зависимость фотометрической ошибки от интенсивности света и величины неселективного поглощения.....	136
5.3.6. Пределы обнаружения для водных растворов.....	139
5.3.7. Влияние матрицы на величину предела обнаружения.....	141
5.3.8. Алгоритм оценки величины предела обнаружения.....	144
5.3.9. Практическое применение алгоритма оценки предела обнаружения.....	148
5.4. Оптимизация условий определения содержания кадмия в крови.....	153
5.4.1. Влияние объема дозировки.....	154
5.4.2. Увеличение чувствительности.....	155
5.4.3. Условия измерения.....	156
5.5. Выводы к главе 5.....	162
Заключение.....	163
Список литературы.....	165

Введение

Зеемановская атомно-абсорбционная спектроскопия с электротермической атомизацией (Зеемановская ААС с ЭТА) широко используется для анализа образцов со сложной матрицей и позволяет достигать низких пределов обнаружения при высокой надежности результатов измерения. Высокая чувствительность, относительная простота метода и умеренные эксплуатационные расходы способствуют широкому распространению данного метода анализа, применяемого в аналитической практике при исследовании различных объектов в промышленности, экологии и других областях науки. Представление о распространенности данного метода дает тот факт, что подавляющее большинство лабораторий, аккредитованных на определение содержания тяжелых металлов в пищевых продуктах и сырье, используемом в пищевой промышленности, укомплектованы атомно-абсорбционными спектрометрами с ЭТА и Зеемановским корректором неселективного поглощения.

В последнее время на рынке аналитического оборудования обостряется конкурентная борьба между оборудованием, реализующим метод атомно-абсорбционной спектроскопии, и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП). Неоспоримым преимуществом метода ИСП является его многоэлементность и широкий динамический диапазон. Однако при попытках использования метода ИСП для определения малых содержаний элементов в матрицах сложного состава (в первую очередь в пищевых продуктах, водах и тканях биологического происхождения) аналитики сталкиваются со значительными проблемами при обеспечении правильности результатов анализа. Именно для этих объектов Зеемановская ААС с ЭТА признана референсным методом.

Однако данный метод не лишен недостатков. Одним из наиболее существенных ограничений Зеемановской ААС с ЭТА является относительно малый линейный

диапазон градуировочного графика (зависимости аналитического сигнала – интегральной абсорбции – от массы аналита в атомизаторе).

Для большинства элементов, определяемых в Зеемановской ААС с ЭТА, отклонения от линейной градуировочной зависимости становятся заметными (превышают 3 %) уже при величинах интегральной абсорбции 0.2 сек [31]. Это отклонение обусловлено формой зеемановской концентрационной кривой (КК) (зависимостью величины абсорбционности (A_z) от количества атомов (N) в поглощающем слое $A_z = f(N)$). Концентрационная кривая имеет значительную кривизну и даже точку обращения.

Значительная кривизна градуировочных зависимостей в Зеемановской ААС с ЭТА приводит к следующим значимым для аналитиков последствиям. Во-первых, хорошо известно, что во время проведения анализа сложных по составу проб проще всего обеспечить правильность результатов анализа при использовании для калибровки стандартных образцов состава, идентичных анализируемым пробам. Однако выбор таких аттестованных образцов достаточно мал, а стоимость велика. При том разнообразии объектов анализа, с которыми аналитики сталкиваются в работе, применение стандартных образцов для калибровки при проведении рутинных измерений практически невозможно. В результате единственным доступным способом калибровки становится использование водных стандартов. Между тем, достаточно часто наличие матрицы приводит к значительному изменению формы абсорбционного сигнала, которая в области нелинейности градуировочной зависимости не позволяет обеспечить правильность результатов анализа.

Во-вторых при анализе проб сложного состава и при разработке методики анализа (оптимизации условий проведения измерений) аналитики широко используют метод добавок. Однако его применение имеет одно принципиальное ограничение: метод добавок применим только на линейном участке градуировочной зависимости. Поэтому в ситуации, когда аналитик не имеет в своем распоряжении

пробы с достаточно малым содержанием определяемого элемента, возникает целый ряд методических трудностей.

В третьих, для достижения приемлемого динамического диапазона аналитик вынужден использовать нелинейную градуировочную зависимость, а для ее построения необходимо проведение измерений для 5 - 7 калибровочных стандартов. Построение такой калибровки занимает продолжительное время и значительно снижает срок эксплуатации графитовой печи.

Описанные выше проблемы характерны для верхней границы диапазона определяемых концентраций. В области низких концентраций динамический диапазон ограничен величиной предела обнаружения, который является наиболее важной характеристикой методики анализа. Именно эта величина зачастую определяет практическую ценность разрабатываемой методики и возможность решения с ее помощью поставленной аналитической задачи. Невозможность достижения требуемой величины предела обнаружения делает всю процедуру разработки методики проведения анализа безрезультатной. Процедура определения величины предела обнаружения является заключительным этапом разработки методики анализа и требует проведения дополнительных измерений. В ходе работы аналитик не имеет возможности оперативно и с приемлемой точностью оценить предполагаемую величину предела обнаружения на ранних стадиях разработки методики, поэтому разработка надежного и простого алгоритма оценки величины предела обнаружения необходима для оптимизации работы аналитика.

Кроме того, простой алгоритм оценки величины предела обнаружения в присутствии матрицы (значительной величины неселективного поглощения) необходим для тех случаев, когда аналитик не имеет в своем распоряжении образцов с малым содержанием аналита, что не позволяет достаточно корректно провести определение величины предела обнаружения.

Цель настоящей работы:

Увеличение производительности и правильности Зеемановской ААС с ЭТА за счет расширения линейного диапазона измерений в области высоких концентраций и разработки быстрой процедуры оценки нижней границы динамического диапазона – величины предела обнаружения

Для этого необходимо:

- оценить влияние различных факторов на форму градуировочной зависимости;
- описать ход реальной концентрационной кривой в Зеемановской ААС, устанавливающей связь между измеряемой величиной абсорбционности (A_z) и концентрацией атомов определяемого элемента (N) в графитовой печи до уровня обращения (A_r);
- разработать алгоритм линеаризации градуировочных кривых;
- разработать простой алгоритм оценки нижней границы динамического диапазона (величины предела обнаружения), в том числе учитывающий неселективное поглощение.

Научная новизна:

- Предложен универсальный алгоритм линеаризации градуировочных зависимостей основанный на моделировании восходящей ветви концентрационной кривой.
- Предложен алгоритм быстрой оценки величины предела обнаружения, учитывающий величину неселективного поглощения.

Практическая ценность работы:

- Показана возможность линеаризации градуировочных графиков без ухудшения сходимости результатов анализа.
- Экспериментально проверена работоспособность алгоритма линеаризации для 20 элементов при использовании различных источников излучения, токах и щелях.
- Проверена эффективность работы алгоритма пересчета при изменении формы аналитического сигнала (при анализе проб сложного состава) с калибровкой по водным растворам.
- Разработан быстрый и достоверный алгоритм оценки величины предела обнаружения, учитывающий спектральные условия проведения измерений, а также неселективное поглощение.

На защиту выносятся:

- Алгоритм линеаризации градуировочных зависимостей в Зеemanовской ААС с ЭТА.
- Алгоритм оценки величины предела обнаружения.

Апробация работы:

Результаты диссертационной работы частично докладывались на II Европейском Симпозиуме по ААС с ЭТА/ Санкт-Петербург, 26-30 мая 1996 года и на V Аналитическом Российско-Германо-Украинском симпозиуме, Ульм, Германия, 16-21 марта 1997 года.

ГЛАВА 1. Градуировочные кривые в Зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии

1.1. Зеемановская атомно-абсорбционная спектроскопия

Эффект Зеемана заключается в расщеплении атомной линии в магнитном поле на три (нормальный эффект Зеемана) или более (аномальный эффект Зеемана) компонента [14]. Для простоты рассмотрения ограничимся нормальным эффектом Зеемана. В этом случае, максимум центрального компонента (π -компонент) совпадает по длине волны с максимумом нерасщепленной спектральной линии, а два других компонента ($\pm\sigma$ -компоненты) сдвинуты симметрично относительно исходного положения спектральной линии (Рисунок 1).

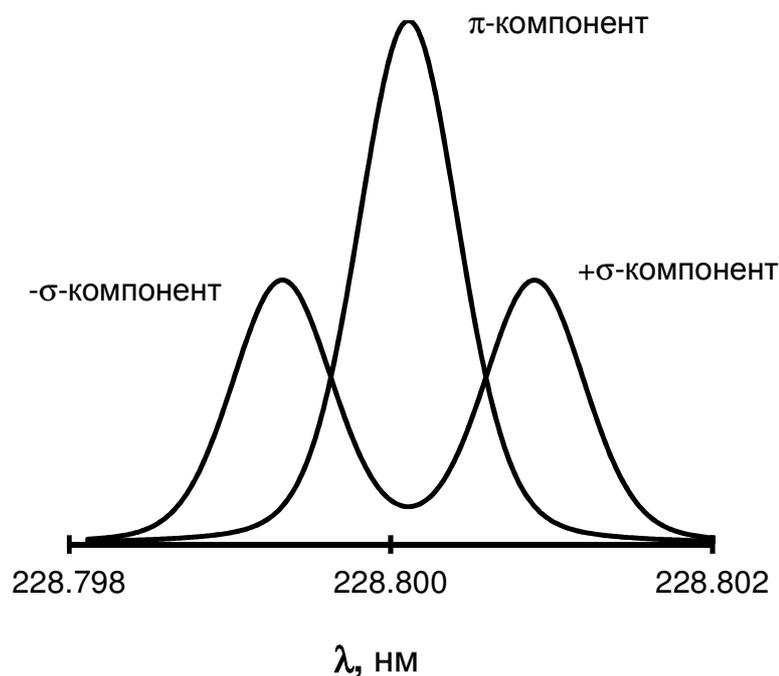


Рисунок 1. Расщепление атомной линии Cd в магнитном поле

При этом π -компонент поляризован в направлении, параллельном приложенному магнитному полю, а σ -компоненты – в плоскости, перпендикулярной магнитному полю.

В Зеемановской ААС с ЭТА аналитический сигнал A_z представляет собой разность двух сигналов, измеренных при выключенном (A_{off}) и включенном (A_{on}) магнитном поле:

$$A_z = A_{\text{off}} - A_{\text{on}} \quad (1)$$

При этом под Зеемановским (A_z) сигналом понимается селективное (атомное) поглощение, под общей абсорбционностью A_{off} понимается суммарный сигнал поглощения, складывающийся из атомного (селективного) и неселективного поглощения, а под неселективным поглощением A_{on} понимается сигнал, складывающийся из собственно неселективного поглощения и абсорбционности, связанной с крыльями σ -компонентов расщепленной в магнитном поле атомной линии поглощения.

Наличие поглощения крыльями σ -компонентов при использовании Зеемановского корректора приводит к тому, что всегда наблюдается некоторое снижение чувствительности. При отсутствии истинного неселективного поглощения сигнал при включенном магнитном поле (A_{on}) отличен от нуля. Для характеристики снижения чувствительности при использовании Зеемановского корректора было введено понятие Зеемановского отношения R , представляющего собой отношение Зеемановской абсорбционности A_z к абсорбционности при выключенном магнитном поле A_{off} :

$$R = A_z / A_{\text{off}} \quad (2)$$

В атомно-абсорбционной спектроскопии возможно наложение магнитного поля как на источник излучения (расщепление линии излучения), так и на атомизатор (расщепление линии поглощения). В настоящее время во всех современных зеемановских атомно-абсорбционных спектрометрах магнитное поле накладывается

на атомизатор. Поэтому в дальнейшем ограничимся рассмотрением именно этого варианта метода.

1.2. Факторы, влияющие на форму концентрационной кривой

Форма концентрационной кривой (КК) определяется действием большого количества различных факторов, которые можно разделить на три основные группы:

- связанные со спектральными характеристиками источника излучения;
- связанные с распределением температуры и концентрации атомов в поглощающем слое;
- связанные с образованием химических соединений на стадии атомизации и особенностях диссоциации этих соединений.

Были проведены многочисленные исследования влияния различных факторов на форму концентрационных кривых как в Зеемановской ААС с ЭТА, так и для других вариантов ААС.

Вагенар и де Галан [50, 51] исследовали влияние самопоглощения спектральной линии источника излучения на форму концентрационной кривой в пламенной ААС и предложили использовать для учета кривизны эмпирическую формулу (квадратичный полином), коэффициенты которой определялись по результатам интерферометрических измерений контура линии излучения.

Затем де Луз-Волебрегхт и де Галан исследовали форму концентрационной кривой в Зеемановской ААС с ЭТА [12, 13] и показали, что в случае Зеемановской ААС концентрационная кривая имеет характерную точку – уровень обращения (A_r). Явление обращения концентрационной кривой они связали с наличием в спектре источника света не абсорбируемого излучения. Основываясь на этом допущении, авторами была предложена [12] теоретическая модель для описания концентрационной кривой.

В дальнейшем Ларкинс [34, 35] экспериментально и теоретически исследовал форму концентрационной кривой в пламенной ААС при использовании корректора неселективного поглощения Смита-Хифти [46]. В своей работе Ларкинс показал, что

для корректного описания концентрационной кривой необходимо учитывать как самопоглощение линии излучения, так и характеристики ее крыльев.

Гильмутдинов после анализа различных факторов, влияющих на форму концентрационной кривой в Зеемановской ААС ЭТА, предположил [17], что основной причиной кривизны градуировочных графиков в ААС с ЭТА является пространственная неоднородность распределения атомов в графитовой печи. В дальнейшем были проведены исследования с использованием в качестве приемника излучения диодной матрицы, позволяющей изучать распределение атомов по сечению печи. Результаты этих исследований опубликованы, в работе Гильмутдинова и соавторов [18].

Иной подход к описанию концентрационной кривой в Зеемановской ААС с ЭТА был развит в работах Львова и соавторов [29, 30, 31], а также Юзефовского и соавторов [48, 56]. Предложенный подход заключался в использовании эмпирической зависимости $A_z = f(A_0)$, где A_0 – идеализированное значение абсорбционности, соответствующее закону Бугера-Ламберта-Бера. Параметры модели были связаны с параметрами реальной концентрационной кривой, определяемыми экспериментально. В отличие от других исследований, в работах [30, 31] адекватность модели оценивалась с помощью экспериментальных данных. Модель применялась при линеаризации реальных градуировочных зависимостей, и качество линеаризации являлось критерием правильности описания концентрационной кривой. Несомненным преимуществом данного подхода является описание реальной концентрационной кривой и учет всех возможных факторов, определяющих ее форму.

Основной отличительной особенностью концентрационной кривой в Зеемановской ААС с ЭТА является наличие точки обращения. Величину уровня обращения (A_r), т. е. максимальную амплитуду сигнала атомного поглощения (A_z), можно использовать в качестве параметра для оценки влияния различных факторов на форму концентрационной кривой.

1.3. Влияние различных факторов на величину уровня обращения

Как отмечалось выше, зеемановский сигнал является разностью двух сигналов – при выключенном и включенном магнитном поле. Соответственно, зеемановская концентрационная кривая является разностной кривой, и ее форма определяется двумя различными кривыми. Для проведения корректного анализа поведения концентрационной кривой необходим анализ исходных зависимостей.

Данное семейство концентрационных кривых (Рисунок 2) имеет следующие характерные параметры:

- **Начальный наклон** (характеристическая масса m_0), определяемая как масса аналита в атомизаторе, поглощающая 1 % падающего света (т. е. генерирующую аналитический сигнал (абсорбционность) 0.0044 Б);
- **Зеемановский коэффициент чувствительности R** - отношение зеемановской абсорбционности A_z к общей абсорбционности A_{off} ;
- **Предельный уровень абсорбции A_{lim}** – максимальная величина абсорбционности;
- **Уровень обращения зеемановской концентрационной кривой A_r** - максимальная величина зеемановской абсорбционности. Точка обращения зеемановской концентрационной кривой соответствует равенству наклонов концентрационных кривых при включенном и выключенном магнитном полях.

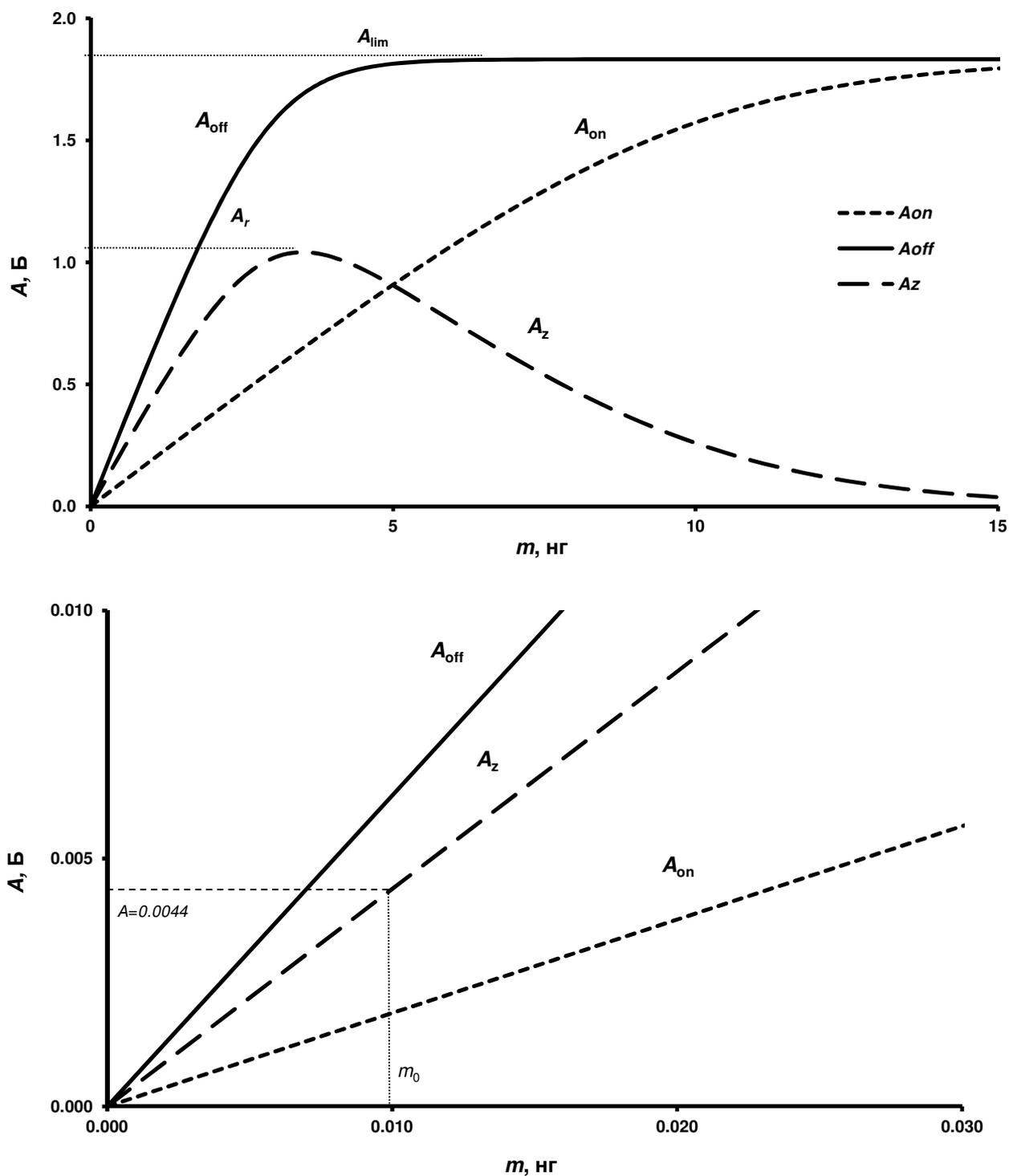


Рисунок 2. Концентрационные кривые в зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии и их основные параметры

Для удобства последующего анализа разделим все факторы, определяющие форму концентрационной кривой на три основные группы:

- немонохроматичность линий поглощения и излучения (с учетом зеемановского расщепления линии поглощения);
- наличие в спектре источника излучения не абсорбируемого излучения;
- неоднородность распределения атомного пара в поглощающем слое.

1.3.1. Немонохроматичность линий излучения и поглощения

Одним из основных положений схемы Уолша [52], предложенной для атомно-абсорбционных измерений, является измерение поглощения в центре линии. При этом подразумевается совпадение максимумов линий поглощения и излучения, а также тот факт, что линия излучения значительно уже линии поглощения.

Выполнение этих условий предполагает монохроматичную линию излучения и максимальную величину коэффициента поглощения.

Однако, как было показано в работе [3], на практике за счет проявления эффекта Лорентца происходит смещение максимума линии поглощения относительно максимума линии излучения. На форму контура линии излучения также оказывает влияние самопоглощение и сверхтонкая структура. Таким образом, линия излучения является далеко не монохроматичной, а максимумы линий излучения и поглощения не совпадают. Следовательно, необходимо принимать во внимание реальное расположение линий и форму их контуров. Так, контур линии поглощения определяется сверхтонкой структурой, Доплеровским и Лорентцевским уширением, а также при наложении магнитного поля – Зеемановским расщеплением.

1.3.2. Самообращение аналитической линии

Влияние спектральной ширины щели и тока лампы на степень кривизны градуировочного графика в Зеемановской ААС с ЭТА рассмотрено в работе Су и соавторов [48]. Для линии серебра 328.1 нм и постоянной величине спектральной ширины щели (0.7 нм) при увеличении тока через ЛПК наблюдалось систематическое уменьшение экспериментально измеренной величины уровня обращения, т.е. увеличение степени кривизны зеемановской концентрационной кривой (Таблица 1).

Таблица 1. Зависимость величины уровня обращения A_r от тока ЛПК [48]

Ток ЛПК, mA	Лампа 1		Лампа 2	
	Энергия	A_r / B	Энергия	A_r / B
5	-	-	47	2.54
10	47	2.50	56	1.44
15	51	1.98	60	0.98
20	53	1.82	63	0.74
25	-	-	65	0.60

Очевидно, что в данном случае при изменении только тока через ЛПК неоднородность распределения атомов в поглощающем слое не изменяется, то есть он не может являться причиной увеличения кривизны (снижения уровня обращения). С другой стороны, при увеличении тока может происходить перераспределение энергии излучения между резонансной линией и другими (не абсорбируемыми) спектральными линиями в спектре источника излучения. Однако в данном случае при малых токах (5–10 мА) величина уровня поглощения составляет около 2.5, что свидетельствует о невысокой доле не абсорбируемой радиации, которой можно пренебречь.

Таким образом, снижение величины уровня обращения при увеличении тока и постоянной спектральной ширине щели можно объяснить только проявлением самопоглощения спектральной линии. Данный вывод полностью подтверждается результатами интерферометрических измерений контура линии излучения Ag 328.1 нм, проведенных Вагенаром и де Галаном [50], которые указывают на уширение спектральной линии (увеличение самопоглощения) при возрастании тока лампы.

Совершенно иное соотношение факторов, определяющих кривизну концентрационной кривой, наблюдается в случае линии Cu 324.7 нм. В отличие от серебра эта спектральная линия имеет сложную сверхтонкую структуру, которая приводит к появлению вблизи нее двух не абсорбируемых линий. Развитая сверхтонкая структура, имеет два основных компонента [17], расположенных подобно одной сильно самообращенной линии [35], что приводит к аномально низкому значению Зеемановского отношения чувствительности $R=0.5$.

Для данной линии интересно и соотношение других факторов, влияющих на степень кривизны градуировочного графика. По данным Ларкинса [35], несмотря на проявление самообращения линии при токе лампы 8 мА, кривизна концентрационной кривой оказывается меньше (начальный наклон меньше, уровень обращения выше), чем при токе 4 мА. Такой результат можно объяснить различным соотношением интенсивностей абсорбируемой и не абсорбируемой радиации в спектре лампы, т. е. тем, что при токе 4 мА интенсивность не абсорбируемых линий оказывается выше, чем при токе 8 мА.

Исходя из приведенных данных видно, что форма Зеемановской концентрационной кривой зависит не только от немонохроматичности линии излучения, но и от соотношения контуров линий поглощения и излучения, то есть от формы концентрационных кривых при включенном и выключенном магнитном поле. Характеристикой этого соотношения, помимо величины уровня обращения A_r , является значение зеемановского отношения чувствительности R , которое в

основном зависит, от зеемановского расщепления (напряженности магнитного поля) и в меньшей степени зависит от немонахроматичности линии излучения, исключая случаи линий со сложной сверхтонкой структурой.

Таким образом, можно сделать вывод, что причиной обращения зеемановской концентрационной кривой может являться наличие в спектре источника излучения не поглощаемого излучения.

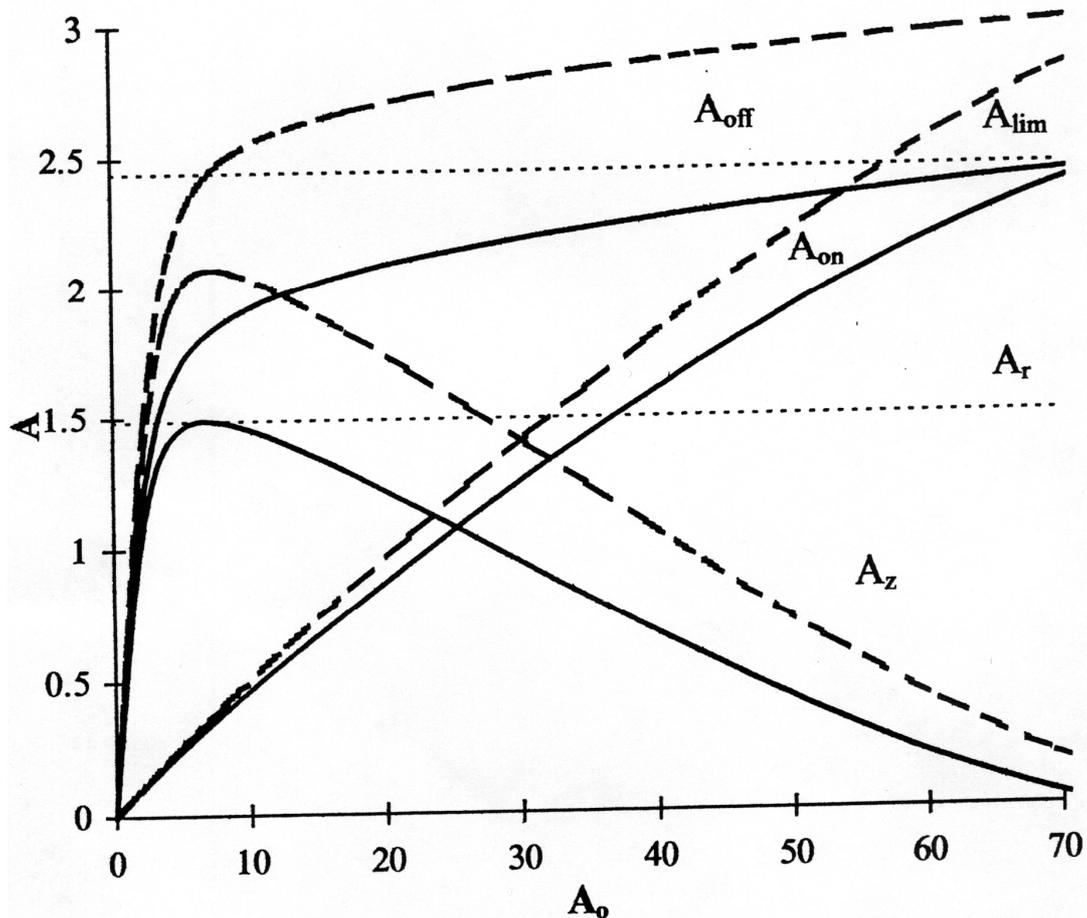


Рисунок 3. Влияние самопоглощения спектральной линии излучения Ag 328.1 нм лампы с полым катодом на форму концентрационных кривых в Зеемановской ААС с ЭТА. Расчетные концентрационные кривые для случая без самопоглощения (пунктирная линия) и при наличии самопоглощения (сплошная линия).

Теоретический анализ влияния самопоглощения спектральной линии излучения на форму концентрационных кривых в зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии для линии Ag 328.1 нм был проведен в работе [14]. На Рисунке 3 представлены концентрационные кривые для линии излучения в случае наличия самопоглощения линии излучения, а также для несоообращенной линии. Хорошо видно, что в случае отсутствия самопоглощения на зеемановской концентрационной кривой не наблюдается точка обращения.

1.3.3. Наличие в спектре источника не абсорбируемой радиации

Модель описания Зеемановской концентрационной кривой с учетом доли неабсорбируемой радиации α была предложена де Луз-Волебрегхт и де Галаном [12]. Данная модель для описания сигналов при включенном A_{on} и выключенном A_{off} магнитном поле использует только два параметра: долю неабсорбируемого излучения α и зеемановское отношение R :

$$A_{\text{off}} = \log \frac{1 + \alpha}{10^{-A_0} + \alpha} \quad (3)$$

$$A_{\text{on}} = \log \frac{1 + \alpha}{10^{-A_0(1-R)} + \alpha} \quad (4)$$

Значение зеемановской атомной абсорбции определяется в соответствии с выражением (1).

Значение параметра α может быть либо рассчитано с помощью выражения:

$$\alpha = \frac{R(1-R)^{(1-R)/R}}{10^{A_0/R} + 10^{A_0(1-R)/R}}, \quad (5)$$

либо определено на основании результатов измерения предельного значения абсорбционности A_{lim} [14]:

$$\alpha = (10^{A_{lim}} - 1)^{-1}. \quad (6)$$

Как было показано в работе [28], для восьми из девяти тестируемых элементов выражения (5) и (6) дают примерно одинаковое значение доли неабсорбируемого излучения. Однако для расчета целесообразнее использовать выражение (6), так как предельное значение абсорбционности A_{lim} в отличие от уровня обращения A_r зависит только от неабсорбируемого излучения и в отличие от A_r и R не зависит от монохроматичности линии излучения.

Причины появления неабсорбируемого излучения подробно обсуждались в работах [28, 47]. Основными причинами появления неабсорбируемой радиации являются линии, лежащие рядом с аналитическими и не поглощаемые аналитом. Это линии материала полого катода (как основного материала, так и примесей), а также линии благородного газа, которым заполнена лампа. В обоих случаях доля неабсорбируемого излучения и, соответственно, величина уровня обращения A_r , зависит от ширины щели, что было экспериментально показано в работах [28, 47, 48]. Так, при постоянном токе лампы при раскрытии щели в 10 раз для всех тестируемых элементов уровень обращения снижался примерно в 1.5 раза [28].

Однако, как было показано Ларкинсом [35], концентрационная кривая для Cd (линия 228.8 нм), рассчитанная исходя из предположения о влиянии только неабсорбируемого излучения на форму концентрационной кривой, значительно отличается от экспериментально измеренной. Другим примером, свидетельствующим о том, что не только неабсорбируемое излучение определяет величину уровня обращения и о том, что не все факторы можно свести к неабсорбируемой радиации в чистом виде, как предполагалось в работе [47], является случай проведения измерения при узкой щели и большом токе лампы [41]. Так, для линии Ag 328.1 нм (рис. 3) при ширине щели 0.2 нм и токе лампы 15 мА

величина предельной абсорбции A_{lim} составляет 2.45, а рассчитанная в соответствии с уравнением (6) доля неабсорбируемого излучения α составляет 0.004. При этом расчетное значение уровня обращения A_r , в соответствии с уравнением (5), составляет 2.15 (при $R=0.92$), а экспериментально измеренное значение – всего 1.49.

В работе [41] был проведен теоретический анализ влияния самопоглощения спектральной линии излучения и неабсорбируемой радиации в спектре источника света на параметры концентрационных кривых в Зеемановской ААС с ЭТА. В Таблице 2 представлены качественные результаты этого теоретического анализа. Анализ результатов, приведенных в этой таблице, подтверждает тезис о том, что при моделировании концентрационных кривых необходимо отдельно учитывать как влияние самопоглощения линии излучения, так и наличие в спектре источника неабсорбируемой радиации.

Таблица 2. Корреляция между параметрами Зеемановской концентрационной кривой и условиями измерения [14]

Параметры Зеемановской концентрационной кривой	Увеличение неабсорбируемой радиации приводит к:	Увеличение самопоглощения линии излучения приводит к:
Сигнал при выключенном поле A_{off}	↓	↓
Сигнал при включенном поле A_{on}	↓	↓
Зеемановский сигнал A_z	↓	↓
Предельная абсорбция A_{lim}	↓	<i>не влияет</i>
Уровень обращения A_r	↓	↓
Зеемановский коэффициент чувствительности R	<i>не влияет</i>	↓

Как отмечалось в работе [14], увеличение рассеянного света и неабсорбируемой радиации приводят к снижению измеряемых сигналов (при включенном A_{on} и

выключенном A_{off} магнитном поле), но в разной степени. Поскольку сигнал при включенном поле A_{on} с увеличением концентрации атомов в поглощающем слое возрастает существенно меньше, чем сигнал при выключенном поле, то его кривизна проявляется при больших концентрациях атомов в поглощающем слое. Рассеянный свет в спектре источника излучения может рассматриваться как частный случай неабсорбируемого излучения.

1.3.4. Неоднородность распределения атомов в поглощающем слое

В работе [17] Гильмутдинов и соавторы проанализировали влияние неоднородности распределения ряда характеристик на форму концентрационной кривой в ЭТА с ААС. К ним относятся распределение поглощающих атомов по оси и по сечению печи и распределение интенсивности излучения по сечению источника света, а также температуры и концентрации атомов в поглощающем слое. В результате было выдвинуто предположение о том, что основной причиной нелинейности концентрационной кривой является неоднородность распределения атомов по сечению печи.

Однако в случае Зеемановской ААС с ЭТА даже значительная неоднородность распределения атомов по сечению печи будет одинаково влиять на оба измеряемых сигнала: A_{on} и A_{off} , так что их разность и, соответственно, зеемановская абсорбционность A_z , должны оставаться практически постоянным. Авторами [17] отмечалось, что появление предельной абсорбционности A_{lim} и уровня обращения зеемановской концентрационной кривой возможно в том случае, если в процессе атомизации в графитовой печи появляются зоны, свободные от атомов, а следовательно не поглощающие свет. Но данный эффект в конечном счете является частным случаем проявления неабсорбируемого излучения.

Проведенный анализ факторов, оказывающих влияние на форму концентрационной кривой в Зеемановской ААС с ЭТА, показывает, что к обращению концентрационной кривой могут приводить только немонохроматичность линии излучения (с учетом сверхтонкой структуры и самопоглощения линии излучения), а также наличие в спектре источника излучения неабсорбируемой радиации. Кроме того, на форму концентрационной кривой может оказывать влияние протекание в газовой фазе химических взаимодействий, зависящих от концентрации атомов в газовой фазе, например, образование устойчивых соединений (в частности карбидов) или протекание реакций окисления-восстановления оксидов металлов [4, 5, 23].

Учет только одного из факторов не может дать удовлетворительного описания зеемановской концентрационной кривой, поскольку ее форма определяется целым рядом условий. На практике возможно подобрать такие условия проведения измерения, чтобы форма концентрационной кривой определялась только одним фактором, например, как это было сделано в работе [30]. Но такой вариант является лишь частным случаем и не может решить проблему кривизны калибровочного графика, в целом.

Однако, как обсуждалось в работе [47], все перечисленные выше причины, кроме химических взаимодействий, могут быть сведены к одной – наличию неабсорбируемой радиации. При этом под неабсорбируемой радиацией понимаются не только компоненты спектра источника излучения, не поглощаемые аналитом, но и часть излучения аналитической линии. Это излучение может быть поглощено аналитом при отсутствии немонохроматичности, неоднородности распределения атомов в поглощающем слое и иных факторов. Кроме того, немонохроматичность линии излучения приводит к тому, что крылья линии излучения не поглощаются даже при высокой концентрации атомов в поглощающем слое. На Рисунке 4 представлено влияние эффекта самопоглощения спектральной линии в случае, когда форма контура спектральной линии определяется эффектом Доплера. Таким

образом, наиболее правильное описание концентрационной кривой можно получить, используя модель, основанную на учете неабсорбируемого излучения.

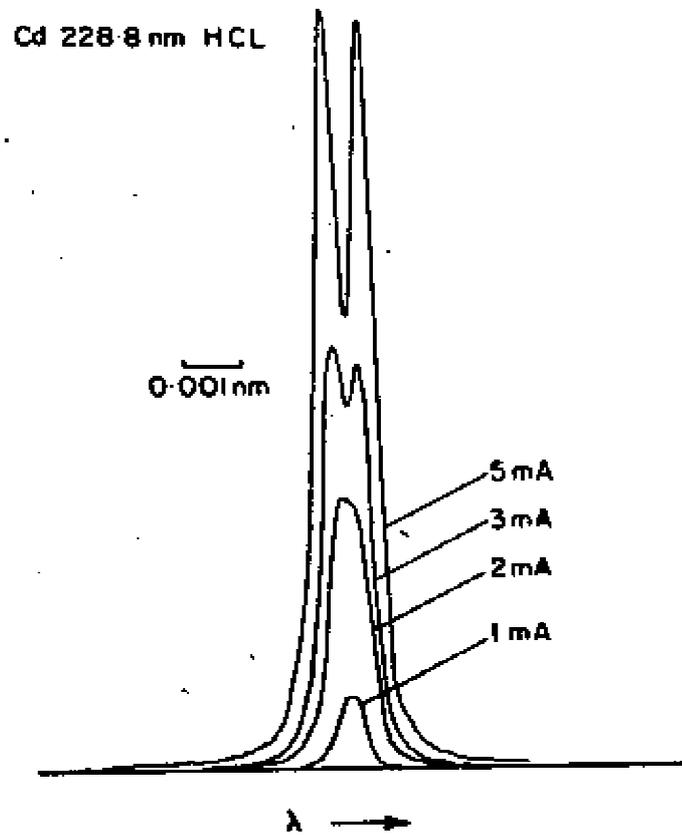


Рисунок 4. Влияние самопоглощения на форму контура спектральной линии кадмия 228.8 нм для токов от 1 до 5 мА [34]

1.4. Расширение динамического диапазона в ААС

Как отмечалось ранее, сравнительно малый динамический диапазон является одним из основных ограничений метода ААС с ЭТА. На сегодняшний день основным методом, конкурирующим с ААС, является атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (АЭС с ИСП). На рисунке 5 в схематическом виде представлены калибровочные графики для двух вариантов метода ААС - с пламенной атомизацией и Зеемановской ААС, а также для АЭС с ИСП для аксиального и радиального обзора плазмы. Измерения проводились по аналитической линии Cd 228.8 нм. Левые границы динамического диапазона соответствуют пределам обнаружения, оцененным в дистиллированной воде по 3σ -критерию. Измерения для ААС проводились на спектрометре ZEEnit-700 (Analytik Jena, Германия) с пламенным и электротермическим атомизаторами для одноэлементной ЛПК на Cd. Измерения для АЭС с ИСП проводились на спектрометре Prodigy (Teledyne Leeman Labs, США) с системой двойного обзора.

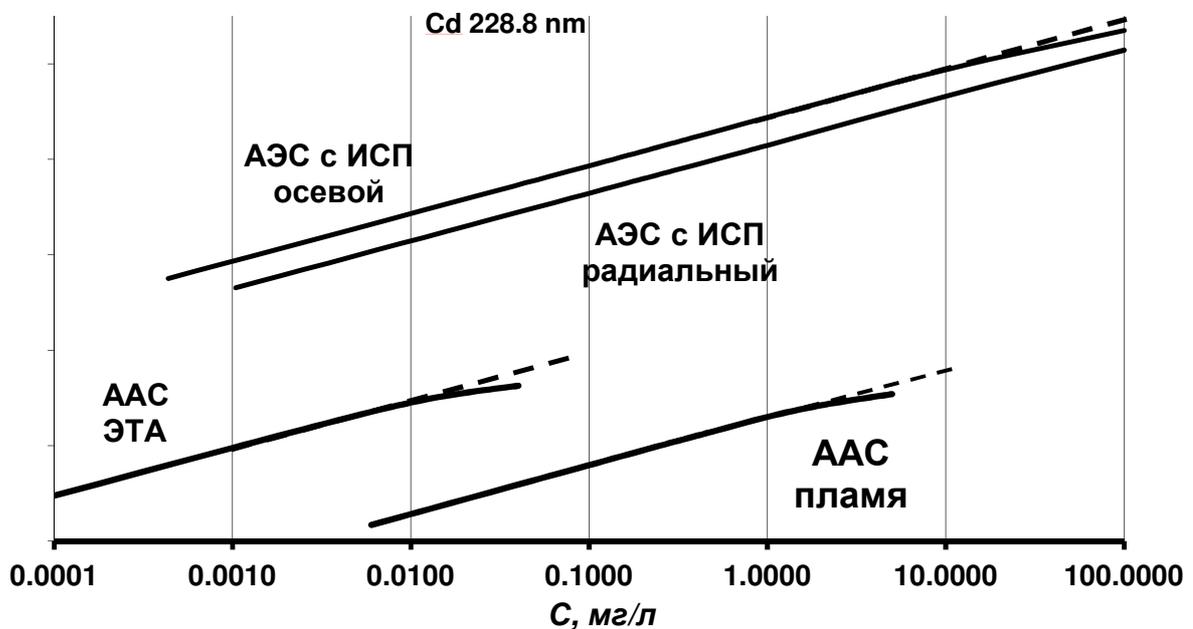


Рисунок 5. Сравнение динамического диапазона при определении Cd методами ААС и АЭС с ИСП.

Представленные на рисунке данные наглядно показывают, что ААС с ЭТА характеризуется минимальной величиной предела обнаружения, но и самым малым динамическим диапазоном - около 2-х порядков. Поэтому задача расширения динамического диапазона в ААС с ЭТА является актуальной.

1.4.1. Использование систем дозирования (автодозаторов)

Практически все современные коммерческие атомно-абсорбционные спектрометры комплектуются автодозаторами, позволяющими проводить автоматическое разбавление или снижение объема дозирования пробы при превышении верхней границы калибровочного графика. Это наиболее простой прием, применяемый как в пламенном, так и в электротермическом атомизаторе. Однако, данный метод приводит к значительному увеличению продолжительности анализа и заметному снижению ресурса графитовой печи (увеличению стоимости анализа).

Алгоритм работы программного обеспечения спектрометра при этом следующий. После получения сигнала, превышающего верхнюю границу калибровочного графика, программное обеспечение спектрометра выполняет следующие процедуры: производится промывка системы подачи пробы, с последующим циклом отжига графитовой печи до снижения аналитического сигнала от печи без дозирования ниже заданной величины. Эти действия необходимы для устранения влияния "эффекта памяти" на последующие результаты измерений. После этого производится расчет фактора разбавления (или необходимого объема дозирования) и повторяются измерения пробы с новыми условиями. В тех случаях, когда автодозатор не поддерживает функцию автоматического разбавления, а допускает только снижение объема дозирования, возможное расширение

динамического диапазона редко превышает один порядок (снижение объема дозирования с 20 до 2 мкл).

Основным недостатком данного способа расширения динамического диапазона является значительное увеличение продолжительности анализа.

1.4.2. Использование альтернативных линий.

Производители атомно-абсорбционных спектрометров активно ищут пути расширения динамического диапазона в область высоких концентраций. Одноэлементность метода и ограниченный выбор доступных спектральных линий существенно ограничивают или делают невозможным широко используемый в эмиссионной спектроскопии прием определения элементов по нескольким линиям с различной чувствительностью. Для классических спектрометров (с источником линейчатого спектра) при использовании альтернативных линий (с меньшей чувствительностью) становится возможным не расширение динамического диапазона, а смещение рабочей области в сторону более высоких концентраций.

Из современных атомно-абсорбционных спектрометров наибольшую гибкость в выборе аналитических линий дают спектрометры высокого разрешения с источником сплошного спектра серии ContrAA с, производимых фирмой Analytik Jena. Большой доступный набор линий поглощения упрощает возможность проведения без разбавления анализа проб с высокими концентрациями без разбавления за счет использования линий с меньшей чувствительностью. Реальное расширение динамического диапазона обычно возможно только в тех случаях, когда производится повторное измерение на другой аналитической линии. Но при этом значительно увеличивается продолжительность анализа.

Программное обеспечение спектрометра позволяет проводить измерение для нескольких спектральных линий за один цикл атомизации, однако ограниченный

диапазон детектора (около 0.4 нм) практически не дает возможности расширения динамического диапазона за счет проведения параллельных измерений на нескольких аналитических линиях за время одного цикла атомизации. Одним из немногих вариантов расширения динамического диапазона является определение содержания железа с использованием аналитических линий 302.064 нм и 302.107 нм. Соотношение чувствительностей этих линий составляет примерно 3:1. На рисунке 6 представлены калибровочные графики, полученные на атомно-абсорбционном спектрометре высокого разрешения с источником сплошного спектра с ЭТА ContrAA-600. Объем дозировки - 20 мкл. Близкое расположение линий позволяет проводить одновременное измерение сигнала на обеих длинах волн. При этом динамический диапазон для линии 302.064 нм составляет от 1 до 100 мкг/л, а для линии 302.107 нм - от 5 до 450 мкг/л.

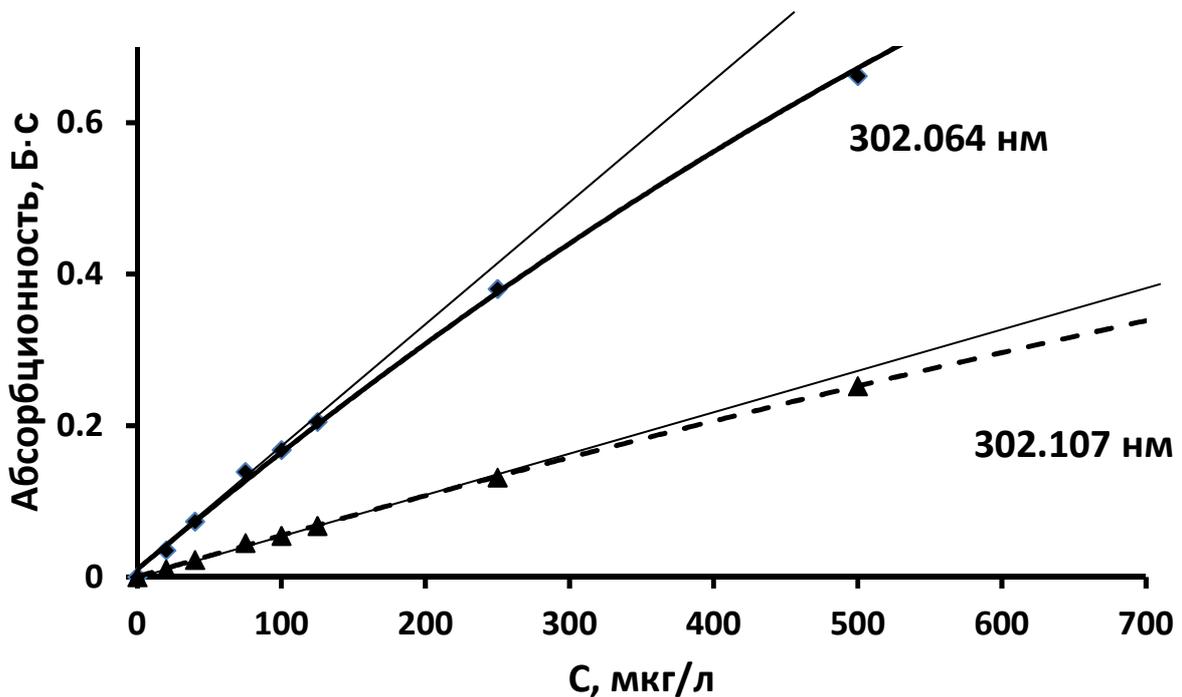


Рисунок 6. Калибровочные графики при анализе железа на линиях 302.064 нм и 302.107 нм на АА спектрометре высокого разрешения с источником сплошного спектра с ЭТА ContrAA-600.

Основными недостатками данного способа расширения динамического диапазона являются:

- возможность реализации на единственной (на сегодняшний день) серии коммерческих спектрометров высокого разрешения (ContrAA производства Analytik Jena);
- крайне ограниченный выбор спектральных линий (расстояние между линиями не более 0.4 нм);
- необходимость разделения калибровки на несколько диапазонов с разной чувствительностью.

1.4.3. Трехполевой режим Зеемановского корректора

Использование Зеемановского корректора неселективного поглощения открывает принципиальную возможность расширения динамического диапазона измерений за счет реализации 3-х полевого режима. В традиционном режиме работы корректора измерение сигнала производится при нулевой ($A_{H=0}$, общая абсорбционность) и максимальной величине напряженности магнитного поля ($A_{H=\max}$, неселективное поглощение). Соответственно, аналитический сигнал рассчитывается как $A_z = A_{H=0} - A_{H=\max}$. При 3-х полевым режиме добавляется стадия измерения при промежуточной величине напряженности магнитного поля ($A_{H=\text{med}}$). При такой схеме проведения измерений появляется возможность получить два сигнала зеемановской абсорбционности: с высокой чувствительностью $A_z^{\text{high}} = A_{H=0} - A_{H=\max}$, соответствующей измерению при максимальной разнице напряженности магнитного поля, и с низкой чувствительностью $A_z^{\text{low}} = A_{H=\text{med}} - A_{H=\max}$, при котором измерение суммарного поглощения производится в условиях пониженной чувствительности при не полном разделении σ -компонентов линии поглощения. На Рисунке 7 представлены получаемые при данных условиях

абсорбционные импульсы: традиционный сигнал с высокой чувствительностью A_z^{high} , импульс с низкой чувствительностью A_z^{low} и сигнал неселективного поглощения $A_{H=\text{max}}$.

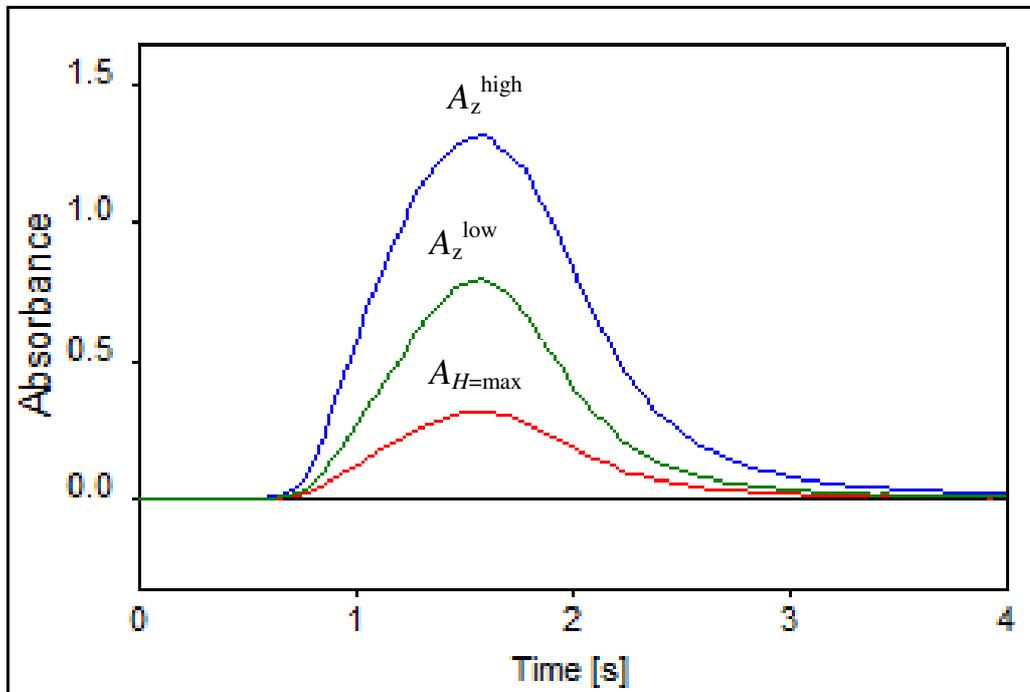


Рисунок 7. Абсорбционные импульсы для 5 нг Cu (324.75 нм) в динамическом 3-х полевом режиме ($H_{\text{max}} = 1.0$ Тесла, $H_{\text{med}} = 0.5$ Тесла, $H_{\text{min}} = 0$ Тесла).

Соответственно, по результатам измерений возможно построить 2 калибровочные кривые, отличающиеся чувствительностью, и, соответственно, рабочим диапазоном концентраций. В настоящее время на коммерческом оборудовании 3-х полевой режим работы зеемановского корректора неселективного поглощения реализован только на спектрометрах серии ZEE nit производства компании Analytik Jena. Спектрометры позволяют работать в 3-х режимах:

- традиционный 2-х полевой режим - обеспечивает максимальную чувствительность и относительно малый динамический диапазон (используется сигнал A_z^{high});

- 3-х полевой режим - динамический диапазон сдвинут в область высоких концентраций за счет снижения чувствительности (используется сигнал A_z^{low});
- динамический режим - позволяет обеспечить максимальный динамический диапазон за счет построения одновременно 2-х градуировочных графиков с использованием обоих сигналов A_z^{high} и A_z^{low} .

На Рисунке 8 представлены калибровочные кривые, полученные на спектрометре ZЕЕnit-650P (Analytik Jena) для Cu (324.75 нм) в динамическом режиме. Максимальная напряженность магнитного поля $H_{\text{max}} = 1.0$ Тесла, промежуточная $H_{\text{med}} = 0.5$ Тесла.

Левая часть калибровки соответствует калибровочной кривой с высокой чувствительностью. Данная калибровка используется для расчета концентраций для сигналов, величина интегральной абсорбции для которых не превышает 1.3 Б·с (вертикальная линия, граница перехода между калибровками, выбираемая пользователем). Для проб с большей концентрацией используется калибровка с низкой чувствительностью (трехполевой режим) - правая калибровка). Калибровка с высокой чувствительностью позволяет проводить измерения в диапазоне концентраций от 0.5 до 200 мкг/л, а с низкой чувствительностью – от 200 до 1000 мкг/л.

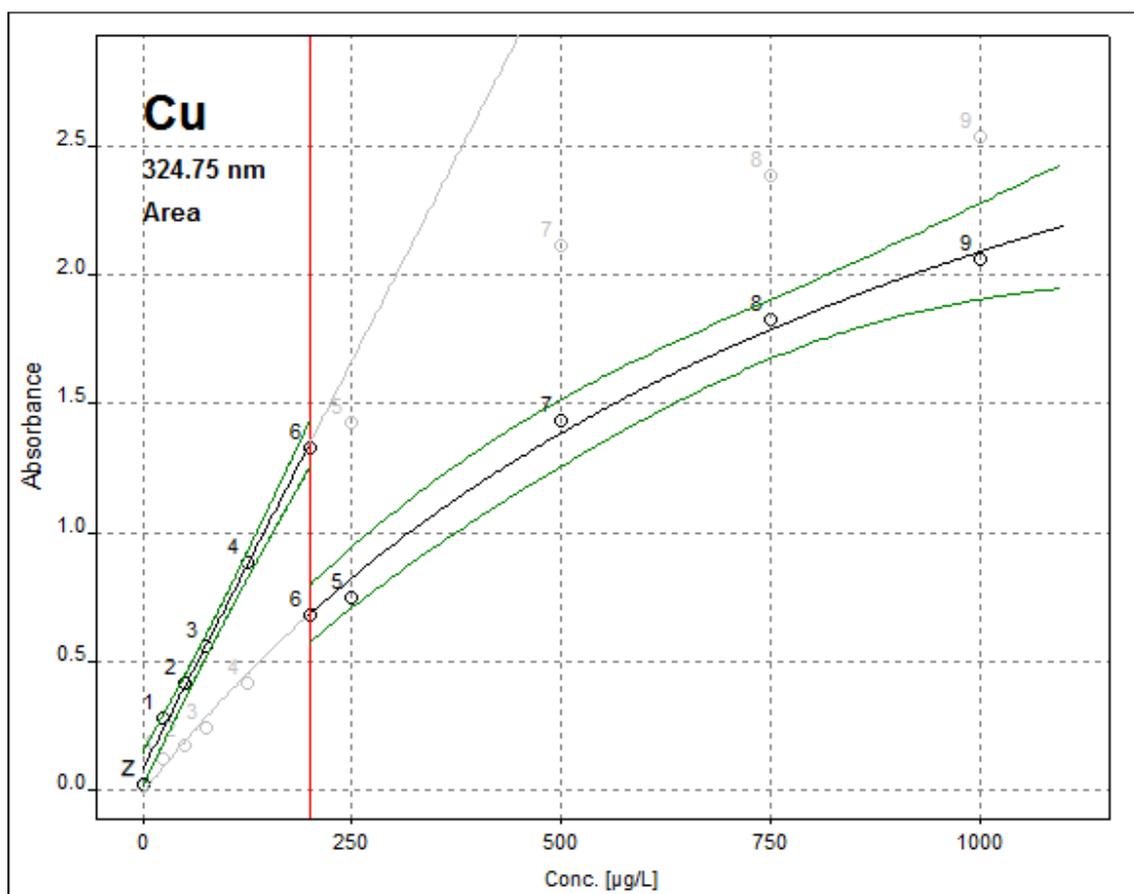


Рисунок 8. Калибровочные графики для Cu (324.75 нм) в динамическом 3-х полевом режиме ($H_{\max} = 1.0$ Тесла, $H_{\text{med}} = 0.5$ Тесла, $H_{\min} = 0$ Тесла).

Данный способ расширения динамического диапазона позволяет увеличить динамический диапазон путем разделения градуировки на два относительно небольших линейных участка. Принципиальная нелинейность калибровки при этом сохраняется. Расширение динамического диапазона редко превышает один порядок. Кроме того, калибровочная зависимость для трехполевого режима (низкая чувствительность) характеризуется значительной кривизной. Для построения калибровочных зависимостей в динамическом режиме необходимо достаточно большое число точек (не менее 7).

ГЛАВА 2. Влияние различных факторов на параметры Зеемановской концентрационной кривой

С целью экспериментальной оценки влияния различных факторов на параметры Зеемановской концентрационной кривой была проведена отдельная серия экспериментов.

2.1. Влияние неоднородности распределения атомов в атомизаторе

Корректная оценка распределения атомов в поперечном сечении атомизатора возможна на спектрометре с системой регистрации, основанной на использовании фотодиодной матрицы. Такой детектор дает возможность оценить величину абсорбционности, а следовательно, и концентрацию атомов для различных точек в поперечном сечении графитовой печи. Однако имеющееся оборудование (серийный атомно-абсорбционный спектрометр с электротермическим атомизатором и Зеемановским корректором неселективного поглощения производства фирмы Perkin Elmer модель 4100 ZL) не позволило провести такую серию экспериментов, так как для регистрации используется ФЭУ.

Очевидно, что в процессе испарения аналита с платформы максимальная концентрация атомов должна наблюдаться в нижней части атомизатора, а минимальная – в верхней части, вблизи дозирочного отверстия. Для оценки неоднородности распределения атомов в печи вдоль ее вертикальной оси были изготовлены графитовые диафрагмы для отверстий в контактах, через которые луч света от спектральной лампы проходит в атомизатор. В диафрагмах были проделаны отверстия диаметром около 1 мм таким образом, чтобы свет проходил в нижней части атомизатора вблизи платформы, по центру (оптической оси) и в верхней части атомизатора. Схема (разрез) контактов представлен на Рисунке 9.

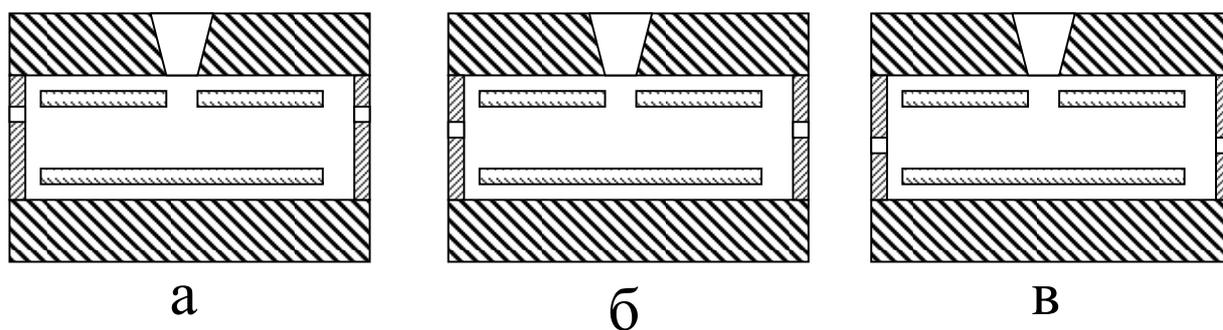


Рисунок 9. Конструкция контактов, используемых для оценки неоднородности распределения атомов в поперечном сечении атомизатора:
 а – измерения в верхней зоне атомизатора;
 б – измерения в центральной зоне атомизатора;
 в – измерения в нижней зоне атомизатора.

Измерения проводились для Ag, на резонансной длине волны 328.1 нм. В качестве источника света использовалась ЛПК производства компании Perkin Elmer. Для каждого из серий экспериментов лампа юстировалась таким образом, чтобы через атомизатор проходил свет от центральной части полого катода (рисунок 9). Ток через ЛПК составлял 10 мА, спектральная ширина щели 0.2 нм, температура атомизации 1550 °С. Измерения проводились в стандартной графитовой печи. В качестве защитного газа использовался аргон. Были также произведены измерения с обычными (не модифицированными) контактами. Вся серия измерений была проведена в один день с использованием одного атомизатора и одной серии градуировочных растворов. Измерения проводились для серии из 9 стандартных растворов. Результаты измерений сведены в Таблицу 3. На Рисунке 10 представлены полученные градуировочные зависимости.

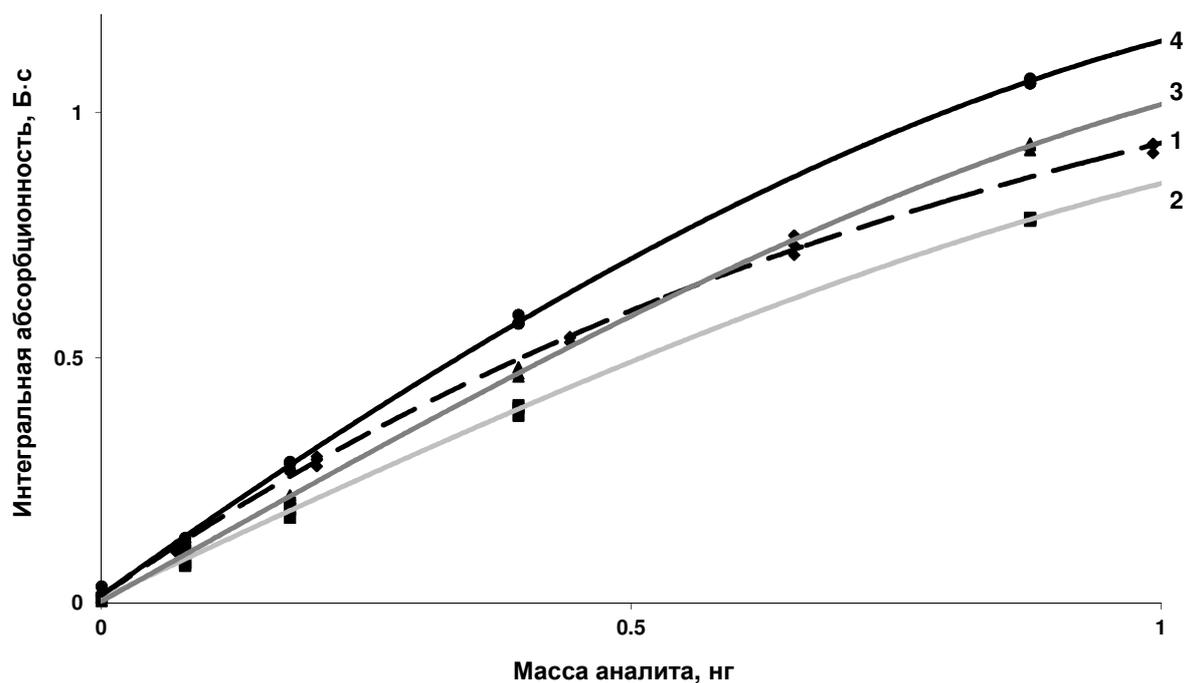


Рисунок 10. Градуировочные графики для Ag (328.1 нм) (до уровня обращения). Для полного просвета (1, \blacklozenge), верхней зоны (2, \blacksquare) центра (3, \blacktriangle) и низа (4, \bullet) печи

Таблица 3. Зависимость параметров Зеемановской концентрационной кривой от распределения атомов в различных зонах электротермического атомизатора (Ag, 328.1 нм)

Эксперимент	Параметр			
	m_0 , пг	A_r , Б	A_{lim} , Б	Энергия
Полный просвет (\blacklozenge)	3.1	1.89	2.4	57
Верх атомизатора (\blacksquare)	4.5	1.96	2.4	43
Центр атомизатора (\blacktriangle)	3.6	1.93	2.4	47
Низ атомизатора (\bullet)	2.8	1.94	2.4	37

Оценка неоднородности распределения атомов в поперечном сечении атомизатора может быть сделана на основе сравнения характеристических масс для различных зон атомизатора. Полученные значения характеристических масс свидетельствуют о том, что концентрация атомного пара в верхней и нижней зонах графитовой печи отличаются в 1.5 раза. При этом значения таких параметров, как величина уровня обращения A_r и предельная абсорбционность A_{lim} , значимо не отличаются. Следовательно, не наблюдается значимых отличий в степени кривизны градуировочных зависимостей. При сравнении полученных значения для различных зон атомизатора со значениями, полученными при полном просвете, было отмечено снижение величины уровня обращения примерно на 3 % (до 1.89). Также наблюдалась повышенная кривизна градуировочного графика (см. Рисунок 10). Такой результат в первую очередь может быть связан с неоднородностью распределения излучения в поперечном сечении полого катода. Действительно, при проведении измерений с диафрагмами с отверстиями в 1 мм в систему регистрации поступает только свет от небольшой (и во всех случаях примерно одной и той же) области полого катода.

2.2. Влияние неоднородности распределения излучения в ЛПК

Для оценки влияния распределения излучения в полном катоде на параметры Зеемановской концентрационной кривой была проведена серия измерений с использованием модифицированных контактов – с диафрагмами в 1 мм по центру печи (см. Рисунок 9б). Полный катод сканировался сверху вниз за 6.5 оборотов юстировочного винта (см. Рисунок 11). Каждый шаг измерения соответствует одному обороту юстировочного винта.

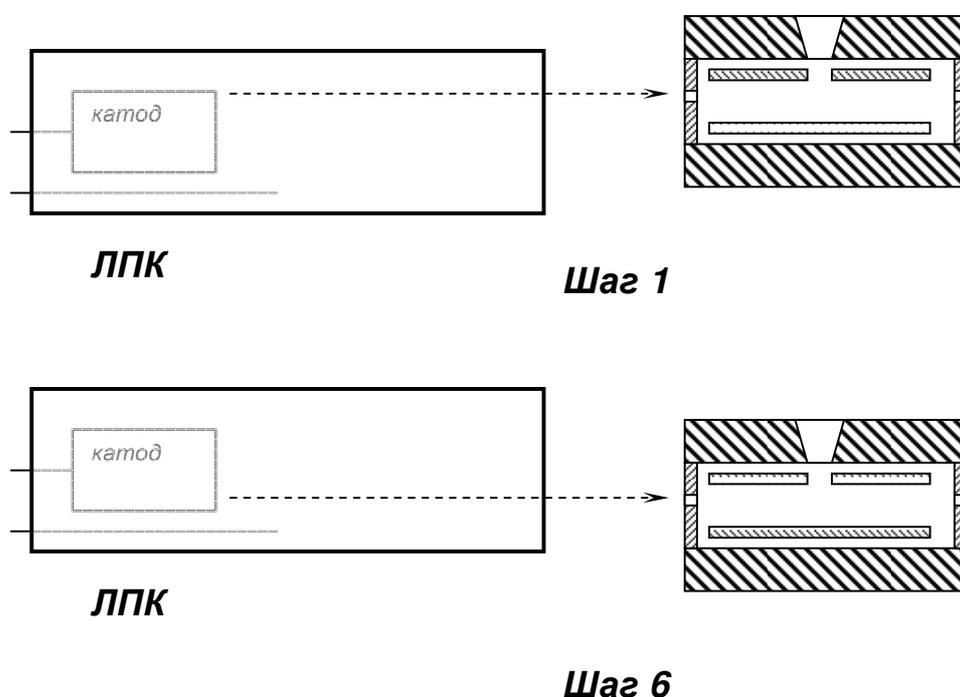


Рисунок 11. Схема сканирования полого катода при оценке влияния неоднородности распределения излучения в ЛПК на параметры Зеемановской концентрационной кривой.

Измерения проводились для Ag, на резонансной длине волны 328.1 нм. В качестве источника света использовалась ЛПК производства компании Perkin Elmer. Измерения проводились для спектральной ширины щели 0.7 нм при токах через ЛПК 7 и 15 мА и температуре атомизации 1550 °С. Измерения проводились в графитовой печи с диафрагмами (end-capped tube). В качестве защитного газа

использовался аргон. Вся серия измерений была проведена в один день с использованием одного атомизатора и одной серии градуировочных растворов. Измерения проводились для 4 градуировочных растворов: холостого раствора, 2-х растворов с амплитудой не более 1/3 от уровня обращения (A_r) и одного раствора, с провалом до дна для оценки величины уровня обращения A_r и предельной абсорбционности A_{lim} . Результаты измерений сведены в Таблицу 4 и представлены в графическом виде на Рисунке 12.

Таблица 4. Зависимость параметров Зеемановской концентрационной кривой от распределения атомов в полом катоде (Ag, 328.1 нм)

Ток ЛПК, Шаг	Параметр				
	Энергия	m_o , пг	R	A_r , Б	A_{lim} , Б
7 мА, шаг 1	36	2.29	0.92	1.69	2.10
7 мА, шаг 2	41	2.31	0.90	1.71	2.14
7 мА, шаг 3	48	2.31	0.91	1.92	2.38
7 мА, шаг 4	48	2.26	0.91	1.89	2.45
7 мА, шаг 5	46	2.29	0.92	1.83	2.28
7 мА, шаг 6	37	2.30	0.90	1.64	2.07
15 мА, шаг 1	54	2.57	0.88	1.40	2.32
15 мА, шаг 2	59	2.52	0.88	1.41	2.37
15 мА, шаг 3	62	2.51	0.89	1.45	2.44
15 мА, шаг 4	62	2.47	0.90	1.46	2.46
15 мА, шаг 5	61	2.49	0.90	1.43	2.41
15 мА, шаг 6	57	2.50	0.89	1.39	2.39

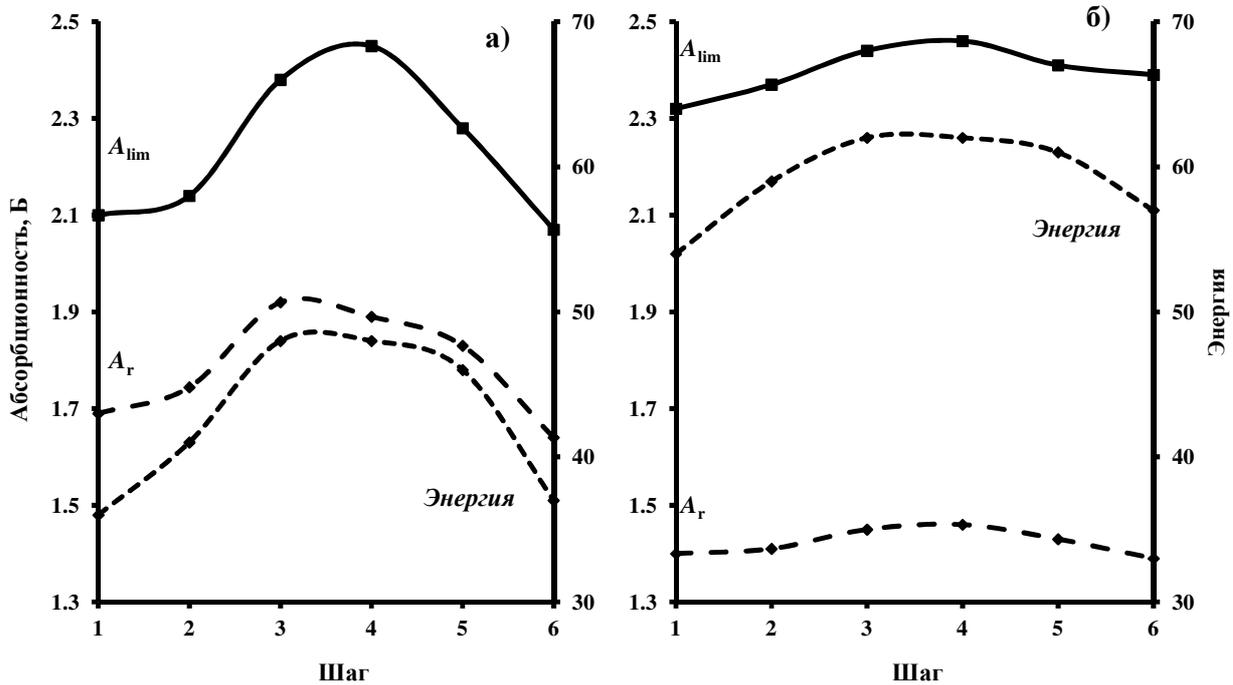


Рисунок 12. Распределение интенсивности излучения (энергии), уровня обращения A_r и предельной абсорбционности A_{lim} для различных зон полого катода (Ag, 328.1 нм): (а) ток ЛПК 7 мА, (б) ток ЛПК 15 мА.

Наблюдается незначительная неоднородность распределения излучения по сечению источника света. В центре полого катода спектр излучения в общем характеризуется меньшей долей не абсорбируемого излучения (большие величины уровней обращения A_r и предельной абсорбционности A_{lim}). С увеличением тока наблюдается увеличение интенсивности излучения, а спектральный состав в центре и ближе к краям катода выравнивается. В условиях реальных измерений полный просвет атомизатора освещается светом со всего сечения полого катода и неоднородность распределения интенсивности и различное соотношение компонентов излучения в сечении катода усредняется. В систему регистрации попадает весь свет источника, и соответственно не будет наблюдаться значительного влияния неоднородности распределения излучения по сечению полого катода.

2.3. Повторяемость определения уровня обращения

Для оценки влияния атомизатора на величину уровня обращения была произведена серия измерений с использованием 15 графитовых печей с различной степенью износа. Измерения производились для Ag (328.1 нм), ток ЛПК 10 мА, спектральная ширина щели 0.2 нм. Для каждого атомизатора производились пять параллельных измерений, рассчитывалось среднее значение и величина стандартного отклонения. Измерения производились в один день. Результаты измерений представлены на Рисунке 13.

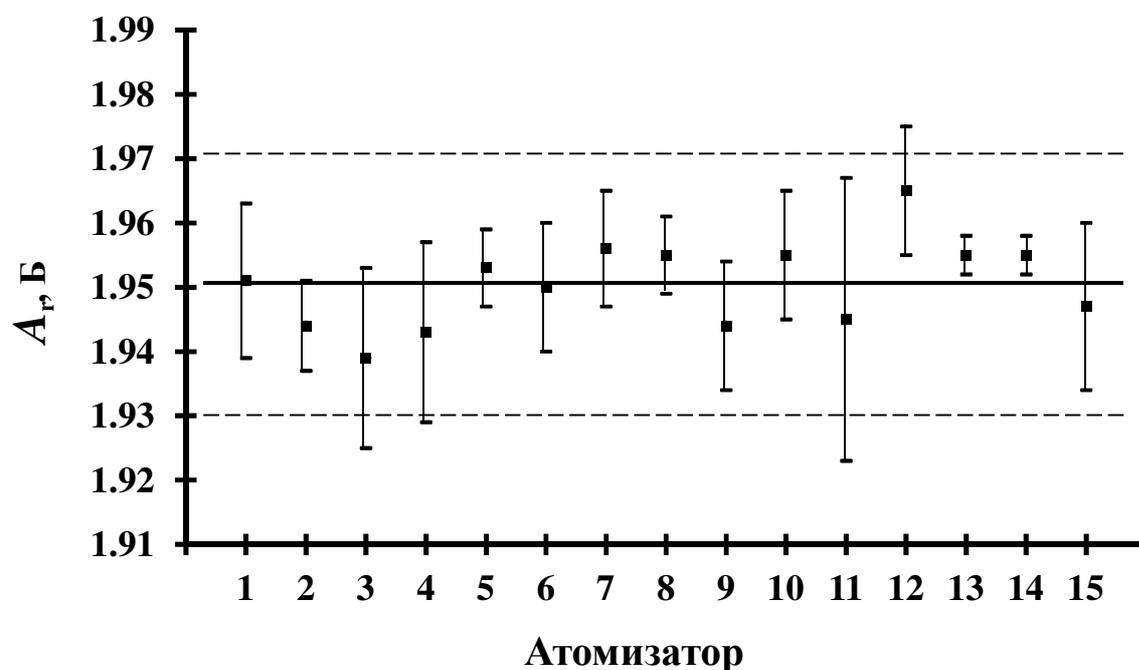


Рисунок 13. Величины уровня обращения (A_r) для различных атомизаторов (Ag, 328.1 нм ток ЛПК 10 мА, щель 0.2 нм)

Полученные результаты показывают, что на практике погрешность определения величины уровня обращения не превышает $\pm 1\%$. При этом не наблюдается какой-либо корреляции между величиной уровня обращения и степенью износа атомизатора. Различие между результатами измерения для нового атомизатора и

атомизатора, прошедшего 1000 циклов нагрева, не превышает разброса экспериментальных данных для одного атомизатора. Аналогичные результаты получены в серии измерений для стандартной печи и печи с диафрагмами, полученными в разные дни (Рисунок 14). В период проведения измерений юстировка лампы с полым катодом не изменялась.

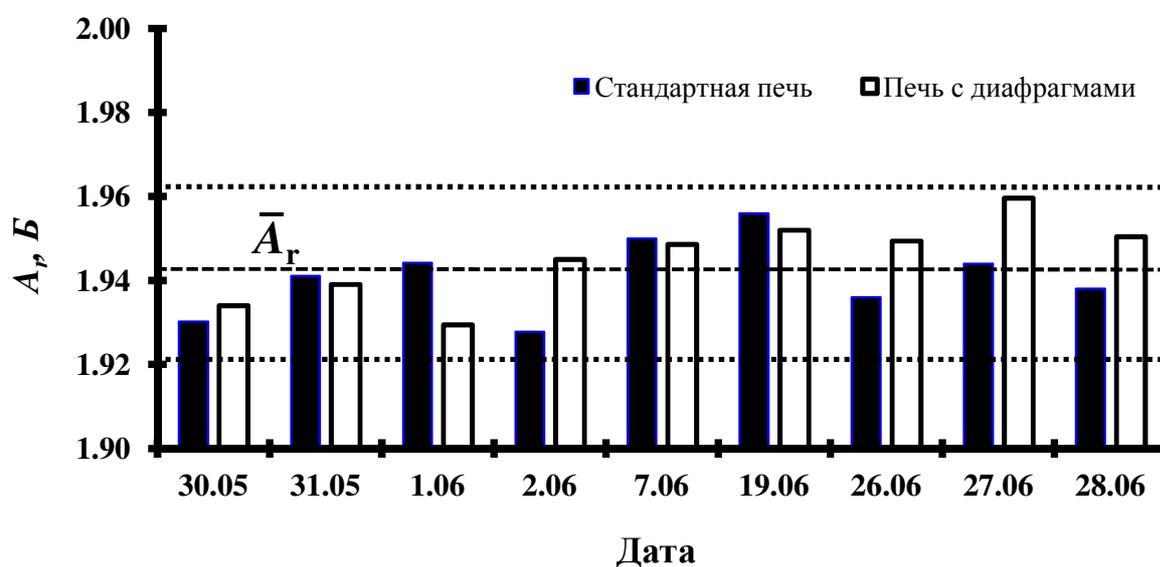


Рисунок 14. Величины уровня обращения (A_p), измеренные в различные дни (Ag , 328.1 нм, ток ЛПК 10 мА, щель 0.2 нм)

2.4. Наличие в спектре источника излучения не абсорбируемой радиации

Можно выделить следующие основные причины появления в спектре источника не абсорбируемого излучения:

- нерезонансные линии определяемого элемента;
- линии примесей материала полого катода;
- линии инертного газа, которым заполнена лампа.

2.4.1. Одноэлементная и многоэлементная ЛПК на Cr

Прекрасной иллюстрацией влияния неабсорбируемой радиации на кривизну градуировочных графиков являются результаты измерений, производимых с применением многоэлементных спектральных ламп с полым катодом. В работе использовалась многоэлементная (Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Co) и одноэлементная (Cr) лампы с полым катодом производства компании Analytik Jena AG. В спектре многоэлементной лампы присутствуют линии всех элементов, входящих в состав полого катода.

Измерения производились для Cr (357.9 нм) при спектральной ширине щели 0.2 нм и 0.7 нм на атомно-абсорбционном спектрометре Perkin Elmer Model 4100ZL . Результаты измерений представлены в Таблице 5 и на Рисунке 15.

На рисунке 15 представлены градуировочные зависимости, полученные для многоэлементной ЛПК при спектральной ширине щели 0.2 и 0.7 нм. При увеличении щели наблюдается снижение чувствительности, а также значительное увеличение степени кривизны градуировочного графика.

Таблица 5. Параметры Зеемановской концентрационной кривой для одно- и многоэлементной ЛПК (Cr, 357.9 нм)

Лампа	Щель, нм	Параметр				
		m_0 , пг	R	$A_r, Б$	$A_{lim}, Б$	Энергия
Одноэлементная	0.2	4.2	0.96	2.0	2.3	60
	0.7	4.7	0.96	1.0	1.1	67
Многоэлементная	0.2	4.4	0.96	1.4	1.5	56
	0.7	5.5	0.96	0.47	0.53	65

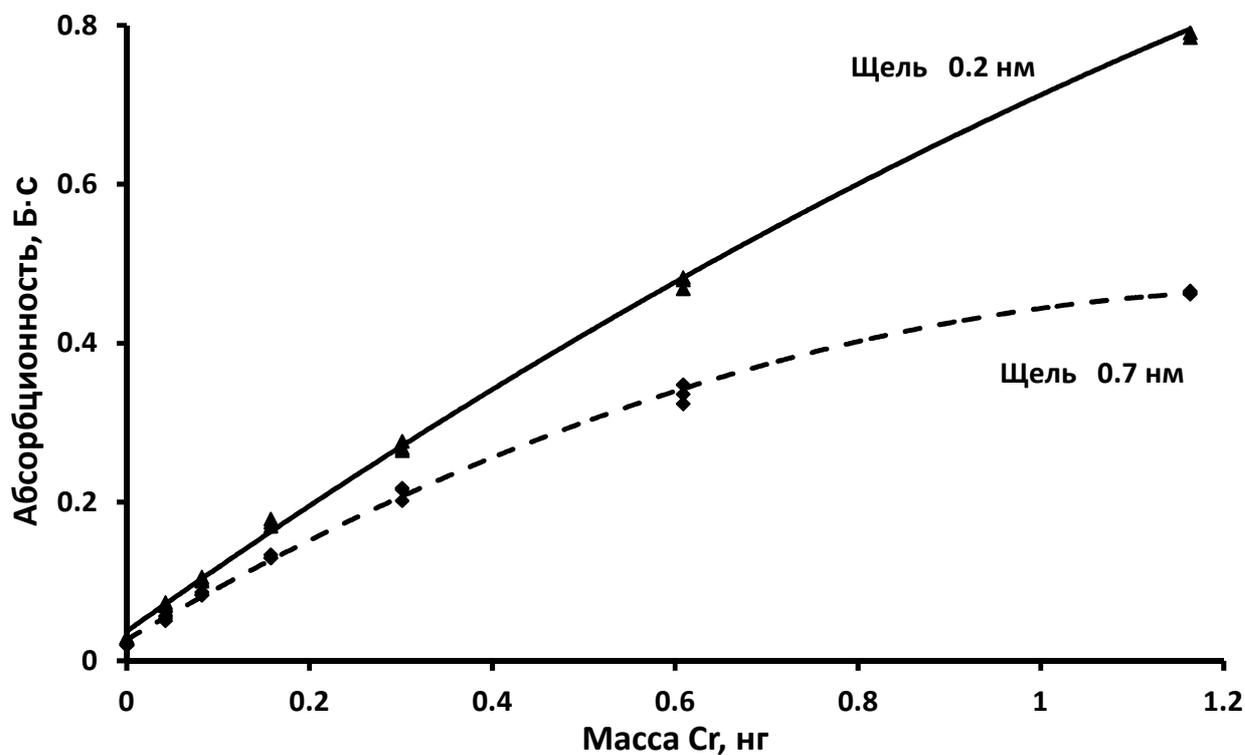


Рисунок 15. Калибровочные кривые для многоэлементной ЛПК при спектральных щелях 0.2 нм (сплошная линия) и 0.7 нм (пунктирная линия).

Причиной снижения величин A_r и A_{lim} при увеличении спектральной ширины щели может являться не абсорбируемое излучение, присутствующее в спектре лампы.

На Рисунке 16 представлены спектральные линии, которые могут присутствовать в спектре многоэлементной лампы и которые могут попадать в систему регистрации при спектральных щелях 0.2 и 0.7 нм. Для спектрометра Perkin Elmer Model 4100 ZL спектральный диапазон, попадающий на детектор, равен удвоенной величине спектральной ширины щели. При составлении схемы использовались данные из таблицы совпадения спектральных линий [2] .

Представленные данные позволяют предположить, что снижение уровней обращения и предельной абсорбционности при увеличении спектральной ширины щели с 0.2 до 0.7 нм связано с увеличением доли не абсорбируемого излучения. Его причиной могут являться спектральные линии Fe (358.12 нм) и Co (357.54 нм), которые при этом попадают в систему регистрации.

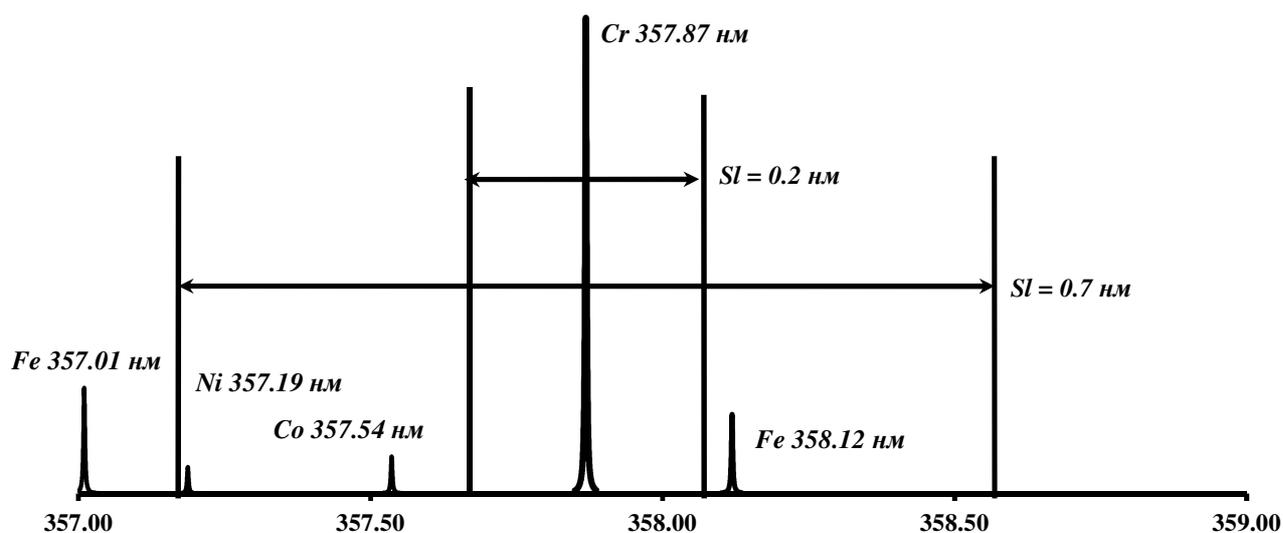


Рисунок 16. Схема линий в спектре многоэлементной лампы с полым катодом

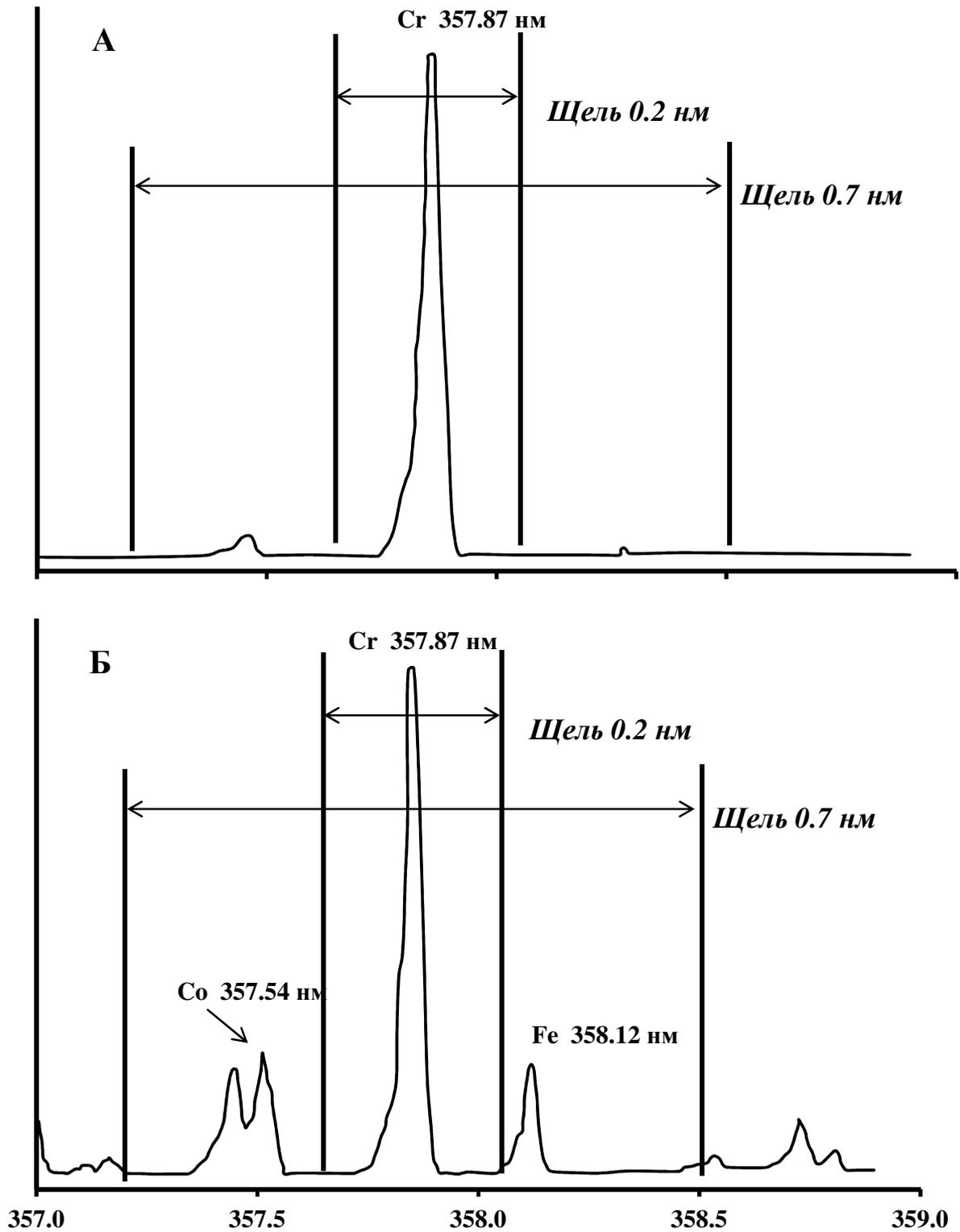


Рисунок 17. Спектр ЛПК (ток 16 мА):

А – одноэлементной ЛПК Cr;

Б – многоэлементной ЛПК Cr/Cu/Co/Fe/Mn/Ni.

Для проверки данного предположения было проведено сканирование спектра многоэлементной и одноэлементной лампы с полым катодом вблизи линии Cr 357.87 нм с использованием спектрометра Perkin-Elmer Model 5100 в режиме высокого разрешения при спектральной ширине щели 0.02 нм и токе через ЛПК 16 мА. Результаты сканирования представлены на Рисунке 17.

Оцифровка полученных спектров была произведена с помощью программы Get Data Graph Digitizer, версия 2.41.

В спектре многоэлементной ЛПК хорошо видны линии Co (357.54 нм) и Fe (358.12 нм), которые попадают в систему регистрации при увеличении спектральной ширины щели с 0.2 до 0.7 нм. Данные линии не поглощаются аналитом (хромом) и, следовательно, являются не абсорбируемым излучением. Но это излучение может быть удалено добавлением матрицы соответствующих элементов (железа и кобальта). Значимые (матричные) количества необходимы потому, что эти линии характеризуются достаточно низкой чувствительностью.

Для подтверждения предположения о влиянии не абсорбируемой радиации на величину уровня обращения A_r был проведен эксперимент с дозировкой матрицы.

Как известно, под не абсорбируемой радиацией понимается излучение, связанное с наличием в спектре источника линий элементов, отличных от определяемого или нерезонансных линий определяемого компонента. Если помимо определяемого компонента в атомизатор будут дозироваться в значительных количествах элементы, спектральные линии которых присутствуют в спектре источника, то в этом случае доля не абсорбируемого излучения будет снижаться, так как будет происходить их поглощение. При этом должно наблюдаться увеличение уровня обращения A_r и предельной абсорбционности A_{lim} .

Для проведения измерений была использована многоэлементная спектральная лампа (Cu/Cr/Fe/Ni/Mn/Co) производства фирмы Analytik Jena AG. Измерения производились для хрома на длине волны 357.9 нм, ток ЛПК – 15 мА, спектральная ширина щели 0.7 нм. Величина уровня обращения A_r и предельной абсорбционности

A_{lim} измерялись при дозировке в атомизатор 100 нг хрома. В качестве матрицы в атомизатор дозировались Fe и Co. Результаты измерений представлены в Таблице 6. Сходимость для трех параллельных измерений уровней A_r и A_{lim} не превышала 1 %.

Таблица 6. Параметры Зеемановской концентрационной кривой для многоэлементной ЛПК (Cr/Cu/Co/Mn/Fe/Ni) при определении хрома (357.9 нм) в матрице Fe и Co

Аналит	Параметры	
	A_r , Б	A_{lim} , Б
100 нг Cr	0.50	0.56
100 нг Cr + 5 мкг Fe и 5 мкг Co	0.85	1.04
100 нг Cr + 20 мкг Fe и 20 мкг Co	0.96	1.08

При сравнении величин A_r и A_{lim} в Таблицах 5 и 6 видно, что величины уровней A_r и A_{lim} при измерении с многоэлементной лампой в присутствии матрицы совпадают со значениями, полученными при измерении с одноэлементной лампой. Таким образом, наличие матрицы, поглощающей "посторонние", отличные от основной, линии в спектре источника излучения, позволяет значительно снизить долю не абсорбируемой радиации.

Сканирование спектров поглощения вблизи аналитической линии хрома 357.9 нм было проведено с использованием атомно-абсорбционного спектрометра высокого разрешения с источником сплошного спектра ContrAA-600 (Analytik Jena, Германия) с электротермическим атомизатором. Измерения проводились при дозировке в графитовую печь 2 нг Cr и по 100 нг Co и Fe. На Рисунке 18 представлены полученные спектры поглощения (усредненные за время атомизации 5 секунд).

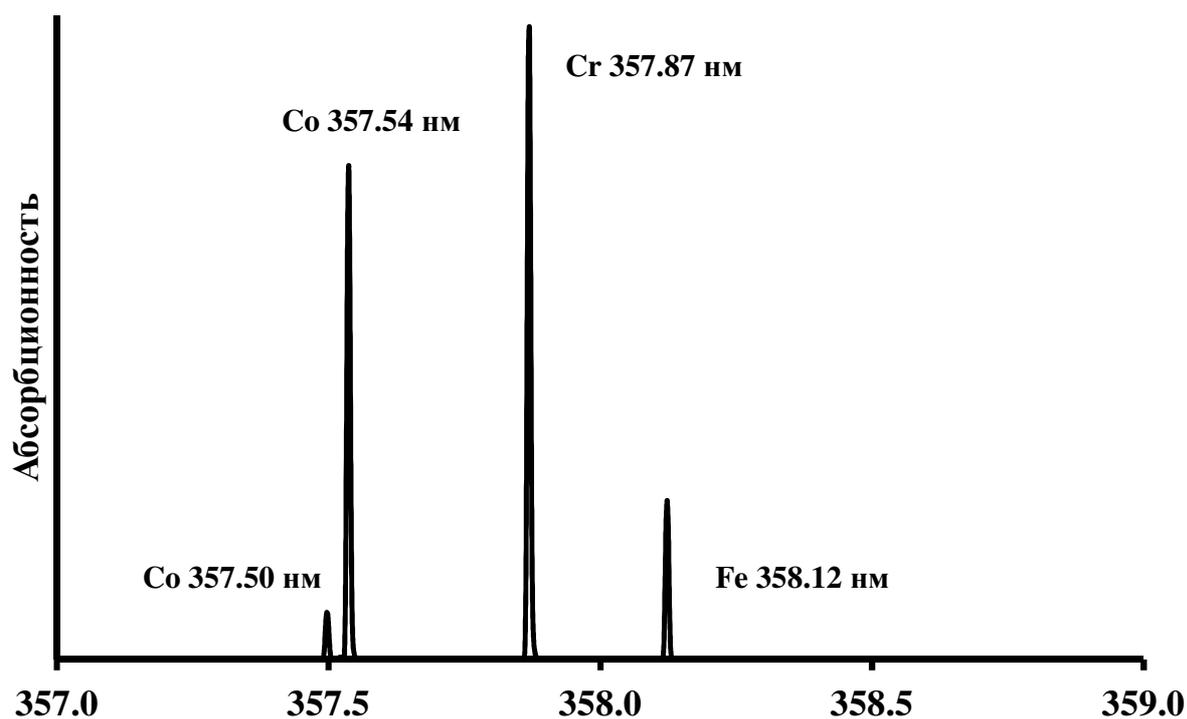


Рисунок 18. Спектр поглощения вблизи аналитической линии Cr 357.9 нм

В полученном спектре регистрируются следующие линии поглощения: Cr 357.869 нм ($m_0 = 4$ пг), Fe 358.120 нм ($m_0 = 520$ пг), Co 357.536 нм ($m_0 = 250$ пг) и Co 357.496 нм ($m_0 = 2350$ пг) [53]. Поглощение света линиями железа и кобальта при совместной с хромом дозировки значительных количеств этих элементов (матрицы) приводит к снижению уровня рассеянного излучения и увеличению величин A_r и A_{lim} (Таблица 6).

Из результатов, представленных в таблице 5, следует, что для одноэлементной ЛПК при увеличении ширины щели с 0.2 до 0.7 нм наблюдается значительное снижение величин A_r и A_{lim} . В спектрах ламп, представленных на Рисунке 17, четко просматривается спектральная линия с длиной волны около 357.45 нм. На Рисунке 19 представлены результаты сканирования спектра многоэлементной ЛПК при токе 8 мА.

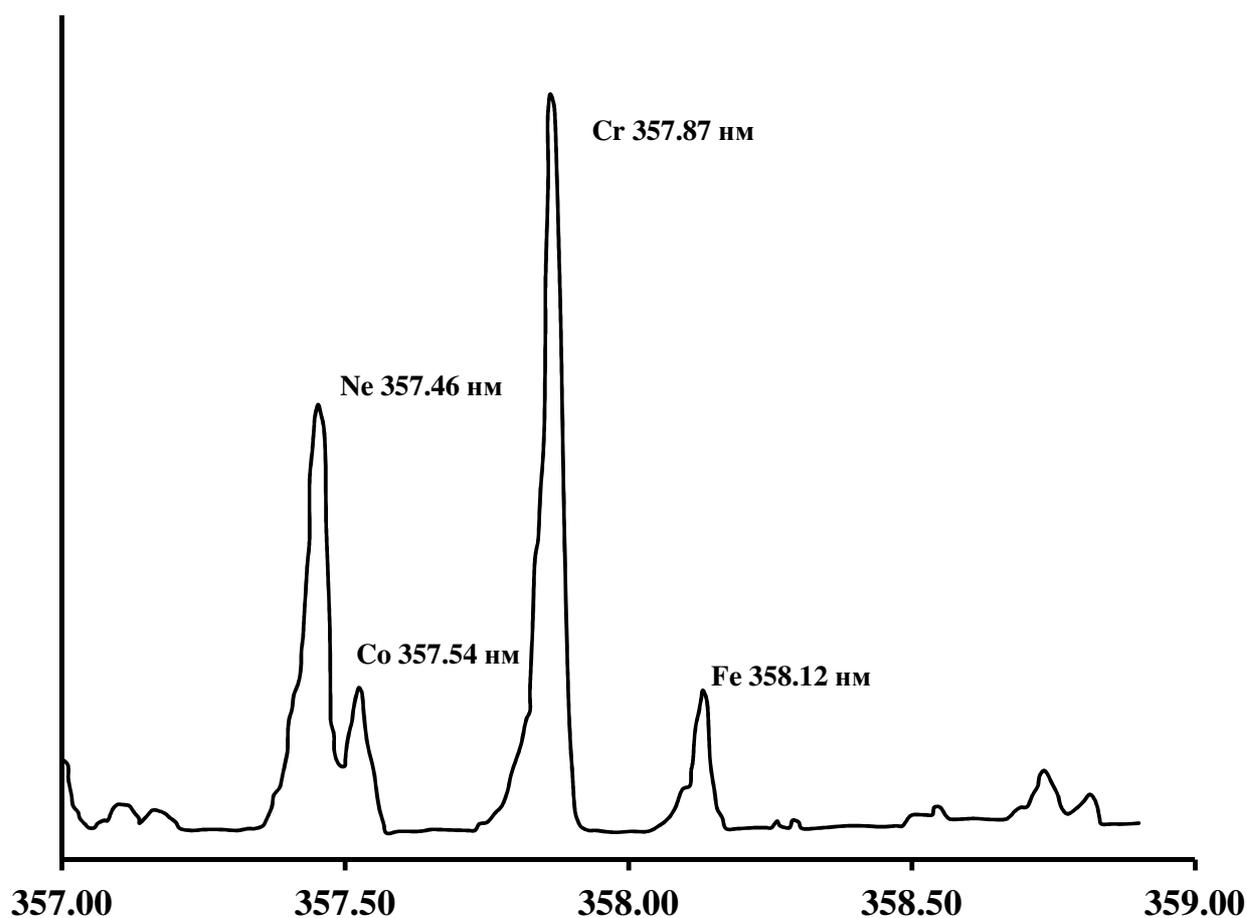


Рисунок 19. Спектр многоэлементной ЛПК Cu/Cr/Fe/Ni/Mn/Co (ток 8 мА)

В представленном спектре обращает на себя внимание увеличение относительной интенсивности данной линии по сравнению с интенсивностью линий элементов материала катода (Cr, Co, Fe). Такая зависимость интенсивности от величины тока ЛПК характерна для линий газа, заполняющего спектральную лампу. Анализ таблиц спектральных линий [9] позволил идентифицировать ее как линию Ne 357.46 нм. Данная линия не попадает в систему регистрации при малой ширине щели (0.2 нм). При раскрытии щели до 0.7 нм она попадает на фотоприемник и создает именно то не абсорбируемое излучение, которое приводит к двукратному снижению величин A_r и A_{lim} даже для одноэлементной ЛПК (Таблица 5).

Как было отмечено выше, интенсивность спектральных линий материала катода и инертного газа, заполняющего лампу, по-разному меняется в зависимости от

величины тока. Увеличение тока должно приводить к значительному увеличению интенсивности линий элементов, из которых состоит полый катод. Интенсивность линий благородного газа, которым заполнена лампа, при увеличении тока увеличивается в значительно меньшей степени. Данный эффект хорошо виден при сравнении спектра многоэлементной лампы при токе 16 мА (Рисунок 17 Б) и 8 мА (Рисунок 19). Необходимо отметить, что режим сканирования спектра источника излучения коммерческого атомно-абсорбционного спектрометра не позволяет напрямую сравнивать интенсивности линий для разных спектров. Интенсивность линии «основного» элемента (в нашем случае Cr 357.78 нм) всегда будет соответствовать условной 100%. Однако данный режим позволяет достаточно корректно сравнить интенсивности линий в пределах одного сканирования.

На Рисунке 20 представлены результаты сканирования спектра одноэлементной ЛПК на Cr при различных токах через ЛПК.

На спектрах хорошо видны линии Cr (357.78 нм) и Ne (357.46 нм). При силе тока 1 мА (Рисунок 20 г) в спектре ЛПК наблюдается только линия Ne. При силе тока 2 мА (Рисунок 20 в) в спектре лампы появляется также линия Cr. При этом ее относительная интенсивность заметно меньше, чем линии неона. В дальнейшем (Рисунок 20 а-б) по мере увеличения силы тока значительно увеличивается интенсивность линии хрома, а относительная интенсивность линии неона значительно снижается.

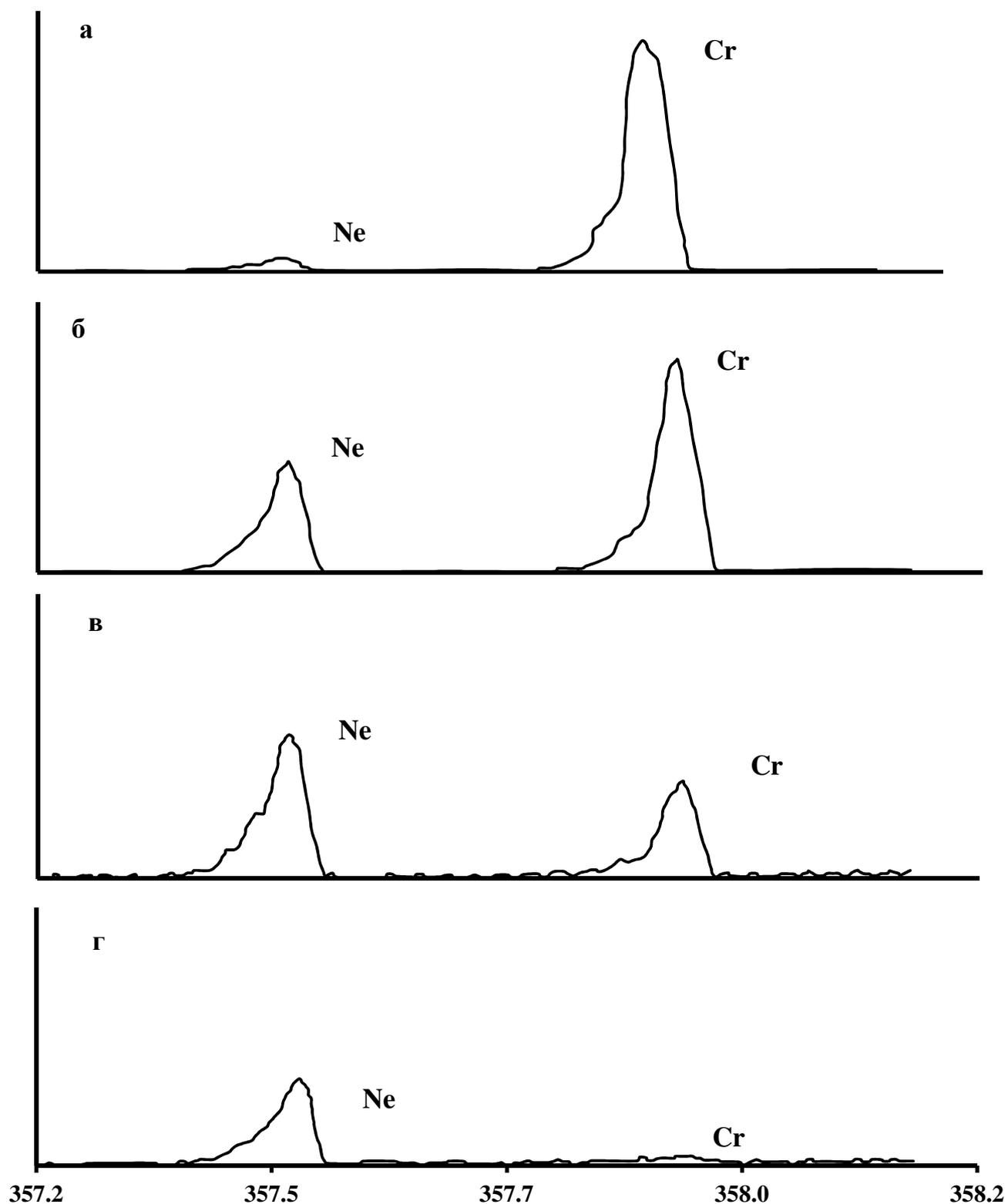


Рисунок 20. Спектр ЛПК Cr при различных токах. Относительные интенсивности линий Cr 357.87 нм и Ne 357.46 нм:
а – $I = 10$ мА, б – $I = 3$ мА, в – $I = 2$ мА, г – $I = 1$ мА.

Известно, что при снижении тока через ЛПК снижается величина не абсорбируемого излучения и, как следствие этого, увеличивается уровень обращения. Однако при определении хрома на линии 357.87 нм с использованием ЛПК, заполненной неоном, при спектральных щелях более 0.4 нм при малых токах должен наблюдаться обратный эффект – эффект снижения уровня обращения при снижении тока менее какой-то величины. Данный эффект связан с изменением соотношения интенсивностей линий Cr 357.87 нм и Ne 357.46 нм.

Для подтверждения данного предположения были проведены измерения величины уровня обращения A_r для линии Cr 357.87 нм при различных щелях и токах через ЛПК. Измерения проводились на атомно-абсорбционном спектрометре ZEEnit-700P (Analytik Jena, Германия) с использованием одноэлементной ЛПК на Cr с Ne в качестве инертного газа. Измерения проводились при токах от 2 до 20 мА. Нижняя граница тока определялась программным обеспечением спектрометра, которое не позволяет устанавливать значение менее 2 мА. В графитовую печь дозировалось 100 мкг хрома. Определение величины уровня обращения проводилось для трех параллельных измерений, сглаженных программным обеспечением спектрометра по алгоритму Савицкого-Галея. Результаты измерений представлены на Рисунке 21. При самой узкой щели спектрометра (0.2 нм) наблюдается монотонное снижение величины уровня обращения A_r с ростом тока через ЛПК. При больших величинах спектральной щели (0.5, 0.8 и 1.2 нм) в систему регистрации спектрометра помимо аналитической линии Cr 357.87 нм попадает и линия Ne 357.46 нм. При малых величинах тока (от 2 до 4 мА) с ростом тока наблюдается увеличение величины уровня обращения, поскольку при этом наблюдается значительное увеличение интенсивности линии хрома по отношению к интенсивности линии неона и, соответственно, снижение величины не абсорбируемого излучения. При дальнейшем увеличении тока (свыше 5 мА) наблюдается типичное снижение величины уровня обращения, обусловленное уширением аналитической линии.

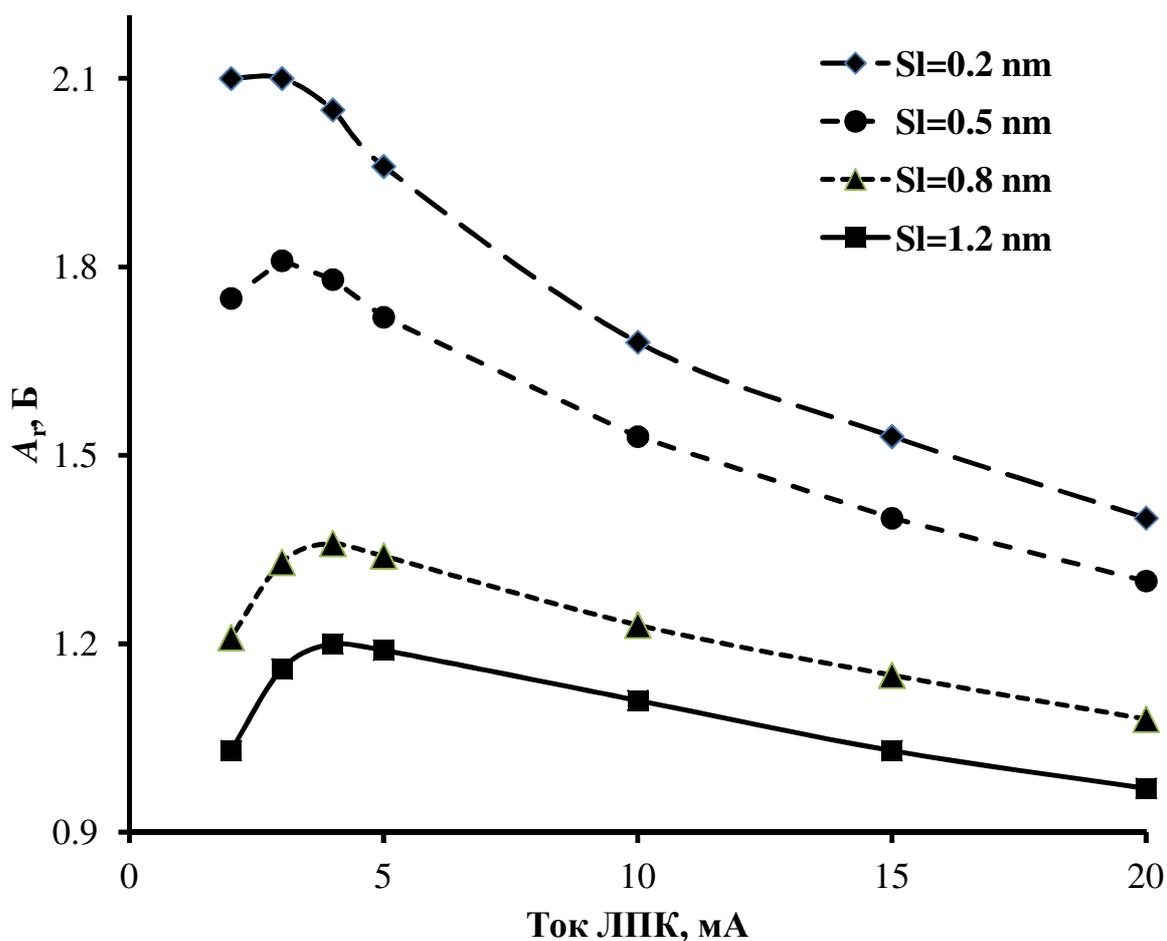


Рисунок 21. Зависимость уровня обращения A_p от величины тока одноэлементной ЛПК на Cr (357.9 нм) при различных щелях спектрометра (SI).

Зависимость величины предельной абсорбционности A_{lim} от величины тока при различных щелях представлена на Рисунке 17. Величина предельной абсорбционности определяется только наличием неселективного поглощения и практически не изменяется при уширении аналитической линии с ростом тока. Величина A_{lim} увеличивается при широких щелях с ростом тока от 2 до 5 мА. При дальнейшем увеличении тока предельная абсорбционность практически не изменяется (Рисунок 22).

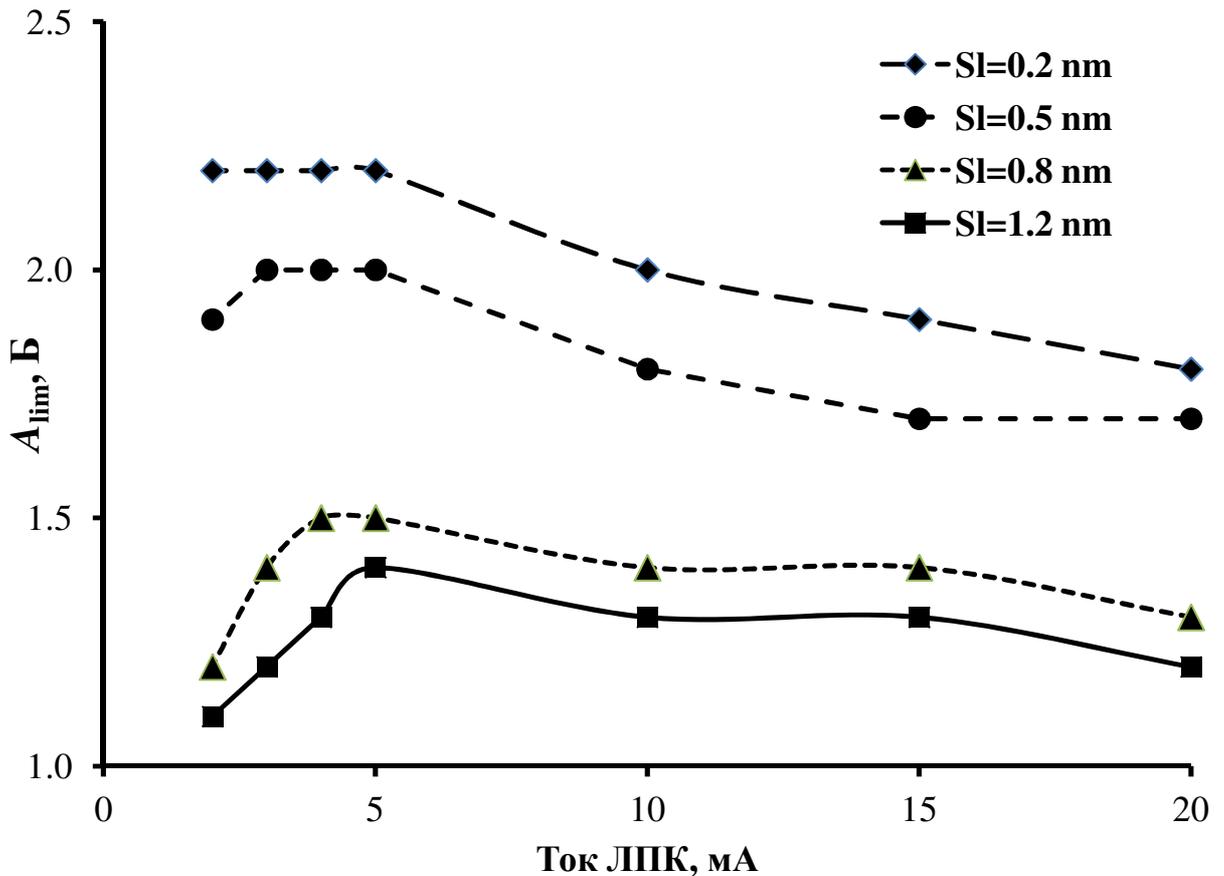


Рисунок 22. Зависимость величины предельной абсорбционности A_{lim} от величины тока одноэлементной ЛПК на Cr (357.9 нм) при различных щелях спектрометра (Sl)

2.4.2. Лампа с полым катодом ЛПК и ВЧ лампа на Cd

Влияние характеристик источника излучения на параметры концентрационной кривой может быть проиллюстрировано при проведении измерений с использованием различных типов ламп: высокочастотной лампы (EDL SYSTEM 2) и ЛПК для Cd (Таблица 7). Измерения проводились на спектрометре Perkin Elmer Model 4100ZL.

Представленные в Таблице 7 результаты показывают, что при использовании высокочастотной лампы снижается не только уровень не абсорбируемого излучения,

но и самообращение спектральной линии. При этом наблюдается увеличение чувствительности и снижение степени кривизны градуировочного графика.

Таблица 7. Параметры Зеемановской концентрационной кривой для ЛПК и EDL при различных спектральных щелях (Cd, 228.8 нм)

Лампа	Щель, нм	Параметр			
		R	$A_r, Б$	$A_{lim}, Б$	Энергия
ЛПК, $I=4$ мА	0.2	0.78	0.74	1.5	40
	2.0	0.78	0.56	1.1	55
EDL System 2, $I=230$ мА	0.2	0.86	1.9	2.4	62
	2.0	0.85	1.5	2.0	67

На рисунке 23 представлены градуировочные графики для Cd (228.8 нм), полученные для ЛПК и высокочастотной лампы при спектральной ширине щели 0.2 нм.

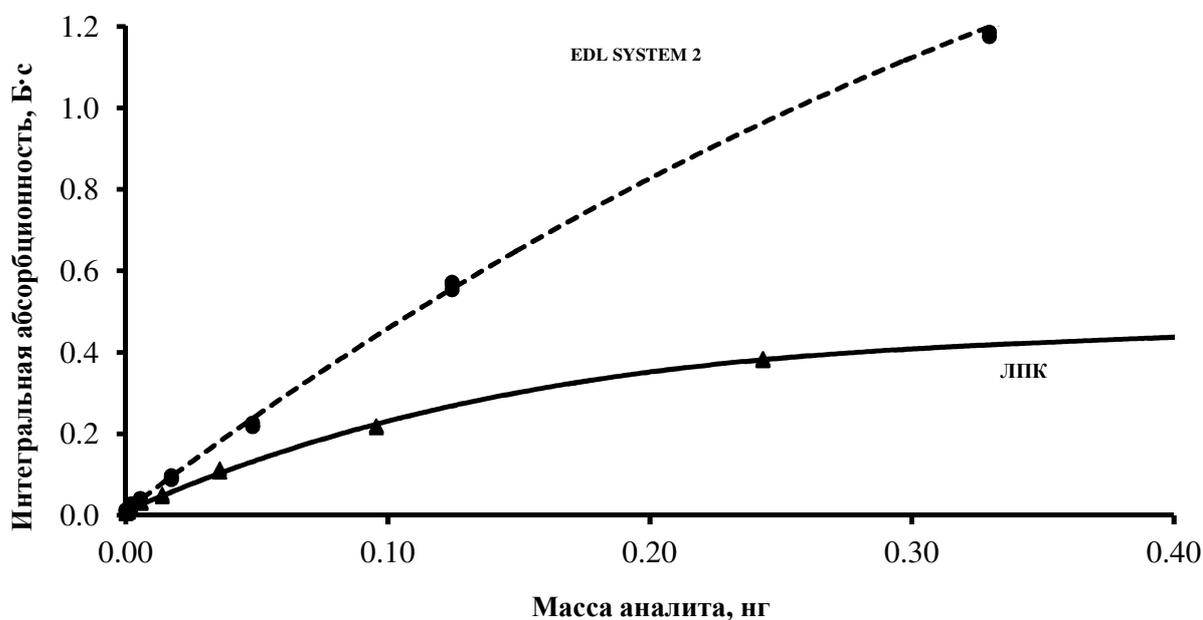


Рисунок 23. Градуировочные зависимости для ЛПК (▲) и высокочастотной лампы (EDL) (●) (Cd, 228.8 нм ток ЛПК 4 мА, ток EDL 230 мА, щель 0.2 нм).

На Рисунке 24 представлены спектры излучения для лампы с полым катодом и высокочастотной лампы (производства компании Perkin Elmer, США) вблизи линии Cd 228.8 нм. В качестве инертного газа в обеих лампах используется Ar.

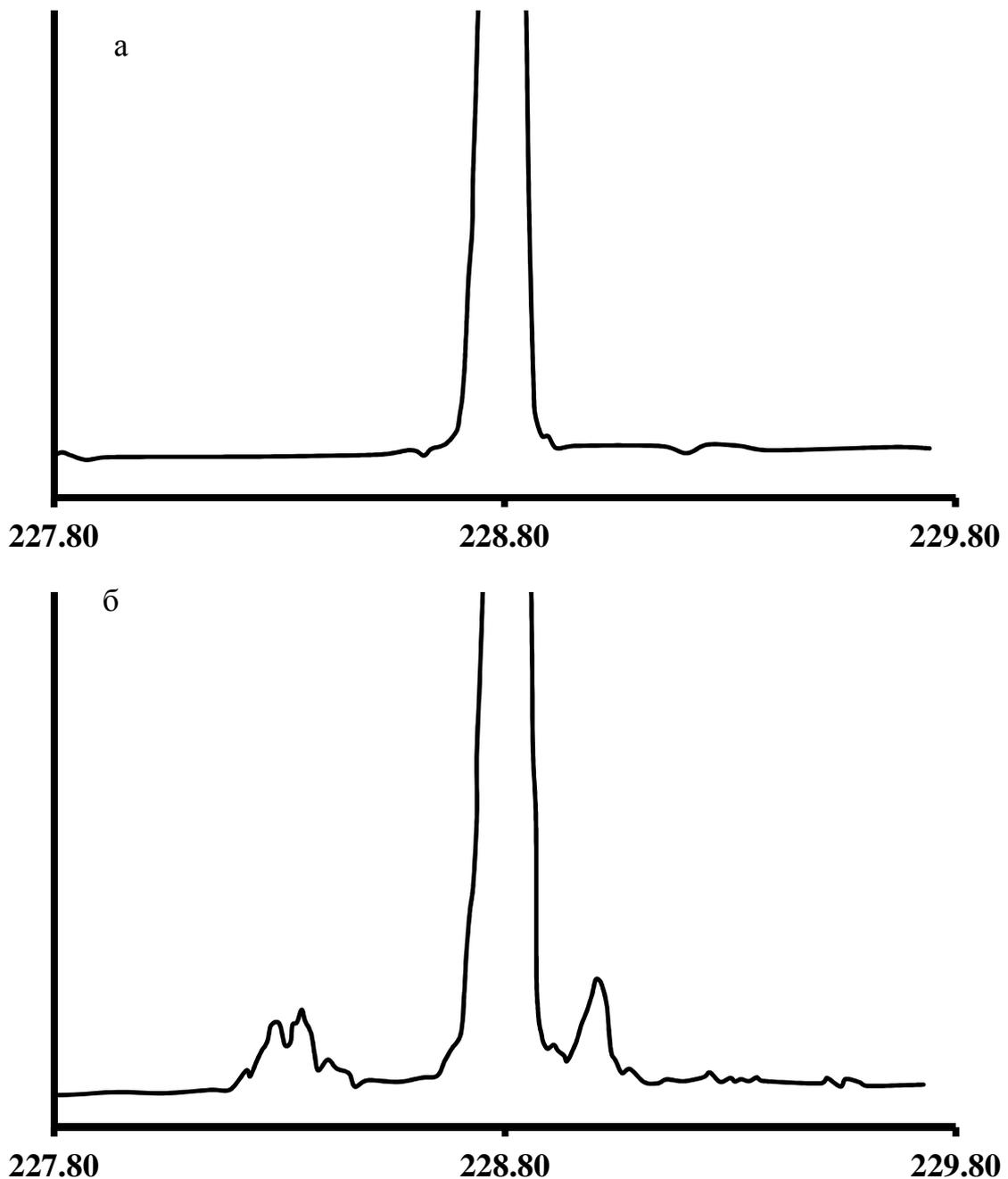


Рисунок 24. Спектры излучения для высокочастотной лампы (EDL) (а) и ЛПК (б) (Cd, 228.8 нм ток EDL 230 мА, ток ЛПК 4 мА)

Сканирование спектров ламп проводилось на спектрометре Perkin Elmer model 5100 при спектральной ширине щели 0.02 нм. Для четкой прорисовки линий с малой интенсивностью измерения проводились при напряжении на ФЭУ 900 В. В этих условиях максимум интенсивности линии кадмия находится в диапазоне насыщения ФЭУ.

На рисунке хорошо видно, что спектр высокочастотной лампы очень "чистый", т.е. вблизи линии кадмия в диапазоне ± 1 нм отсутствуют какие-либо спектральные линии. Именно отсутствие постороннего излучения приводит к большим величинам уровня обращения (Таблица 7) и незначительной кривизне градуировочного графика (Рисунок 23). В спектре лампы с полым катодом, наоборот, наблюдаются несколько линий с максимумами около 228.30 нм, 228.34 нм, 228.44 нм и 229.00 нм. Данные линии могут принадлежать Fe (228.309 нм и 228.330 нм), Co (228.439 нм и 229.054 нм) и Ni (228.998 нм) [53].

В Таблице 8 представлены результаты определения уровня обращения (A_r) и предельной абсорбционности (A_{lim}) для ЛПК Cd, полученные на спектрометре AAnalyst-600 (Perkin Elmer) при спектральной ширине щели 2 нм при различных токах через ЛПК. В атомизатор дозировалось 2.5 нг Cd в качестве аналита, а так же по 30 мкг Fe, Co и Ni. Атомизация проводилась при температуре 2200 °С. Проводилось по три параллельных измерения. Добавление железа и кобальта не изменяло предельную абсорбционность A_{lim} . При добавлении никеля во всех случаях наблюдалось увеличение величины A_{lim} , что свидетельствует о снижении уровня не абсорбируемого излучения за счет поглощения его компонентами матрицы. Изменений уровня обращения A_r не наблюдалось во всех случаях.

Представленные в таблице результаты наглядно показывают, что при рабочих токах ЛПК (4-6 мА) уровень обращения определяется уширением спектральной линии кадмия. При этом добавление матрицы никеля, линия которого расположена вблизи аналитической линии кадмия (Ni, 228.998 нм), не изменяет величину уровня

обращения. При этом меняется только величина предельной абсорбционности, которая во всех случаях зависит только от наличия не абсорбируемого излучения.

Таблица 8. Параметры зеэмановской концентрационной кривой для ЛПК при определении кадмия (Cd, 228.8 нм), спектральная ширина щели 2 нм

Ток ЛПК, мА	Аналит	Параметры	
		A_r , Б	A_{lim} , Б
8	2.5 нг Cd	0.40	1.35
	2.5 нг Cd + 30 мкг Ni	0.40	1.52
6	2.5 нг Cd	0.50	1.20
	2.5 нг Cd + 30 мкг Ni	0.50	1.50
4	2.5 нг Cd	0.70	1.20
	2.5 нг Cd + 30 мкг Ni	0.70	1.60
3	2.5 нг Cd	0.60	1.05
	2.5 нг Cd + 30 мкг Ni	0.60	1.14

2.4.3. ЛПК на Cd с неоном и аргоном

При изготовлении ЛПК для кадмия обычно в качестве инертного газа используется аргон. В последнее время на рынке появились ЛПК для кадмия с неоном в качестве инертного газа. Этот же газ используется в многоэлементных лампах, например Cd/Pb или Cd/Pb/Ag.

В Таблице 9 представлены параметры зеэмановской концентрационной кривой для ЛПК с неоном и аргоном в качестве инертного газа. Измерения для одноэлементных ламп проводились при токах, рекомендованных производителем на спектрометре ZEEnit-600 (Analytik Jena, Германия). Для многоэлементной лампы

рекомендован ток 5 мА, но для аналитических измерений при определении кадмия обычно используется более низкий ток. Спектральная ширина щели в обоих случаях составляет 0.8 нм.

Таблица 9. Параметры зеemanовской концентрационной кривой при определении кадмия (Cd, 228.8 нм) с использованием ЛПК с аргоном и неоном

Лампа/ Инертный газ	Ток, мА	Параметры		
		m_0 , пг	A_r , Б	A_{lim} , Б
Cd/Ar	3	2.4	0.46	1.1
Cd/Ne	2	1.2	0.80	1.8
Cd-Pb/Ne	2	1.1	1.6	2.3
Ag-Cd-Pb/Ne	2	1.1	1.6	2.4

Одноэлементная лампа, заполненная аргоном, выделяется относительно остальных очень низкой чувствительностью и очень низкой величиной уровня обращения (значительно ниже стандартных значений, приведенных для стандартных условий производителем спектрометра).

Многоэлементные лампы характеризуются хорошей чувствительностью (соответствующей "стандартным условиям"), однако величина уровня обращения оказывается значительно выше величины, характерной для одноэлементной лампы в стандартных условиях. Причиной этому является низкий уровень не абсорбируемого излучения и незначительное уширение спектральной линии, поскольку используемый в этом случае ток (2 мА) значительно меньше величины, рекомендованной производителем в качестве рабочего тока (5 мА). Вместе с тем, достаточно высокая яркость позволяет работать с меньшими токами, что позволяет существенно расширить динамический диапазон и увеличить срок службы лампы.

На Рисунке 25 представлены спектры одноэлементных ЛПК на кадмий (производства компании Analytik Jena, Германия), в которых в качестве инертного газа используется аргон и неон. Сканирование проводилось с использованием

спектрометра Perkin-Elmer Model 5100 в режиме высокого разрешения при спектральной ширине щели 0.02 нм и напряжении на ФЭУ 950 В.

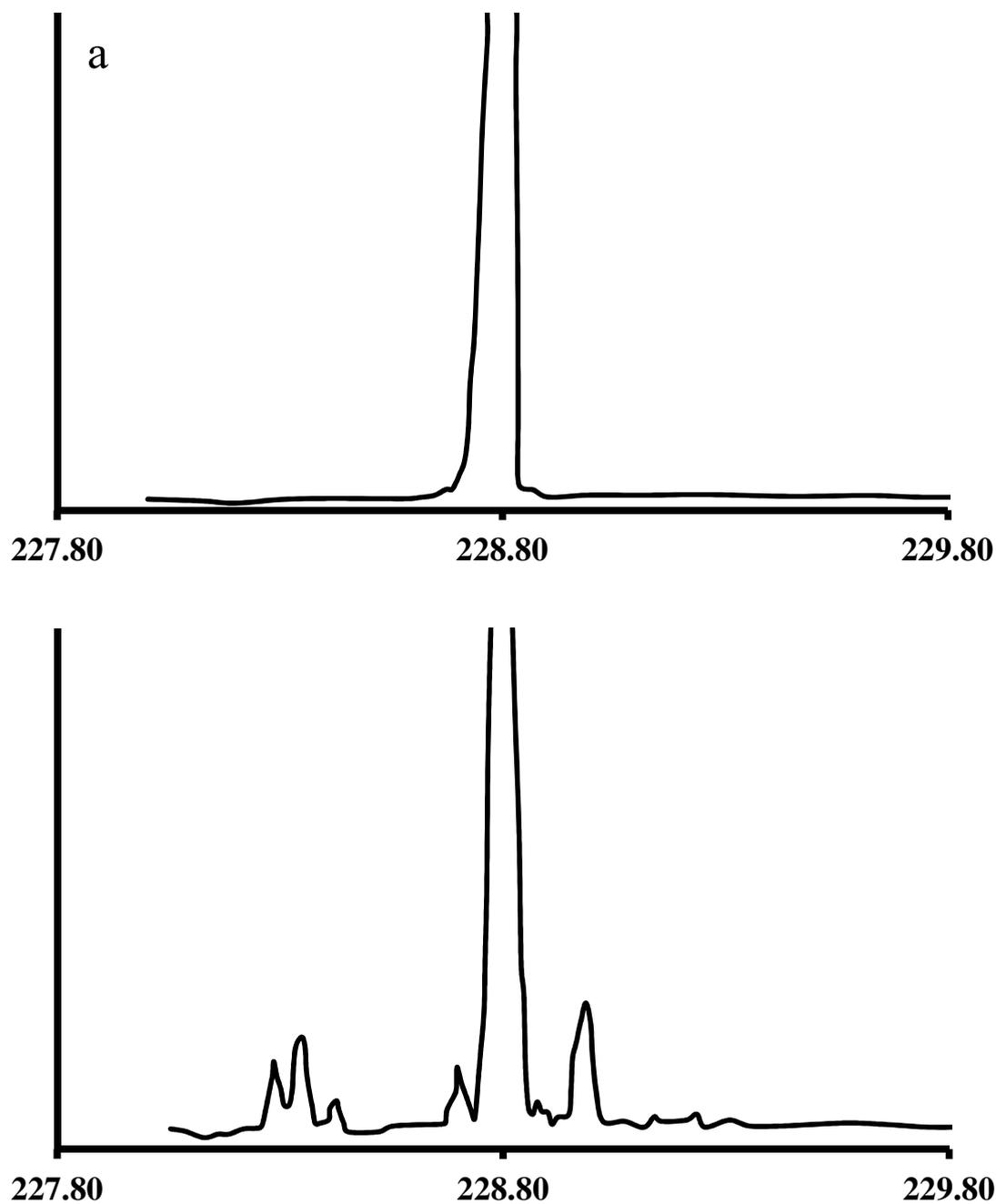


Рисунок 25. Спектры излучения линии Cd 228.8 нм ЛПК заполненные (а) неоном, ток 2 мА (б) аргоном, ток 3 мА.

Из представленных на Рисунке 25 спектров хорошо видно, что при использовании в качестве инертного газа в ЛПК аргона вблизи линии кадмия 228.8 нм наблюдается несколько достаточно интенсивных линий (как и для ЛПК другого производителя на рисунке 24б). При использовании в качестве инертного газа неона в спектре ЛПК этих спектральных линий не наблюдается, как и для случая высокочастотной лампы с аргоном (рисунок 24а). Наличие достаточно интенсивных спектральных линий вблизи с резонансной линией кадмия приводит к высокому уровню не абсорбируемого излучения, что приводит к снижению чувствительности, а также к снижению величин уровня обращения и предельной абсорбционности (Таблица 9).

2.5. Выводы к главе 2

Основным фактором, влияющим на степень кривизны градуировочных зависимостей, является наличие в спектре источника света не абсорбируемого излучения. Во всех случаях, снижение доли не абсорбируемого излучения (уменьшение спектральной ширины щели, снижение тока, использование иного источника излучения) приводит к снижению степени кривизны градуировочного графика и увеличению уровня обращения (A_r). Величина уровня обращения для конкретной лампы постоянна в течение длительного времени и зависит только от величины тока и используемой щели. Величина уровня обращения не зависит от конфигурации используемой графитовой печи.

Правильный выбор источника излучения и условий проведения измерений позволяет снизить возможное негативное влияние не абсорбируемого излучения на аналитические характеристики методики проведения измерений.

ГЛАВА 3. Линеаризация градуировочных графиков в Зеемановской ААС с ЭТА

Значительная кривизна градуировочных графиков в Зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии является одним из существенных недостатков данного метода анализа.

Преимущества использования линейной калибровочной зависимости при проведении аналитических измерений очевидны:

- Возможность проведения калибровки по минимальному количеству точек позволяет упростить саму процедуру градуировки и сократить продолжительность калибровки. Построение прямолинейной калибровочной зависимости возможно по трем точкам, в то время как для адекватного описания нелинейного градуировочного графика необходимо использование не менее пяти точек.
- Возможность использования при калибровке метода добавок, который широко применяется при анализе образцов со сложным матричным составом.
- Использование линейной градуировочной зависимости позволяет исключить возможность ошибок, связанных с влиянием условий измерения и матричного состава пробы на форму абсорбционных импульсов [25].
- Упрощение процедуры оценки погрешности калибровки.

Идея метода линеаризации калибровочных зависимостей в Зеемановской ААС с ЭТА, предложенного Львовым и соавторами [24, 27, 29], состоит в пересчете текущих значений абсорбционности (A_z) для всех точек абсорбционного импульса в идеализированные значения A_0 , соответствующие закону Бугера-Ламберта-Бера (Рисунок 26).

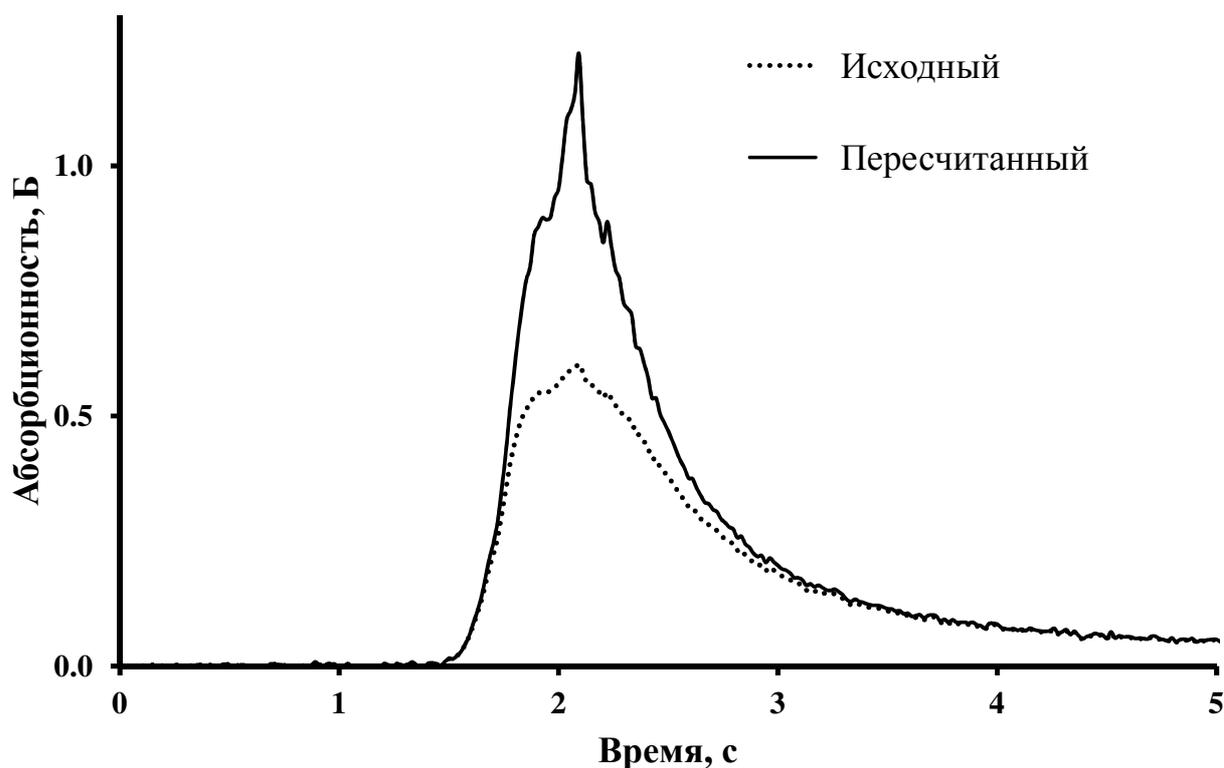


Рисунок 26. Пересчет импульса абсорбции

При правильном выборе алгоритма пересчета величина интегральной абсорбции для восстановленного таким образом импульса $Q(A_0)$ должна быть пропорциональна массе аналита. В процедуре градуировки используется как минимум два стандартных раствора для определения трех параметров алгоритма: начального наклона градуировочного графика (характеристической массы m_0), уровня обращения концентрационной кривой A_r и параметра R_d , характеризующего наклон кривой в области провала. Принципиальная возможность использования метода линеаризации для расширения динамического диапазона была экспериментально продемонстрирована в работах [27, 29, 48] для пятнадцати элементов. Метод позволил расширить динамический диапазон для Зеемановской ААС с ЭТА до 3-4 порядков изменения массы аналита выше предела обнаружения.

В работах [32, 48] была установлена принципиальная возможность автоматической работы алгоритма в режиме *on-line*, а в работе [26] было показано, что метод обеспечивает высокую точность измерений во всем линеаризованном диапазоне. Однако вопрос правильности аналитических результатов, получаемых при использовании алгоритма линеаризации, систематически не исследовался.

Попытка оценки правильности работы алгоритма линеаризации была предпринята Юзефовским и соавторами [56], предложившими усовершенствовать алгоритм линеаризации до уровня обращения с помощью дополнительного параметра градуировки R' , аналогичного зеемановскому отношению чувствительности R , определяемого вблизи уровня обращения по формуле $R'=A_r/A_{lim}$, где A_{lim} – предельное значение сигнала абсорбционности при выключенном магнитном поле. При этом правильность линеаризации оценивали по двум критериям. Первый критерий – коэффициент корреляции для градуировочной прямой, аппроксимирующей все экспериментальные точки, должен быть не менее 0.999. Второй критерий – величина скорректированной характеристической массы $m_{o(corr)}$, [47], соответствующая наклону линеаризованного градуировочного графика, должна совпадать с теоретически рассчитанной величиной m_o [33].

Данный подход к оценке правильности линеаризации имеет принципиальные недостатки. Коэффициент корреляции является усредненной (интегральной) характеристикой и слабо реагирует на локальные отклонения экспериментальных точек относительно линейного градуировочного графика. Равенство теоретически рассчитанного и измеренного значения характеристической массы не может выступать надежным критерием, так как обе величины не могут быть определены достаточно корректно. Действительно, приведенное в работе [33] сравнение значений характеристических масс, теоретически рассчитанных и измеренных в условиях, близким к идеальным, выявило не только некоторое систематическое расхождение этих величин, связанное с приближенным характером используемой для расчета модели, но и более серьезные расхождения, связанные с неточностью

используемых в расчетах параметров: сил осцилляторов, α -параметров и сверхтонкой структуры линий. Что касается значений $m_{o\text{ (cor)}}$, то, как было показано в работе [24], коррекция характеристических масс не всегда дает удовлетворительные результаты. Для устранения неопределенности, связанной с неизвестным значением величины характеристической массы, в работах [24, 29] было предложено приводить наклон градуировочного графика, полученный после процедуры восстановления, к начальному наклону некорректированного градуировочного графика путем введения в алгоритм нормировочного множителя. С учетом сказанного выше представляется целесообразным сравнивать значения m_o для всех масс аналита, полученных после процедуры восстановления, с величиной характеристической массы, соответствующей линейному участку градуировочного графика.

3.1. Алгоритм линеаризации

Используемые на данном этапе алгоритмы линеаризации были основаны на предположении о том, что в большинстве случаев основной причиной проявления кривизны градуировочных графиков в Зеемановской ААС с ЭТА являются спектральные условия, и в частности, уширение линии излучения, а также наличие в спектре источника не абсорбируемого излучения.

Данный раздел посвящен оценке эффективности работы алгоритма линеаризации вблизи уровня обращения и возможности ее улучшения путем вариации ширины щели и тока лампы с полым катодом (изменения спектральных условий), а также путем введения в алгоритм линеаризации варьируемого параметра Δ .

Правильность метода восстановления формы абсорбционного импульса зависит от степени близости реальной концентрационной кривой $A_z=f(A_0)$ и расчетной аппроксимирующей кривой. Применяемый алгоритм линеаризации использует для аппроксимации концентрационной кривой до уровня обращения, A_r формулу, предложенную в работе [29]:

$$A_z = \log \frac{1 + \alpha^*}{10^{-(1+\alpha^*)A_0} + \alpha^*}, \quad (7)$$

где $(1+\alpha^*)$ – нормировочный множитель. Используемый в этом выражении параметр α^* определяется через величину уровня обращения A_r :

$$\alpha^* = (10^{A_r+\Delta} - 1)^{-1}, \quad (8)$$

где Δ - малый по величине параметр алгоритма. Этот параметр был введен ранее [29] для исключения неопределенности, возникающей при восстановлении значений A_z , достигающих уровня обращения A_r . Его величина была принята постоянной 0.001

для лучшей аппроксимации реальных концентрационных кривых, полученных для Mg, Zn и Cu в пламенной Зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии [29].

Форма реальной концентрационной кривой зависит от разных факторов, главным из которых является присутствие в потоке света, регистрируемом фотоприемником, доли не абсорбируемого излучения [26] и самопоглощения аналитической линии. Первоначально считалось [24, 26 - 29, 47, 48, 56], что их влияние на кривизну концентрационной кривой может быть описано в рамках единой модели не абсорбируемого излучения. Однако позднее Львов и соавторы [28] показали, что эти факторы по-разному влияют на параметры концентрационной кривой m_0 , R и A_r . Поэтому влияние не абсорбируемого излучения и самопоглощения линии излучения на форму концентрационной кривой целесообразно рассматривать отдельно.

Задача моделирования концентрационных кривых в случае уширения в результате самопоглощения линии излучения представляется достаточно неопределенной ввиду вариации самопоглощения в широких пределах, вплоть до полного самообращения спектральной линии. При описания сигнала A_{off} для уширенной линии был использован классический случай, рассмотренный в книге Митчела и Земанского [36]:

$$A_{\text{off}} = -\log \left(1 - \sum_{i=1}^{n=40} (-1)^{n+1} \frac{(k_0 I)^n}{n! \sqrt{1+n\beta^2}} \right), \quad (9)$$

где параметр β соответствует отношению ширины линии излучения, $\Delta\nu_e$, к ширине линии поглощения, $\Delta\nu_a$:

$$\beta = \Delta\nu_e / \Delta\nu_a \quad (10)$$

Для того, чтобы начальные наклоны концентрационных кривых совпадали для всех моделей, свяжем величину k_{0l} в выражении (9) с величиной A_0 нормировочным соотношением:

$$k_{o'} = \frac{A_o}{\log e} \frac{1}{dA_z / dA_o} = \frac{A_o}{\log e} \frac{\sqrt{1+\beta^2}}{R}, \quad (11)$$

где dA_z/dA_o – нормировочный множитель, который для данного случая определяется по первой точке разностной кривой: $A_z=f(A_o)$.

Зависимость сигнала A_{on} от концентрации с учетом нормировки и выражения (11) для случая уширенной линии излучения и при отсутствии не абсорбируемого излучения можно аппроксимировать линейной функцией:

$$A_{on} = \frac{1-R}{R} A_o. \quad (12)$$

В случае монохроматической линии излучения при наличии некоторой доли не абсорбируемого излучения α , регистрируемого фотоприемником, концентрационная кривая для сигнала при выключенном магнитном поле A_{off} описывается выражением:

$$A_{off} = \log \frac{1+\alpha}{10^{-(1+\alpha)A_o/R} + \alpha}, \quad (13)$$

а для сигнала при включенном магнитном поле A_{on} – выражением, полученным в работе [12]:

$$A_{on} = \log \frac{1+\alpha}{10^{-(1-R)(1+\alpha)A_o/R} + \alpha}, \quad (14)$$

где $(1+\alpha)/R$ – нормировочный множитель, а параметр α определяется через экспериментально полученные величины A_r и R с помощью следующего выражения:

$$\alpha = \frac{R(1-R)^{(1-R)/R}}{10^{A_r/R} - 10^{A_r \cdot (1-R)/R}}. \quad (15)$$

На Рисунке 27 представлены концентрационные кривые для исходных сигналов A_{off} и A_{on} , а также результирующие концентрационные кривые для $A_z=f(A_o)$, при достаточно типичных для Зеемановской атомно-абсорбционной спектроскопии

условиях: $A_r=1.2$ и $R=0.8$ и параметре $\beta=0.8$. На Рисунке 27б представлена аппроксимирующая кривая при величине параметра $\Delta=0.01$ (пунктирная линия).

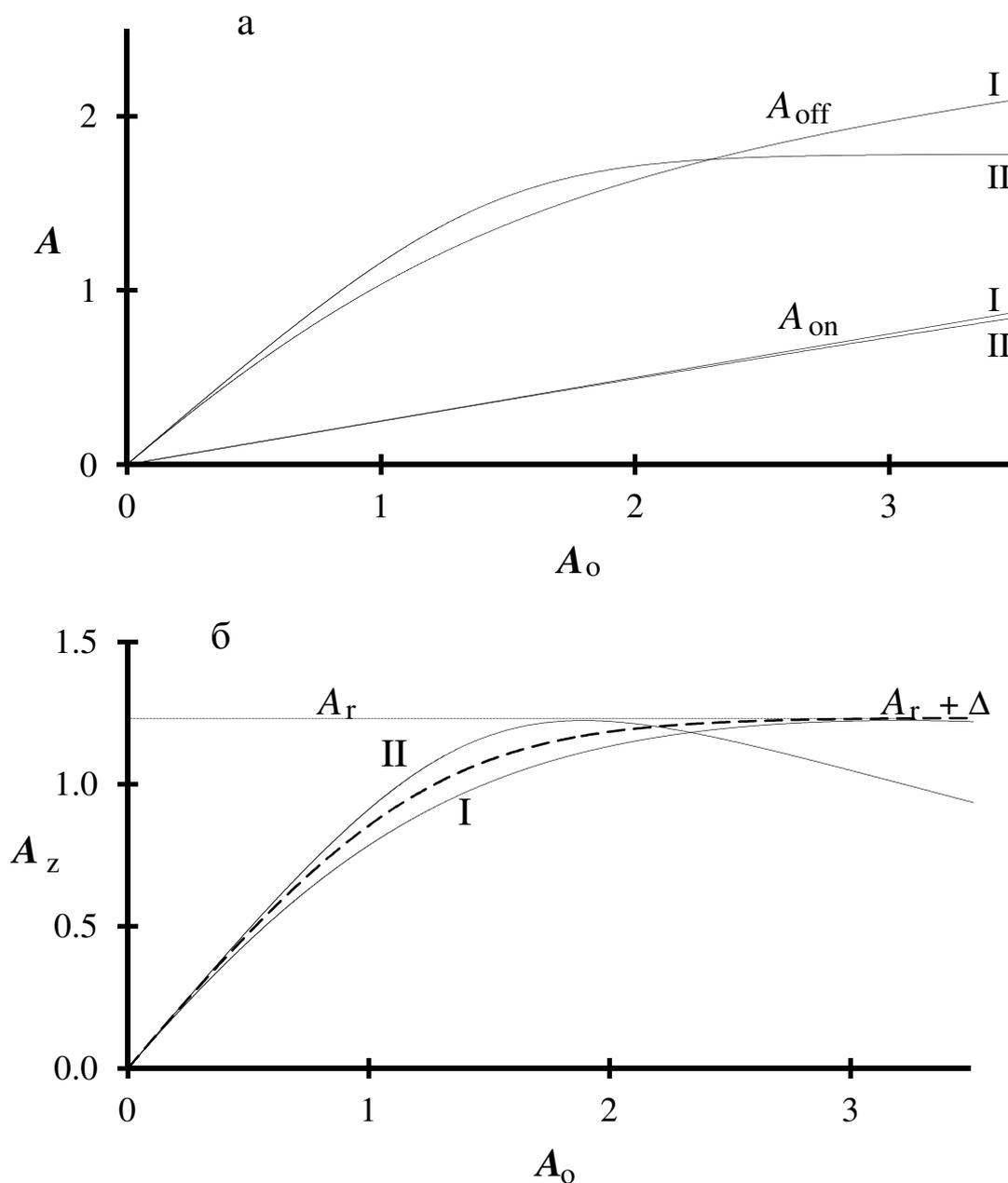


Рисунок 27. Концентрационные кривые в Зеемановской ААСс ЭТА:

(а) для исходных сигналов A_{on} и A_{off} ,

(б) для дифференциальных сигналов, $A_z=A_{off} - A_{on}$.

Кривые (I) соответствуют уширенной линии излучения, а (II) – монохроматической линии излучения в присутствии не абсорбируемого излучения. Пунктирная линия – аппроксимирующая кривая.

Из анализа положения кривых на Рисунке 27б следуют важные выводы.

Аппроксимирующая кривая располагается между концентрационными кривыми для идеальных условий: (I) уширенной спектральной линии излучения в отсутствие какого-либо не абсорбируемого излучения и (II) монохроматической линии излучения в присутствии не абсорбируемого излучения. Поскольку в условиях реальных атомно-абсорбционных измерений в той или иной степени действуют оба фактора (уширение линии излучения и не абсорбируемая радиация), реальная концентрационная кривая, как и аппроксимирующая зависимость, должна располагаться между крайними случаями. Отсюда становится понятным, почему аппроксимация с помощью выражения (7) оказывается в целом более удачным описанием реальной концентрационной кривой по сравнению с двухпараметрической моделью (выражения 13 и 14), соответствующей случаю монохроматической линии излучения в присутствии не абсорбируемого излучения. Этот факт, отмеченный в работе [29], оставался до настоящего времени необъясненным.

Расхождение в положении реальной и аппроксимирующей концентрационной кривых должно приводить к переучету или недоучету при восстановлении формы абсорбционных сигналов. При этом данный эффект должен в большей степени проявляться для значений A_z вблизи уровня обращения A_r . Варьируя спектральные условия проведения измерений, оказывающих влияние на степень самопоглощения линии излучения, а также величину не абсорбируемого излучения (спектральную ширину щели и силу тока), можно изменять форму реальной концентрационной кривой. При этом, если форма реальной кривой приближается к форме аппроксимирующей зависимости, должно наблюдаться улучшение эффективности линеаризации.

К подобному результату, но в меньшей степени, должна приводить вариация параметра Δ , влияющего на положение аппроксимирующей кривой вблизи уровня обращения A_r .

Уравнение, определяющее оптимальную для линеаризации величину параметра Δ , можно вывести на основании сравнения двух способов пересчета сигнала абсорбции, равного уровню обращения A_r . С одной стороны, алгоритм пересчета [29], основанный на комбинации уравнений (7) и (8) при $A_z=A_r$ дает пересчитанное значение уровня обращения $A_{0,r}$:

$$A_{0,r} = (1 - 10^{-(A_r+\Delta)}) \cdot \log \frac{10^{A_r+\Delta} - 1}{10^\Delta - 1}. \quad (16)$$

С другой стороны, можно воспользоваться сигналом A_{on} . Концентрационная кривая сигнала при включенном магнитном поле A_{on} практически линейна в области концентраций, в которой Зеемановский сигнал достигает уровня обращения $A_r \geq A_z$. Для того, чтобы пересчитанное значение $A_{0,r}$ легло на прямую, соответствующее начальному наклону Зеемановской концентрационной кривой, необходимо выполнить следующее условие:

$$A_{0,r} = A_{on}(A_r) \cdot (1-R)/R, \quad (17)$$

где $A_{on}(A_r)$ – значение сигнала A_{on} в момент, когда Зеемановский сигнал A_z совпадает с уровнем обращения A_r .

Приравняв правые части выражений (16) и (17), получим уравнение:

$$\frac{R}{1-R} \left(\log \frac{1+\alpha}{\alpha} - A_r \right) = (1 - 10^{-(A_r+\Delta)}) \cdot \log \frac{10^{A_r+\Delta} - 1}{10^\Delta - 1}. \quad (18)$$

Выполнение данного условия необходимо для совмещения крайней точки аппроксимирующей кривой (7) с максимумом реальной концентрационной кривой. Для определения величины параметра Δ может быть использован метод Ньютона.

Некоторая нелинейность сигнала A_{on} , а также возможное его искажение неселективным поглощением может привести к значительной ошибке в определении величины $A_{0,r}$ с использованием уравнения (17). Поэтому для определения величины $A_{on}(A_r)$ целесообразно использовать следующее эмпирическое соотношение:

$$A_{\text{on}}(A_r) \approx A_{\text{lim}} - A_r. \quad (19)$$

Величину предельного значения абсорбционности A_{lim} , используемого в выражении (19), можно определить с помощью уравнения, полученного в работе [24]:

$$A_{\text{lim}} = \log \frac{1 + \alpha}{\alpha}, \quad (20)$$

а значение параметра α можно рассчитать по формуле (15). Определенная таким образом величина $A_{\text{on}}(A_r)$ свободна от влияния неселективного поглощения, так как величина A_r измеряется с использованием зеемановской коррекции неселективного поглощения, а величина R определяется по методу, описанному Львовым и соавторами в работе [28].

3.2. Экспериментальные условия

Измерения проводились с использованием атомно-абсорбционного спектрометра с электротермическим атомизатором и зеемановским корректором неселективного поглощения производства фирмы Perkin-Elmer модель 4100ZL. В работе использовалась графитовая печь THGA с поперечным нагревом (стандартная и end-capped (с диафрагмами) с дозировочным отверстием 2.1 мм и диафрагмами с отверстиями 3.5 мм) и продольным магнитным полем с максимальной напряженностью 0.84 Тесла. Все измерения велись в автоматическом режиме с записью результатов на жесткий диск компьютера для дальнейшей обработки. Последующая математическая обработка результатов измерения производилась с помощью специальной компьютерной программы, алгоритм которой описан в работах [32, 40].

В качестве источников света использовались одноэлементные спектральные лампы с полым катодом Intensitron производства фирмы Perkin-Elmer (для Ag, Au, Bi, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb и Sb), а также ЛПК ЛТ-2 (Россия) для Fe. В качестве защитного газа использовался аргон квалификации осч с содержанием кислорода и азота не более $10^{-3}\%$.

Исходные стандартные растворы с концентрацией 1000 мг/л были приготовлены в соответствии с рекомендациями [49]. Рабочие градуировочные растворы приготавливались методом последовательного разбавления с использованием аналитических весов Ainsworth AA-160 (максимальный вес 160 г, цена деления 0.1 мг). Разбавление проводилось в полипропиленовых баночках объемом 50 мл производства фирмы Stardtest. В качестве разбавителя использовался 0.2% раствор азотной кислоты квалификации осч в бидистиллированной воде. Фактор разбавления для каждого следующего раствора составлял 1.3-1.5. Такая процедура приготовления градуировочных растворов позволила оценить эффективность линеаризации градуировочных графиков во всем аналитическом диапазоне, охватывающем

несколько порядков изменения массы аналита выше предела обнаружения. Объем дозировки составлял 10 или 20 мкл. Для предотвращения абсорбции аналита на дозирочном капилляре и улучшения воспроизводимости дозировки перед пробой в капилляр набиралось 5 мкл 0.2% раствора азотной кислоты.

Программа нагрева атомизатора в целом соответствовала программе, рекомендованной для данного типа атомизатора [49]. Температура термообработки зависела от элемента и составляла 250 – 500 °С. Температура атомизации при использовании печи с диафрагмами повышалась по сравнению с рекомендованной на 50 °С.

Процедура обработки результатов проводилась специальной компьютерной программой. Для калибровки использовались три градуировочных раствора. По двум из них, амплитуда которых не превышала половины уровня обращения A_r , определялась величина характеристической массы. Относительное стандартное отклонение определения величины характеристической массы при такой процедуре составляло 1-3%. По третьему раствору, соответствующему обращенному абсорбционному импульсу с глубиной провала около 0.5 A_r , определялись параметры алгоритма линеаризации A_r , R_d и Δ . Остальные градуировочные растворы использовались для проверки эффективности процедуры линеаризации по отклонению между введенным и измеренным значениям массы аналита (метод «введено-найдено»).

3.3. Результаты

На первом этапе исследования эффективности линейаризации для выбранных элементов использовались стандартные условия измерения, рекомендуемые производителем спектрометра [49]. Как видно из представленных в Таблице 10 результатов, для многих элементов (Ag, Bi, Cd, Mn, Ni и Pb) наблюдается существенное (до 20 - 30%) отклонение восстановленных сигналов от линейного графика, построенного по трем калибровочным растворам.

Таблица 10. Линейаризация в стандартных условиях [49]

Элемент	Линия (нм)	Щель (нм)	Ток (мА)	Энергия	A_r (Б)	m_0 (пг)	Макс. отклонение (%)
Ag	328.1	0.7	10	66	1.84	3.0	- 17
Au	242.8	0.7	10	53	1.34	13.9	- 4.6
Bi	306.8	0.2	10	58	1.79	82.5	- 24
Cd	228.8	0.7	4	55	0.66	1.4	- 18
Co	242.5	0.2	30	56	0.96	19.0	- 5.9
Cu	327.4	0.7	15	69	0.84	14.3	4.7
Fe	248.3	0.2	25	51	0.72	6.2	- 5.8
Mn	279.5	0.2	20	61	1.25	3.1	- 18
Ni	232.0	0.2	25	57	0.64	20.3	- 27
Pb	283.3	0.7	10	66	1.33	13.9	- 29
Sb	217.6	0.7	15	53	0.29	33.7	- 4.7

При этом во всех случаях, включая и остальную группу элементов, кроме Au и Cu, происходит занижение восстановленных сигналов в области обращения. Детальное рассмотрение этого эффекта для линии Mn 279.5 нм (Таблица 11,

Рисунок 28) указывает на систематический рост отклонения, начиная с 0.3 нг до 1.3 нг Mn с последующим его уменьшением до 4 нг. Для других элементов также наблюдается четко выраженный эффект систематического отклонения восстановленных сигналов от линейной зависимости.

Таблица 11. Правильность линеаризации для Mn (279.5 нм) в стандартных условиях (спектральная ширина щели: 0.2 нм, ток ЛПК: 20 мА).
 Параметры, используемые для линеаризации: $A_r = 1.25$, $R_d = 0.975$,
 $R = 0.94$ и $\Delta = 0.01$.

Номер пробы	Введено (пг)	Q_A (Б·с)	Q_{A_0} (Б·с)	ОСО (%)	Найдено (пг)	Отклонение (%)
1*	0.055	0.077	0.078	2.1	-	-
2	0.085	0.120	0.121	0.7	0.086	1.3
3	0.131	0.186	0.189	0.7	0.134	2.4
4*	0.199	0.273	0.280	0.5	-	-
5	0.282	0.374	0.391	0.3	0.277	- 1.6
6	0.349	0.451	0.477	0.6	0.339	- 3.0
7	0.424	0.534	0.576	0.4	0.408	- 3.7
8	0.525	0.630	0.698	0.7	0.495	- 5.7
9	0.611	0.701	0.797	1.2	0.565	- 7.6
10	0.744	0.797	0.949	0.1	0.672	- 9.7
11	0.893	0.886	1.119	0.4	0.790	- 11.5
12	1.115	0.990	1.315	0.7	0.927	- 16.9
13	1.318	1.057	1.533	9.4	1.081	- 18.0
14	1.584	1.129	2.015	3.4	1.423	- 10.2
15	1.850	1.178	2.392	2.5	1.690	- 8.7
16	2.271	1.233	2.914	3.5	2.061	- 9.3
17	2.702	1.282	3.525	1.6	2.494	- 7.7
18	3.150	1.333	4.222	0.6	2.989	- 5.1
19	3.836	1.386	5.255	1.4	3.722	- 3.0
20	4.570	1.434	6.308	0.9	4.469	- 2.2
21	5.589	1.478	7.803	1.1	5.530	- 1.1
22	6.544	1.529	9.420	1.0	6.678	2.1
23*	7.695	1.548	10.85	1.6	-	-
24	9.183	1.585	13.19	0.5	9.356	1.9
25	11.25	1.612	16.57	0.7	11.75	4.5
26	13.29	1.672	19.02	1.0	13.49	1.5
27	16.32	1.701	22.35	0.7	15.85	- 2.9
28	19.81	1.747	26.33	0.6	18.68	- 5.7

*Образец использовался в качестве стандарта при построении градуировочного графика. Характеристическая масса - 3.1 пг.

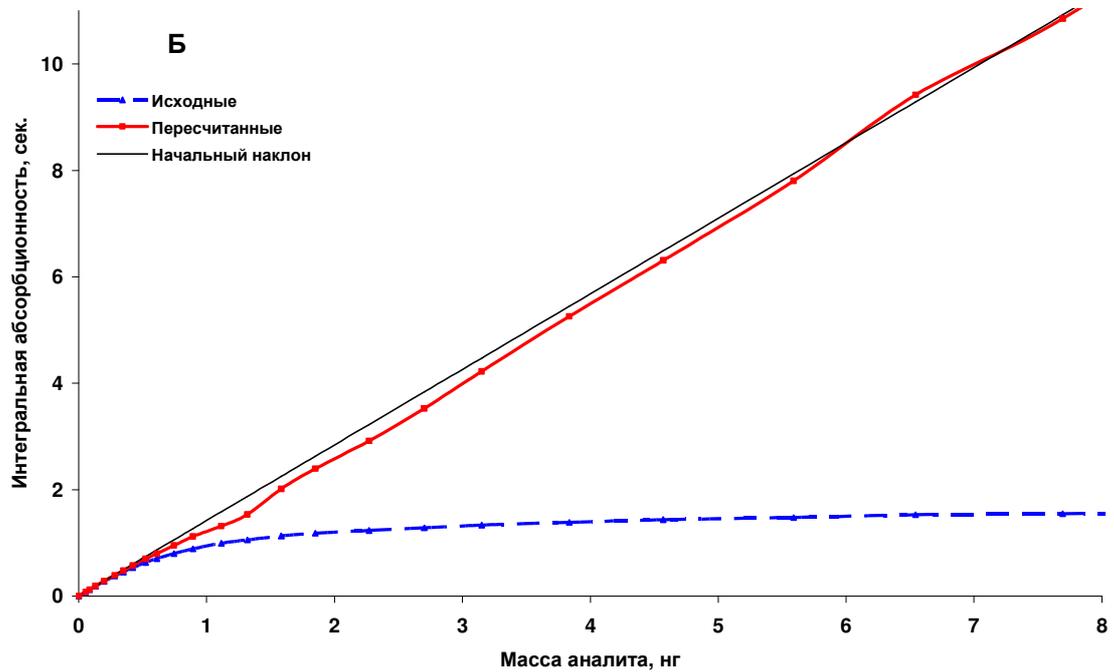
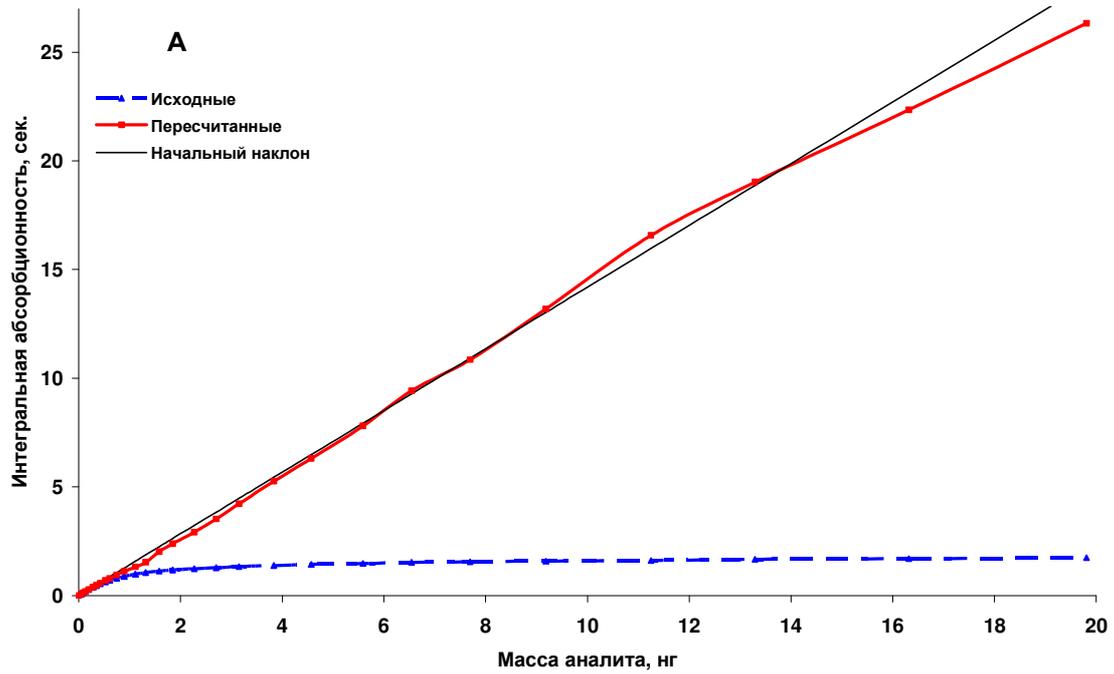


Рисунок 28. Результаты линейризации M_n :

а – во всем диапазоне;

б – в диапазоне масс аналита от 0 до 8 нг.

Очевидно, что используемая для восстановления сигналов кривая (7) неадекватно описывает реальную концентрационную кривую, а именно она сдвинута относительно реальной кривой в сторону меньших значений A_0 (см. Рисунок 27). С целью улучшения эффективности линеаризации условия проведения измерений были изменены таким образом, чтобы сдвинуть реальную концентрационную кривую к кривой (1). Теоретический анализ показал, что для этого необходимо уменьшить самопоглощение и увеличить долю не абсорбируемого излучения в источнике света. Поэтому были проведены повторные измерения при больших щелях и меньших токах через ЛПК. Этот цикл составил второй этап настоящего исследования.

В качестве иллюстрации в Таблице 10 представлены итоги соответствующих измерений для линии Mn 279.5 нм. Как видно из представленных результатов, четырехкратное уменьшение тока HCL и десятикратное увеличение щели позволило в итоге в 4 раза уменьшить отклонение восстановленных сигналов от линейной зависимости. При этом величина потока света (параметр “энергия”) и характеристическая масса остались практически неизменными. Сходная тенденция влияния тока ЛПК и ширины щели на эффективность линеаризации для линии Mn 279.5 nm наблюдалась в работе [56]. Однако низкая воспроизводимость измерений (3-5% ОСО) и оценка линейности по величине ОСО, характеризующей среднее отклонение точек от прямой, не позволили выявить систематический характер этих отклонений.

Следует заметить, что не во всех случаях вариация тока ЛПК и щели позволила добиться столь же впечатляющих результатов. К тому же для некоторых элементов изменение условий измерения оказалось невозможным из-за недостаточной яркости ламп (Fe, Ni и Sb) или сложного спектра вблизи аналитической линии (Co, Fe, Ni и Sb). Наиболее сложным в этом отношении оказался случай линии Ni 232.0 нм. Дело в том, что, как показано в работе [28],

даже при минимальной ширине щели 0.2 нг вместе с аналитической на фотоприемник попадает линия 232.1 нм. Последняя имеет чувствительность в 2.7 раза меньше, а интенсивность примерно в два раза меньше, чем аналитическая линия. Суперпозиция этих двух линий в определенной мере оказывается эквивалентной сильно уширенной одиночной линии (даже при малых токах ЛПК), а увеличение щели с целью увеличения доли не абсорбируемого излучения здесь невозможно из-за малого значения A_r .

Третий этап исследования состоял в изучении дополнительных возможностей улучшения линейности графиков в области обращения за счет вариации параметра Δ . С этой целью для всех элементов были рассчитаны с помощью уравнения (18) значения Δ , обеспечивающие при выбранных экспериментальных условиях совпадение конечной точки аппроксимирующей кривой с максимумом реальной концентрационной кривой. Эти значения Δ приведены в итоговой Таблице 12.

Таблица 12. Линеаризация в оптимальных условиях измерения

Элемент	Линия (нм)	Щель (нм)	Ток (мА)	Энергия	Мах. отклонение (%)	A_T (Б)	R_d	R	Δ	m_0 (пг)	ПО** (пг)	Максимальная масса (пг)	Аналитический диапазон***
Ag	328.1	2.0	6	64	- 5.6	1.63	0.959	0.94	0.008	3.1*	0.5	11	22 000
Au	242.8	2.0	10	59	- 4.3	1.08	0.942	0.81	0.020	14.7	5	31	6 200
Bi	306.8	2.0	5	62	- 3.4	0.63	0.909	0.72	0.010	83.5	24	69	2 100
Cd	228.8	2.0	3	56	- 3.8	0.67	0.933	0.84	0.007	1.1	0.5	2.1	10 500
Co	242.5	0.2	30	56	- 3.0	0.96	0.960	0.89	0.008	19.0	9	46	5 100
Cu	327.4	0.7	15	69	- 2.9	0.84	0.848	0.74	0.022	14.3*	3	72	24 000
Fe	248.3	0.2	25	51	- 5.3	0.72	0.962	0.90	0.011	6.2*	4	22	5 500
Mn	279.5	2.0	5	61	- 4.0	0.83	0.961	0.91	0.012	3.0*	0.8	7.7	9 600
Pb	283.3	2.0	5	61	- 4.4	0.79	0.926	0.84	0.010	14.0*	4	45	11 000
Sb	217.6	0.2	15	40	- 5.6	0.83	0.955	0.90	0.012	23.1*	38	57	1 500

* Измерения проводились в печи с диафрагмами (end-capped tube).

** Расчетное значение (см. [50]). Для расчета использовались следующие параметры: $t_{\text{бoc}} = 4$ с и $t_{\text{int}} = t_{\text{at}}$, где t_{at} выбирались в соответствии с рекомендациями [49].

Представленные выше результаты наглядно доказывают, что оптимальные значения Δ параметра изменяются в пределах от 0.007 до 0.022, но в среднем находятся вблизи значения 0.01. Это обстоятельство объясняет тот факт, что в предыдущих исследованиях [26, 27, 29] влияние параметра Δ на эффективность линеаризации осталось незамеченным. Тем не менее, для некоторых элементов, имеющих импульсы с плавным максимумом (Co и Cu), оптимизация параметра Δ позволила снизить максимальное отклонение в два раза. Некорректный выбор величины Δ может приводить к неправильному восстановлению сигналов A_z вблизи A_r . Данный факт иллюстрируется графически на Рисунке 29, на примере линии Mn.

Как видно из Рисунка 29, при выбранных в качестве примера значениях параметра $\Delta = 0.006$ или 0.024 наблюдается, соответственно, избыточная или недостаточная коррекция сигналов A_z , что выражается в систематическом отклонении экспериментальных точек от прямой, проведенной из начального наклона кривой $A_z=f(A_{on})$. В то же время, при $\Delta = 0.012$, найденной по уравнению (18), экспериментальные точки располагаются вдоль этой прямой.

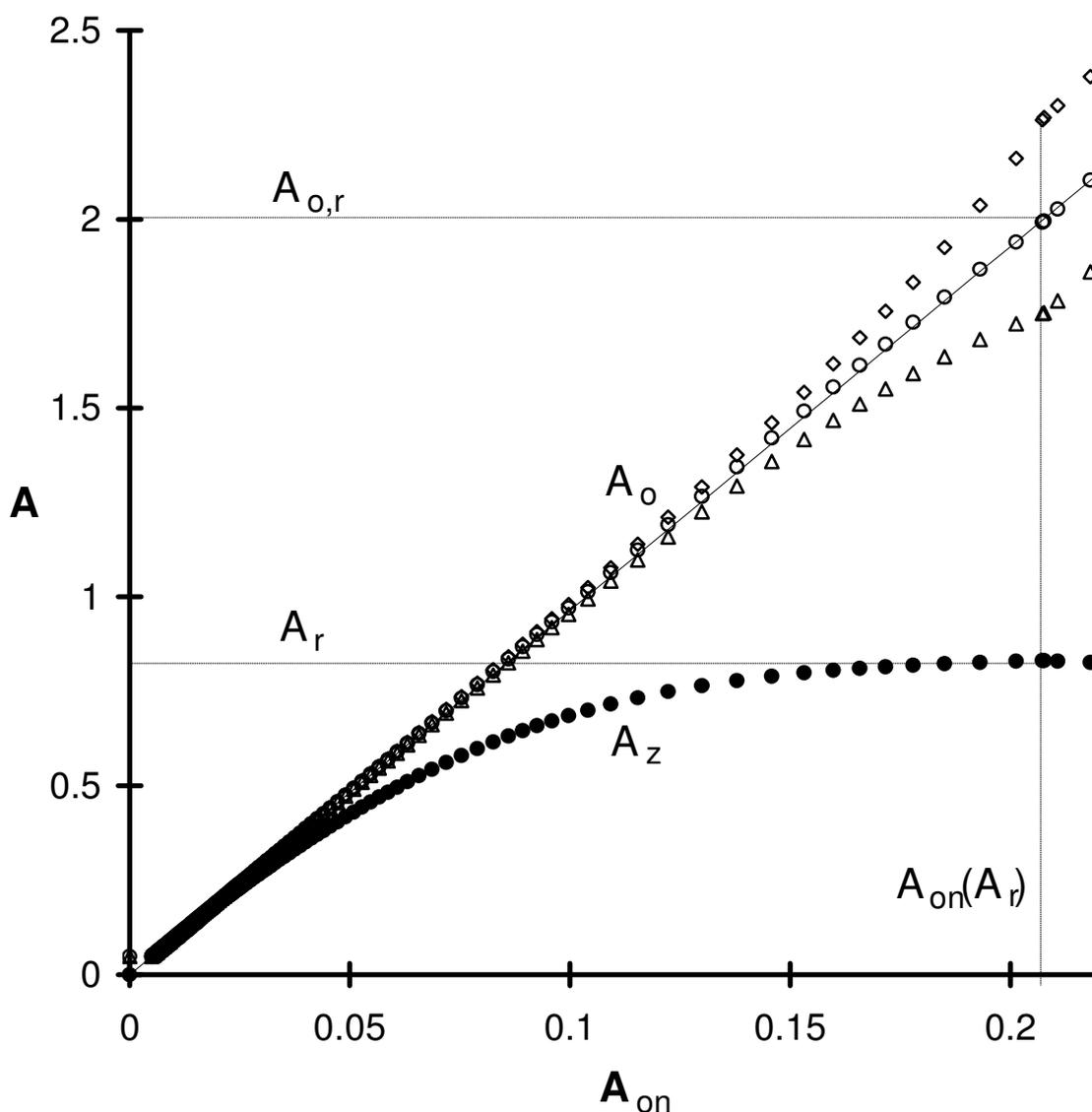


Рисунок 29. Экспериментальные исходные (A_z) и линейризованные (A_o) концентрационные кривые для линии Mn 279.5 при различных параметрах Δ : (\diamond) 0.006, (o) 0.012 и (Δ) 0.024. Остальные значения соответствуют условиям, приведенным в Таблице 11

В Таблице 12 приведены экспериментальные условия, обеспечивающие максимально корректную линейризацию, а также соответствующие этим условиям параметры линейризации. Более детальное представление об изменении погрешности линейризации во всем аналитическом диапазоне дают Рисунки 30 и 31.

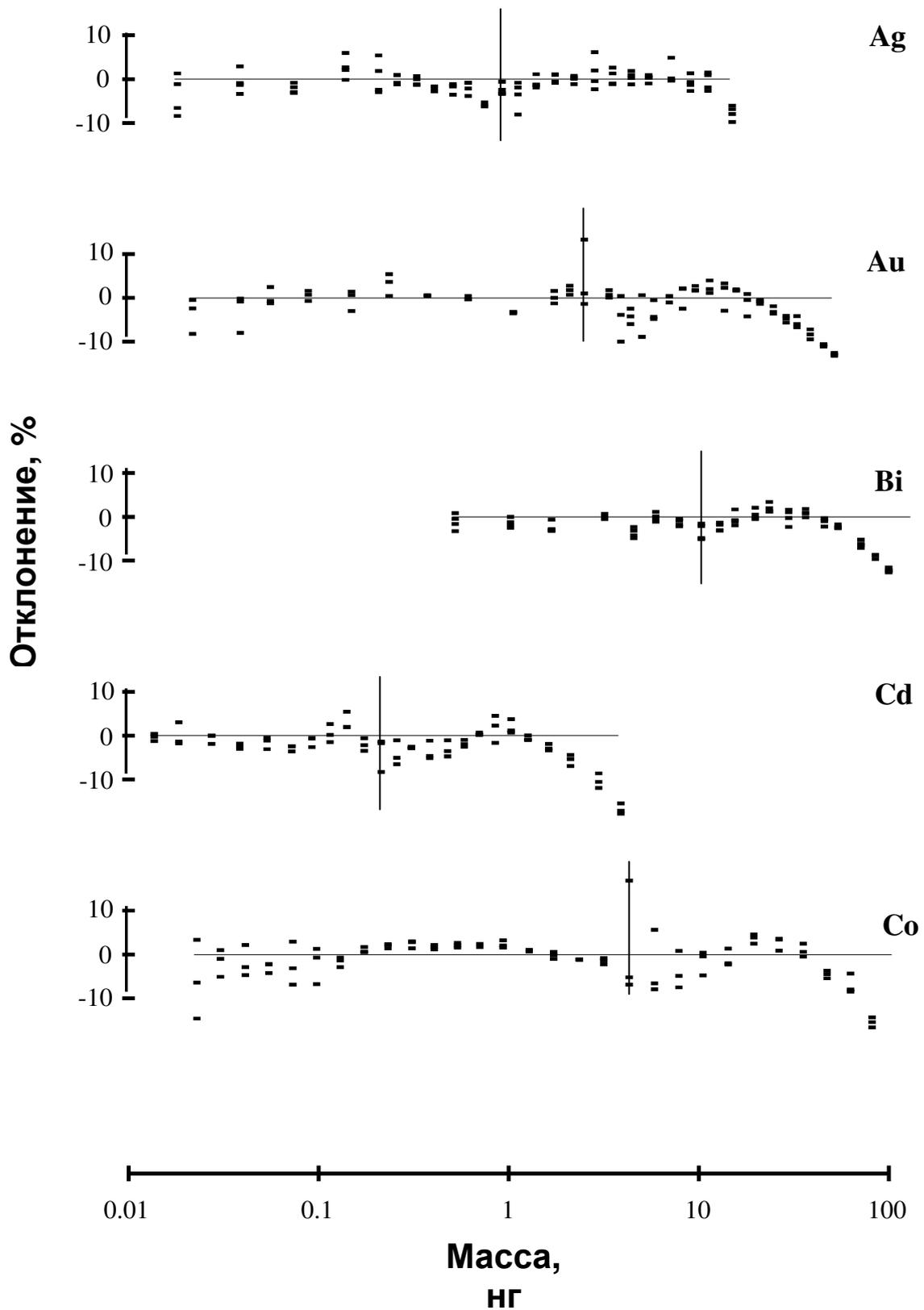


Рисунок 30. Различие между введенным и найденным количеством аналита в зависимости от массы элемента в атомизаторе для Ag, Au, Bi, Cd и Co. Вертикальные линии соответствуют сигналам, достигающим уровня обращения A_r .

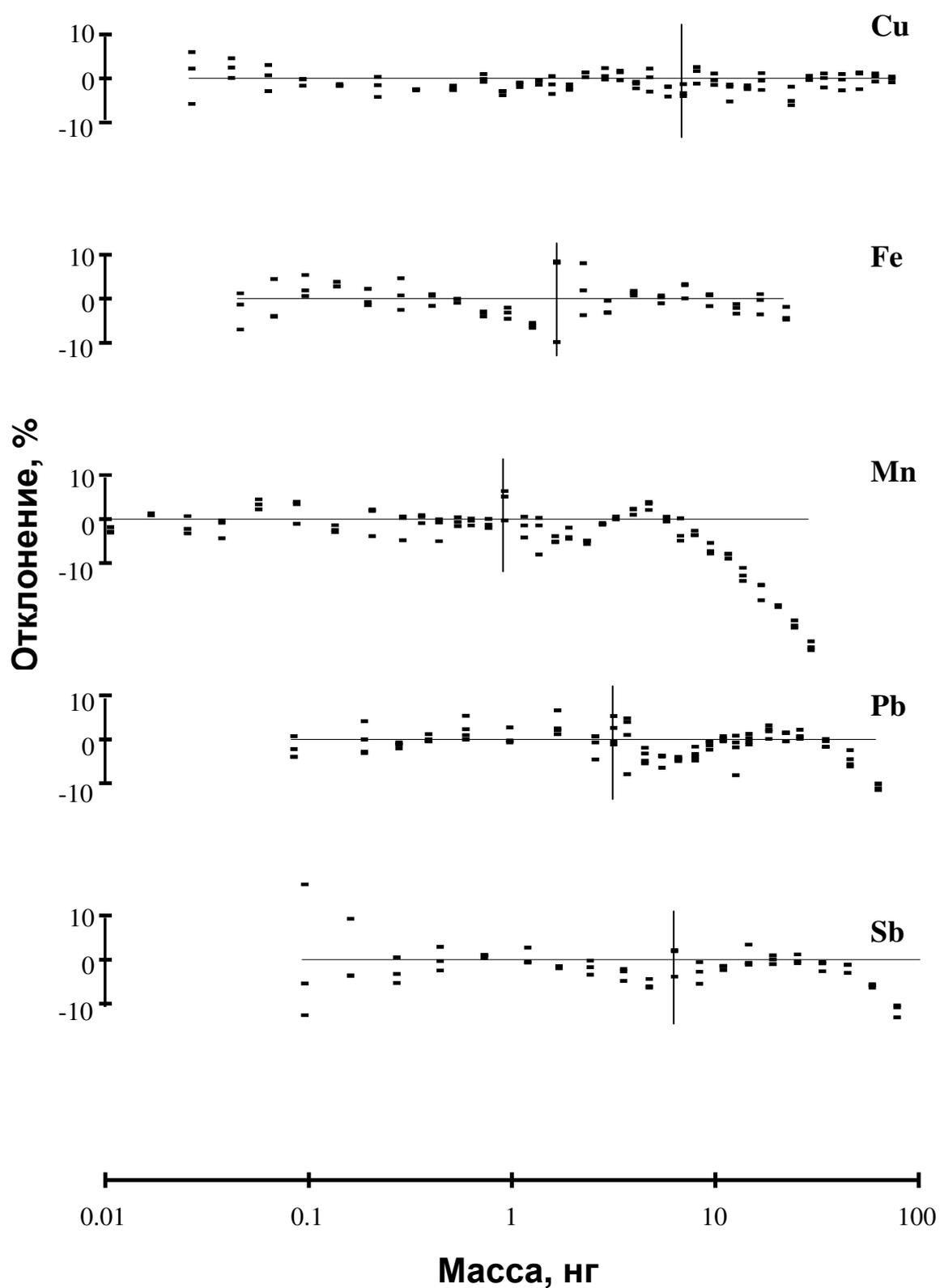


Рисунок 31. Различие между введенным и найденным количеством аналита в зависимости от массы элемента в атомизаторе для Cu, Fe, Mn, Pb и Sb. Вертикальные линии соответствуют сигналам, достигающим уровня обращения A_r .

На Рисунках 30 и 31 для всех исследованных элементов приведены величины расхождения между введенной и найденной массами, для каждого из 3-4 параллельных измерений, во всем диапазоне масс вплоть до импульсов с максимальной глубиной провала. Данная диаграмма наглядно демонстрирует то, что даже после оптимизации в большинстве случаев наблюдается остаточная тенденция к систематическому занижению результатов для импульсов в области обращения и для импульсов с глубокими провалами. При этом величина систематической погрешности определения массы аналита значительно превышает случайную погрешность измерения (1-2% ОСО). Тем не менее, максимальная величина отклонения в области обращения, по которой оценивалась эффективность линеаризации, не превышает 6% для Ag, Fe и Sb, и 4% - для остальных элементов.

Верхняя граница аналитического диапазона для всех элементов соответствует массе аналита, при которой отклонение от линейности достигает 5%, что соответствует импульсам с глубиной провала около $0.1 A_r$. Из результатов, представленных в Таблице 12, следует, что аналитический диапазон, в котором обеспечивается линейность градуировки, составляет при этом условии около четырех порядков. Для Bi и Sb он оказывается на порядок ниже. В случае Sb это связано с недостаточной яркостью ЛПК, не позволившей снизить предел обнаружения ниже m_0 .

3.4. Выводы к Главе 3

Наиболее существенным результатом проведенного этапа теоретического и экспериментального исследования является выявление причин систематических отклонений восстановленных сигналов от линейного графика и разработка приемов, позволяющих устранить или уменьшить эти отклонения.

Путем варьирования условий измерения и оптимизации величины параметра Δ добиться достаточно высокой эффективности линеаризации для всех исследованных элементов, за исключением N_i . Однако эту проблему нельзя считать полностью решенной. Помимо применявшихся на данном этапе работы вариаций силы тока и ширины щели, влияющих на положение концентрационной кривой вблизи уровня A_r , по-видимому, возможны и другие пути оптимизации условий измерения, обеспечивающие эффективную линеаризацию градуировочных графиков.

ГЛАВА 4. Усовершенствование алгоритма линеаризации

В предыдущей главе было показано, что используемый расчетный алгоритм обеспечивает удовлетворительную линеаризацию лишь в условиях, когда основной вклад в кривизну графиков вносит не абсорбируемая радиация от источника света, попадающая на детектор, а не самопоглощение аналитической линии.

Увеличение щели спектрометра и снижение тока через источник света против рекомендуемых значений позволило снизить систематическое отклонение калибровочного графика от линейного для импульсов, достигающих уровня обращения A_r , по крайней мере, до 6%. Вместе с тем для элементов с несколькими близлежащими резонансными линиями (в частности, для Ni) этот прием не может быть использован. Такой подход в еще большей степени неэффективен для тех элементов, у которых кривизна калибровочных кривых связана с зависящими от массы химическими эффектами. Целью следующего этапа работы явилось усовершенствование алгоритма расчета с тем, чтобы сделать его универсальным и применимым к условиям реальных измерений.

4.1. Теория

Теоретический анализ формы концентрационных кривых для двух крайних идеализированных ситуаций, когда кривизна определяется либо присутствием не абсорбируемой радиации, либо уширением линии в источнике света, показал, что описываемая уравнением (7) кривая располагается между этими экстремальными кривыми, причем возможная погрешность аппроксимации с помощью уравнения (7) возрастает по мере приближения к уровню A_r .

С целью более детального описания концентрационной кривой, в выражение (7) был введен второй варьируемый параметр β , позволяющий “сжимать” или “растягивать” верхнюю часть аппроксимирующей кривой вдоль оси A_0 . Для этого величина A_0 в формуле (7) заменена на промежуточную величину A_0' , которая является функцией A_0 и β :

$$A_0' \equiv A_0 / (1 + \beta \cdot A_0). \quad (21)$$

Отсюда:

$$A_0 = A_0' / (1 - \beta \cdot A_0'). \quad (22)$$

Как видно из уравнения (22), область допустимых значений параметра β ограничена сверху условием

$$1 - \beta \cdot (A_0')_{\max} = 0 \quad (23)$$

или

$$\beta = 1 / (A_0')_{\max}. \quad (24)$$

При этом значении пересчитанный уровень обращения устремляется в бесконечность.

Для иллюстрации на Рисунке 32 представлены аппроксимирующие кривые для разных параметров β при $A_r = 1$. Все кривые имеют единый начальный наклон и общий верхний уровень A_r , однако их форма существенно различна. При $\beta > 0$

происходит “растяжение”, а при $\beta < 0$ “сжатие” верхней части аппроксимирующей кривой относительно исходного положения (при $\beta=0$).

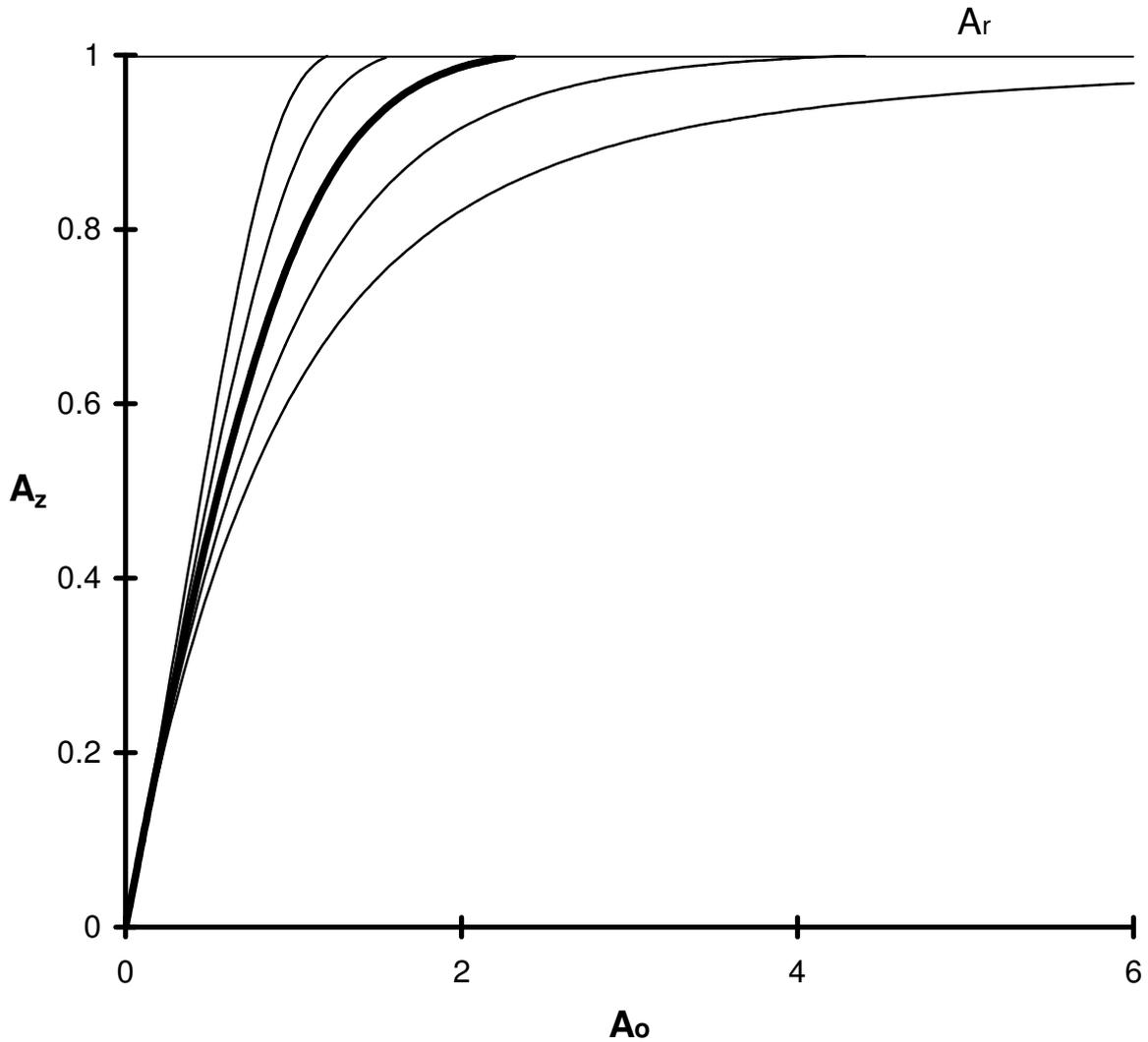


Рисунок 32. Форма аппроксимирующей кривой, $A_z=f(A_o)$, для различных значений параметра β : - 0.4, - 0.2, 0, 0.2 и 0.4.

4.2. Выбор калибровочного раствора

Для определения параметра β желательно использовать импульс абсорбции с высотой, приближающейся к A_r , например, равной $0.99A_r$. Этот импульс определяет верхнюю границу аналитической области в том случае, когда измерения ограничены абсорбционными импульсами без провала. Величина параметра β выбирается, исходя из условия сохранения линейности калибровки до верхней границы области.

Концентрация соответствующего калибровочного раствора $C(\beta)$ может быть рассчитана при следующих допущениях:

- В пределах изменения массы аналита на порядок форма восстановленных пиков сохраняется неизменной. Тогда отношение высот пиков, используемых для определения характеристической массы, m_o , и параметра β , должно быть пропорционально концентрациям соответствующих калибровочных растворов, то есть

$$\frac{C(\beta)}{C(m_o)} = \frac{A_o(\beta)_{\max}}{A_o(m_o)_{\max}}. \quad (25)$$

- При пересчете высот пиков с данной целью допустимо пренебречь возможным отличием β от 0, т.е. использовать исходное однопараметрическое описание, соответствующее уравнению (7).

С учетом этих допущений

$$C(\beta) = C(m_o) \frac{A'_o(\beta)_{\max}}{A'_o(m_o)_{\max}}. \quad (26)$$

Рассчитанная по формуле (26) концентрация калибровочного раствора может слегка отличаться от концентрации, рассчитанной с учетом параметра β . Однако, как будет показано ниже, для подавляющего числа элементов β варьируется в пределах 0.05-0.20, что приводит к незначительной в практическом отношении погрешности определения концентрации калибровочного раствора в 5-10%.

4.3. Процедура проведения измерений

Экспериментальная процедура на данном этапе была аналогична описанной в Разделе 2.2. Для калибровки использовались 3 раствора (из 10-15). Растворы № 1 и № 2, лежащие в линейной области (амплитуда сигнала менее 0.5 от уровня обращения A_r), использовались для определения чувствительности (расчета характеристической массы m_0). Концентрация раствора № 3, используемого для расчета параметра β , определялась в соответствии с уравнением (26). Для определения величины уровня A_r обращения использовались сигналы, в которых величина провала составляла 0.2-0.8 от A_r .

Процедура калибровки включала несколько стадий. На первой стадии определялось значение параметра A_r . Для этого проводили 4-5 последовательных измерений при дозировке калибровочного раствора № 4. За уровень A_r принимали среднее значение амплитуды импульсов, сглаженных по алгоритму Савицкого-Галея по одиннадцати точкам [45]. Относительное стандартное отклонение единичного измерения параметра A_r не превышало 1%. С целью исключения влияния эффекта памяти на результаты последующих измерений определение параметра A_r проводилось в отдельной графитовой печи. Ранее (см. Раздел 1.5.3) проводились серии измерений для подтверждения предположения о независимости величины уровня обращения от состояния графитового атомизатора. При этом разброс величин уровня обращения для различных атомизаторов (Рисунок 11) не превышал 1 %, что соответствует разбросу значений при определении уровня обращения в одном атомизаторе для пяти последовательных измерений.

На второй стадии после установки рабочей графитовой печи проводились измерения для холостой пробы и двух стандартов для определения величины характеристической массы m_0 . По результатам этих измерений рассчитывались величина m_0 и, с помощью уравнения 26, концентрация калибровочного раствора для определения параметра β .

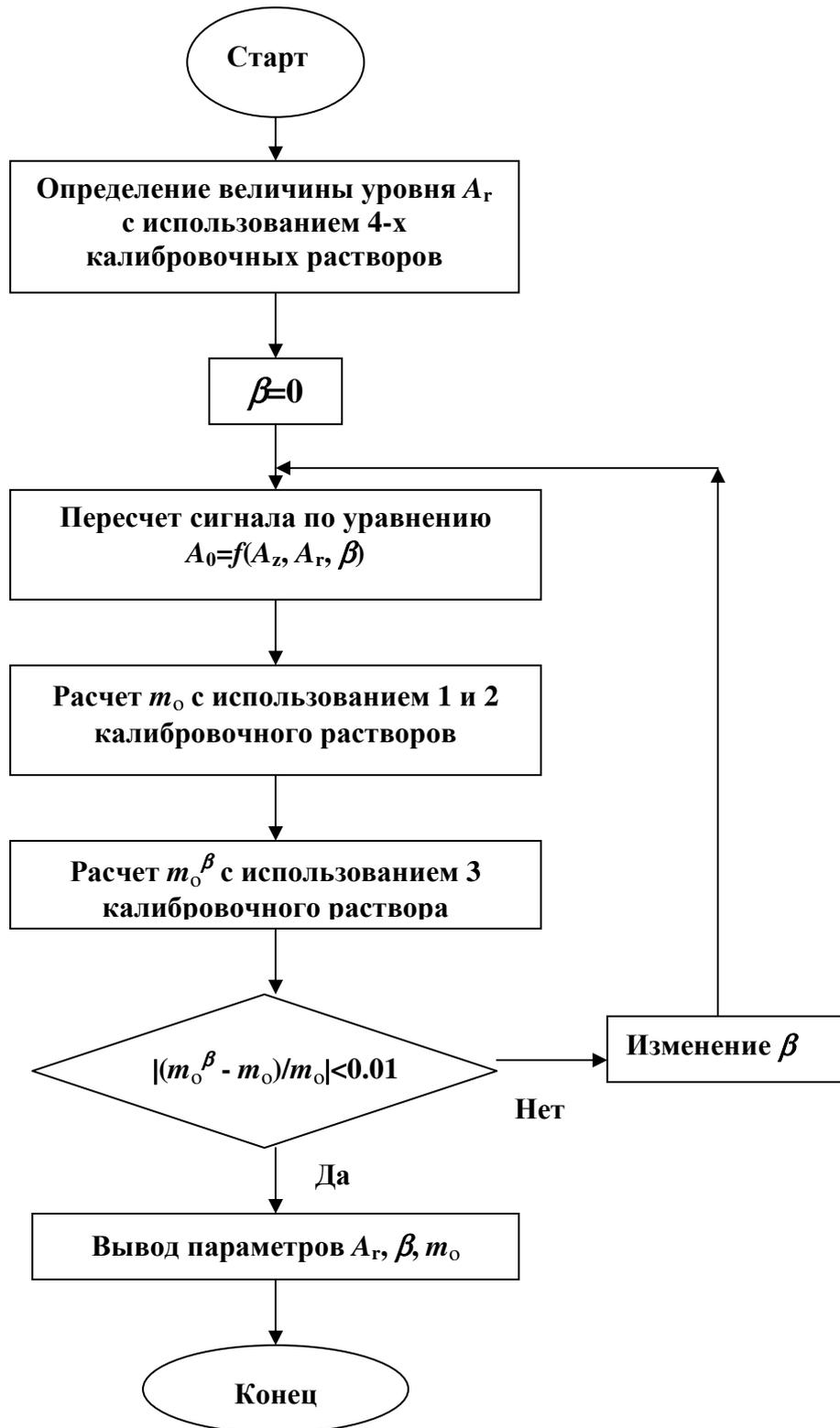


Рисунок 33. Блок-схема алгоритма расчета

На третьей стадии калибровки проводились измерения для третьего калибровочного раствора, который выбирался из приготовленных рабочих растворов с концентрацией, максимально близкой к полученной расчетной величине.

Блок-схема алгоритма калибровки представлена на Рисунке 33.

После определения величины уровня обращения находили значения параметра β и характеристической массы m_0 методом итераций. Для этого использовался описанный выше алгоритм восстановления формы импульсов с изменяемым параметром β . В качестве первого приближения было использовано значение $\beta=0$. В этом случае $A_0 = A_0'$ и форма аппроксимирующей кривой $A_z = f(A_0)$ определяется, как и ранее, только параметром α^* . Параметр β изменяется в зависимости от результата сравнения m_0^β и m_0 . При $m_0^\beta > m_0$ параметр β увеличивается, в противном случае - уменьшается. Итерации продолжаются до тех пор, пока различие между m_0^β и m_0 не станет меньше 1%.

Эффективность алгоритма линеаризации во всем рабочем диапазоне оценивалась по результатам измерения растворов с известной концентрацией. Для этого с помощью найденных значений параметров A_T и β были пересчитаны соответствующие абсорбционные импульсы. Найденные значения массы аналита, рассчитанные с использованием m_0 и интегральных значений абсорбционности восстановленных импульсов, с учетом поправки холостого опыта, сравнивались с введенными (известными) значениями.

4.4. Результаты

В целом, эксперименты подтвердили возможность надежной линейаризации калибровочных кривых с помощью предложенного двухпараметрического описания концентрационной кривой. В Таблице 13 приведены лишь некоторые итоги исследований для 20 элементов при условиях измерений, приближенных к условиям измерений с многоканальным спектрометром, то есть при рекомендуемых разрядных токах через ЛПК или при использовании высокочастотных ламп и узкой щели. Исключением стали As, Se и Sn, для которых параметр A_r при щели 0.2 нм оказывается выше 3, то есть выходит за калиброванный диапазон абсорбционности. Но, как показали эксперименты (см. Таблицу 12), даже для этих нереальных значений абсорбционности соответствующий выбор параметров A_r и β позволяет осуществить линейаризацию. Заметим, что ни в одном из исследованных случаев не наблюдались значимое систематическое отклонение точек от линейных графиков, превышающее случайный разброс результатов для реплик (2-3%).

Таблица 13. Условия измерения и параметры линейризации

Линия нм	Щель, нм	Ток, мА	Энергия	A_r , Б	β	m_o , пг	$Q_{A_o} / \text{Б} \cdot \text{с}$		Линеаризованный диапазон ³	Динамический диапазон ⁴
							min ¹	max ²		
Ag 328.1	0.2	15	64	1.49	0.10	5.2	0.212	2.05	10	470
Al 309.3	0.2	25	64	0.83	0.39	22	0.042	1.08	26	2 50
As 193.7	2.0	370 ⁵	55	1.94	0.09	37	0.517	3.72	7.2	850
Au 242.8	0.2	15	53	1.59	0.05	15	0.282	0.97	3.4	220
Be 234.9	0.2	30	65	0.85	-0.40	4.6	-	0.29	-	70
Bi 306.8	0.2	10	58	1.75	0.16	76	0.153	0.84	5.5	190
Cd 228.8	0.7	4	55	0.66	0.12	1.4	0.035	0.55	16	120
Cd 228.8	0.2	230 ⁵	62	2.18	0.10	1.0	0.146	0.76	5.2	170
Co 242.5	0.2	30	56	0.96	0.08	19	0.113	0.98	8.6	220
Cr 357.9	0.7	15	71	1.36	0.05	5.7	0.251	1.22	4.8	280
Cu 327.4	0.2	15	62	1.61	0.12	14 ⁶	0.475	3.12	6.6	710
Fe 248.3	0.2	25	51	0.72	0.06	8.5 ⁶	0.076	0.91	12	210
Mn 279.5	0.2	20	61	1.25	0.15	3.0 ⁶	0.072	1.41	20	320
Ni 232.0	0.2	25	57	0.64	0.30	22	0.122	1.66	14	380
Pb 283.3	0.2	10	57	1.46	0.23	18 ⁶	0.094	1.15	12	260
Pb 283.3	0.2	10Вг ⁵	67	1.68	0.18	18 ⁶	0.136	1.63	12	370
Sb 217.6	0.2	15	40	0.83	0.05	23 ⁶	0.087	0.66	7.5	150
Se 196.0	0.7	280 ⁵	54	1.32	0.17	55	0.160	2.15	13	490
Sn 286.3	0.2	310 ⁵	60	3.17	-0.14	100	0.158	0.66	4.2	150
Sn 286.3	2.0	310 ⁵	71	0.86	-0.10	106	0.154	0.58	3.8	130
Tl 276.8	0.2	20	54	1.00	0.03	72	0.109	0.89	8.1	200
V 318.4	0.2	40	67	1.53	0.16	56	0.208	2.15	10	490
Zn 213.9	0.2	13	50	0.85	0.08	1.8	0.095	1.20	13	270

- 1 - $(Q_{A_0})_{\min}$ соответствует сигналу, для которого различие между исходным и пересчитанным значением составляет 3%.
- 2 - $(Q_{A_0})_{\max}$ соответствует сигналу, амплитуда которого приближается к величине уровня обращения.
Такие сигналы использовались для определения параметра β .
- 3 - Соответствует отношению: $(Q_{A_0})_{\max}/(Q_{A_0})_{\min}$.
- 4 - Соответствует отношению: $(Q_{A_0})_{\max}/0.0044$.
- 5 - Использовались высокочастотные лампы Perkin-Elmer EDL System 2.
- 6 - Измерения проводились в графитовой печи с диафрагмами (end-capped tube).

На Рисунке 34 показаны параметры калибровочных зависимостей, используемых в Таблице 13.

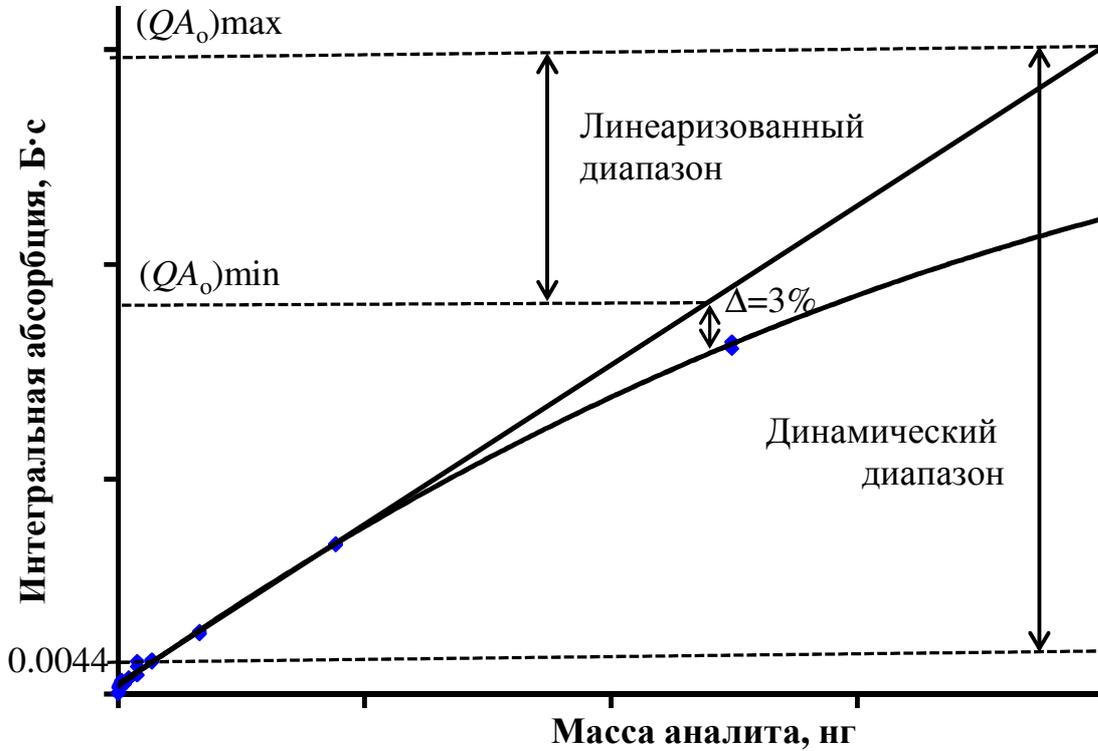
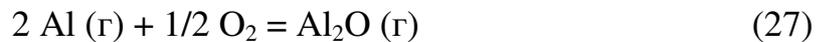


Рисунок 34. Параметры калибровочных графиков Таблицы 13.

На Рисунках 35 - 38 в качестве иллюстрации представлены результаты линейризации калибровочных кривых для некоторых наиболее трудных элементов: Al, Be, Ni и Pb. Для Al и Ni параметр β оказывается особенно большим (0.39 и 0.30), что связано с аномально высокой кривизной исходных калибровочных кривых. Для обоих элементов, в дополнение к спектральным причинам, это может быть вызвано неоднородным распределением атомов в поперечном сечении печи [19, 21]. Кроме того, для Al по мере возрастания концентрации происходит смещение равновесия реакции



в сторону относительно большего содержания молекул Al_2O . Этот эффект отмечался ранее в работах [4, 5].

Для Be и Sn , в отличие от остальных элементов, параметр β оказывается меньше нуля, так как калибровочные кривые, построенные по исходным сигналам, имеют меньшую кривизну, чем после ее учета однопараметрической формулой (7). Отрицательные значения β позволяют ослабить корректировку кривизны и добиться надежной линеаризации. Причиной необычной линейности исходных графиков Be и Sn могут быть спектральные характеристики линии Be (аномально большая доплеровская ширина линии поглощения), а также смещение равновесия реакции



по мере возрастания концентрации Sn в сторону большей диссоциации из-за связывания остаточного кислорода защитного газа, т.е. уменьшения относительной концентрации кислорода. Последний эффект впервые отмечен в работе [23].

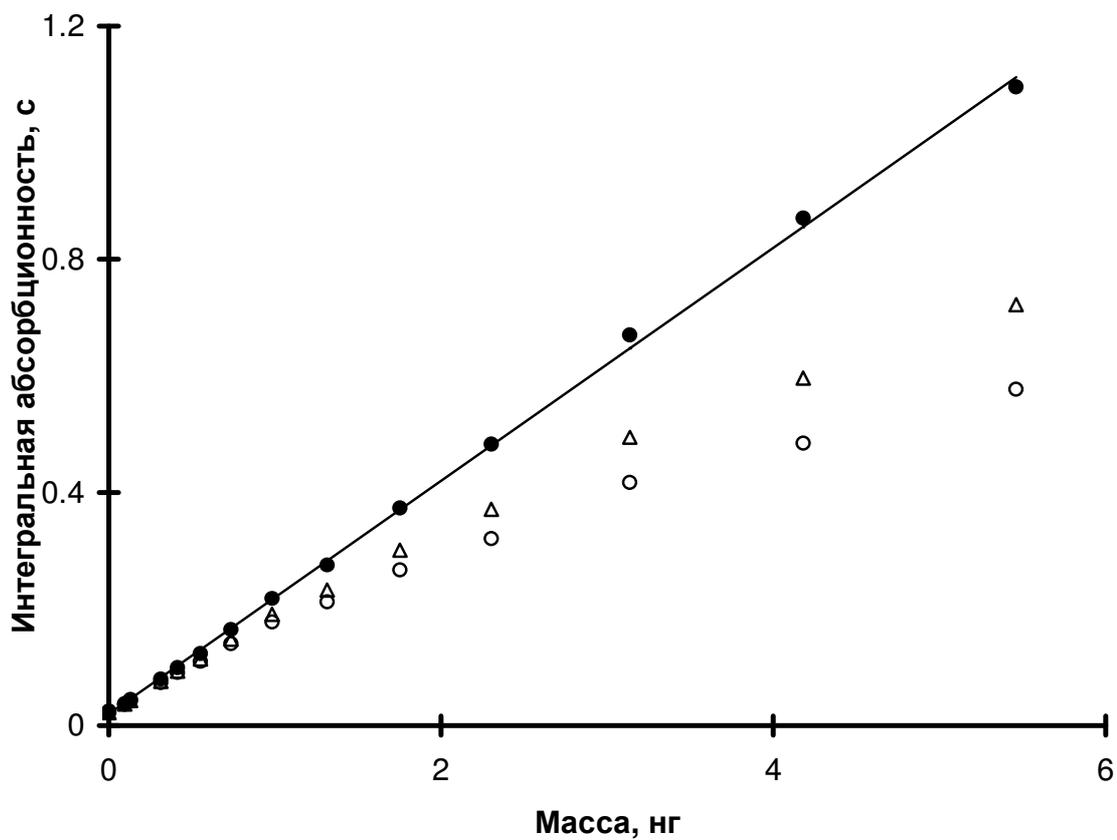


Рисунок 35. Калибровочный график для Al:

(o) исходные данные;

(Δ) после пересчета с $\beta = 0$;

(\bullet) после пересчета со значением параметра $\beta=0.39$.

Каждая точка соответствует среднему значению для 3-4 параллельных измерений.

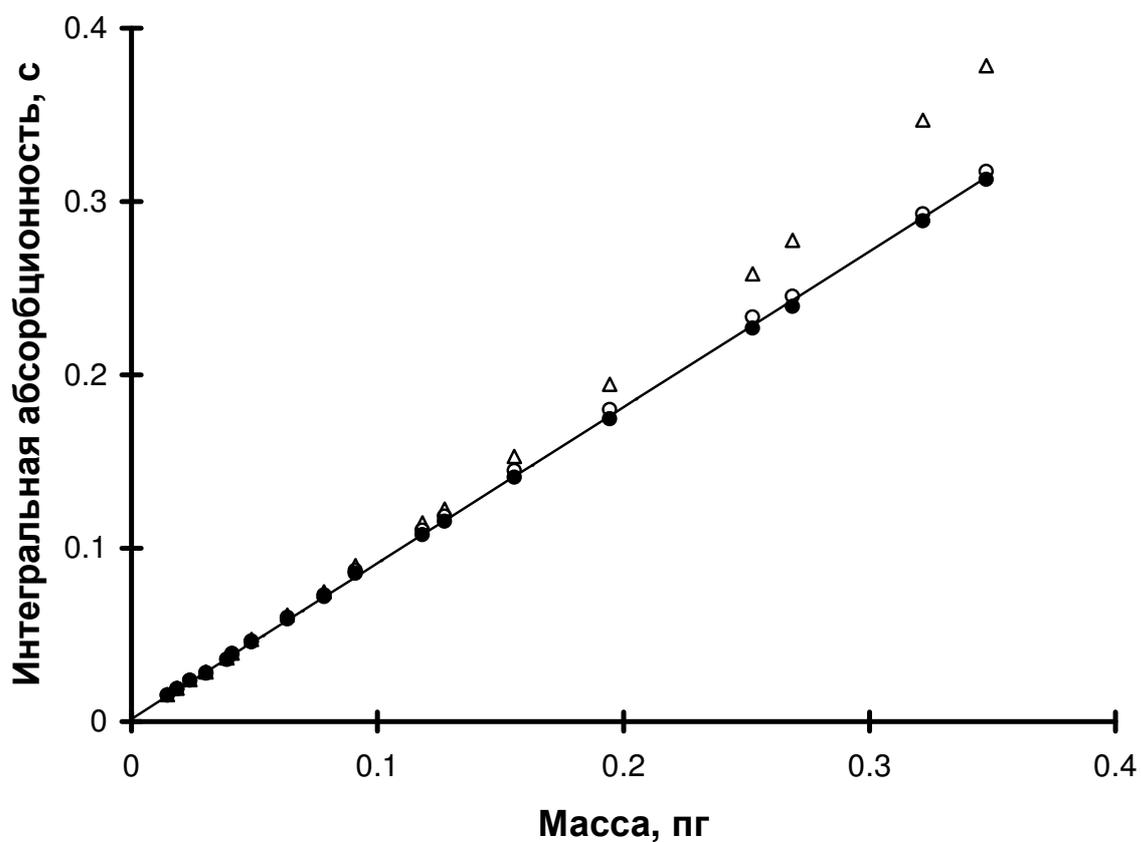


Рисунок 36. Калибровочный график для Be:

(o) исходные данные;

(Δ) после пересчета с $\beta = 0$;

(\bullet) после пересчета со значением параметра $\beta = -0.40$.

Каждая точка соответствует среднему значению для 3-4 параллельных измерений.

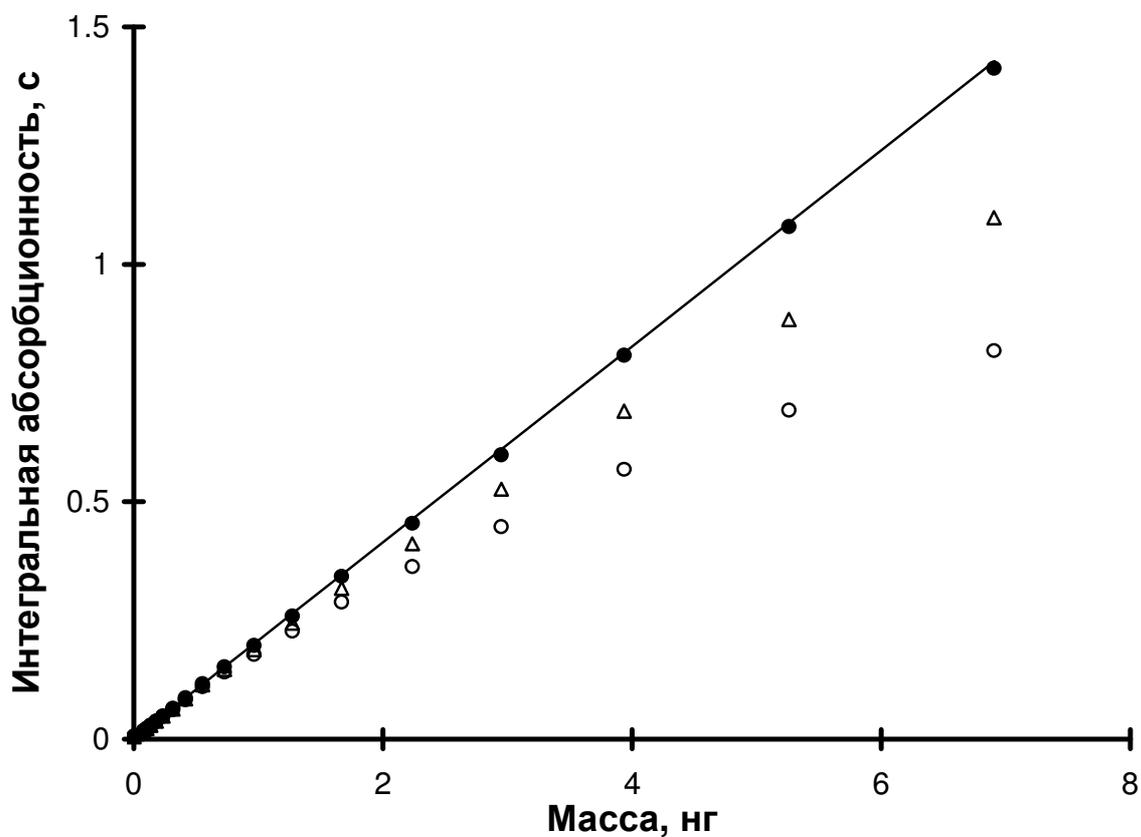


Рисунок 37. Калибровочный график для Ni:

(o) исходные данные;

(Δ) после пересчета с $\beta = 0$;

(●) после пересчета со значением параметра $\beta = 0.30$.

Каждая точка соответствует среднему значению для 3-4 параллельных измерений.

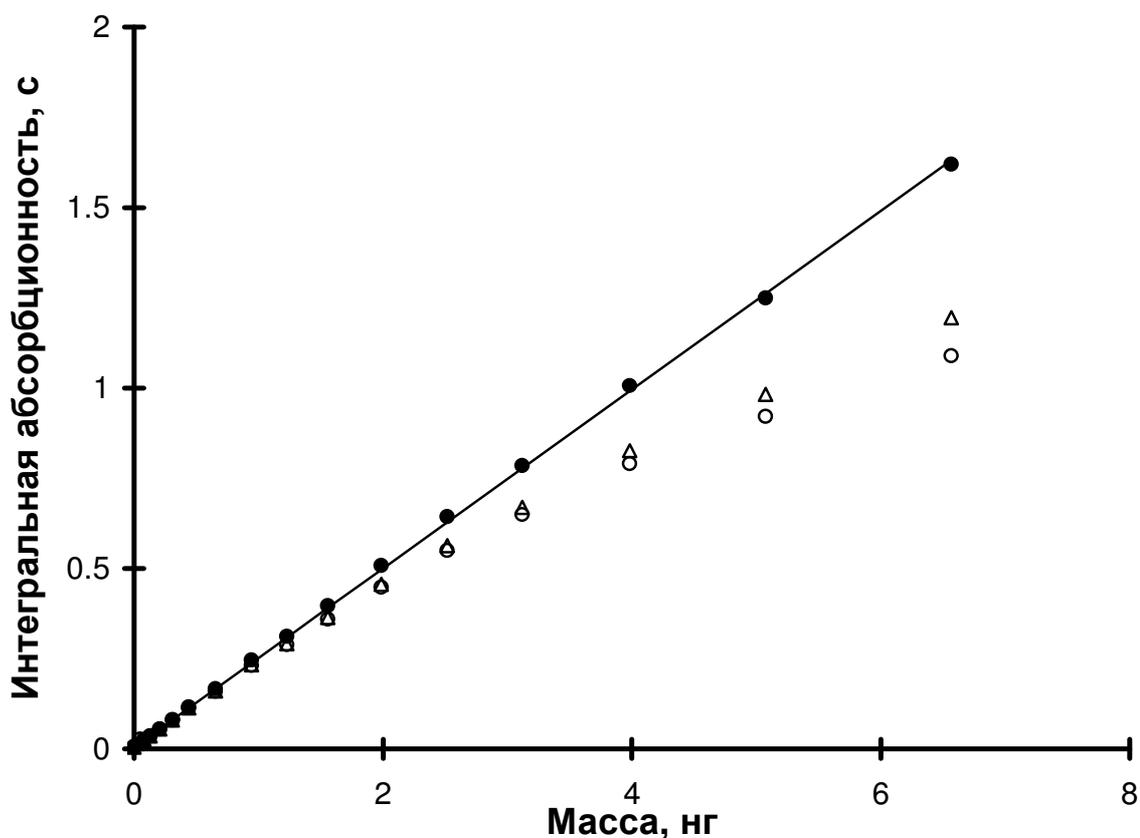


Рисунок 38. Калибровочный график для Pb:

(o) исходные данные;

(Δ) после пересчета с $\beta = 0$;

(●) после пересчета со значением параметра $\beta = 0.23$.

Каждая точка соответствует среднему значению для 3-4 параллельных измерений.

Приведенные выше примеры успешной линеаризации калибровочных кривых для Al, Ni и Sn позволяют заключить, что двухпараметрическая модель оказывается применимой для учета кривизны концентрационных кривых, вызванной как спектральными эффектами (немонохроматичностью линии и не абсорбируемой радиацией в источнике света), так и неоднородным распределением атомов в поперечном сечении печи и зависящими от массы аналита химическими эффектами.

Как видно из Таблицы 13, для элементов с $\beta > 0$ метод пересчета позволяет расширить линейную область аналитического диапазона от 5 до 43 раз. Для Sn ($\beta < 0$) расширение диапазона составляет всего четыре раза, что объясняется малой кривизной исходной калибровочной кривой (для Sn трехпроцентное отклонение от прямолинейного графика наблюдается лишь при $Q_A \cong 0.15$ с, тогда как для Al уже при $Q_A \cong 0.04$ с). В случае Be значимое расширение линейного диапазона вообще отсутствует, так как отклонение исходных значений интегральной абсорбции от прямолинейного графика во всей области вплоть до уровня обращения не превышает случайной погрешности измерений (2-3% ОСО).

Как и следовало ожидать из теоретического анализа формы концентрационных кривых [30], их кривизна увеличивается с ростом самопоглощения линий в источнике света. Вклад этого фактора в формирование концентрационной кривой увеличивается при уменьшении доли не абсорбируемой радиации в источнике света. Это подтверждается ростом параметра β с увеличением тока через ЛПК и уменьшением ширины щели (Таблица 14).

Следует отметить, что двухпараметрическая модель алгоритма оказывается менее зависимой от погрешности измерения параметра A_r , чем однопараметрическая модель. Это связано с тем, что отклонение измеренной величины A_r от истинной может быть компенсировано соответствующей вариацией параметра β . Анализ возникающих отклонений точек от прямой для Au, Ni и Pb при вариации величины A_r в пределах $\pm 1\%$ и изменении параметра β в пределах $\Delta\beta = 0.05$ показал, что эти дополнительные отклонения не превышают 1%.

Таблица 14. Зависимость величины параметра β от тока ЛПК и спектральной ширины щели

Элемент	Щель, нм	Ток, мА	Энергия	A_r , Б	m_o , пг	β
Ag	2.0	6	64	1.64	5.2	0.04
	2.0	8	67	1.64	5.2	0.06
	2.0	10	69	1.60	5.1	0.07
Ni	0.2	8	39	0.99	14	0.17
	0.2	12	48	0.85	18	0.27
	0.2	25	57	0.64	22	0.30
Pb	2.0	5	61	0.79	18	0.00
	2.0	6	66	0.79	18	0.06
	2.0	10	70	0.72	18	0.11
	0.7	10	66	1.33	17	0.20
	0.2	10	58	1.58	17	0.24

4.5. Линеаризация в условиях реального анализа

Проверка алгоритма в условиях, максимально приближенных к условиям проведения реального анализа была проведена на примере свинца. Измерения проводились с использованием ЛПК Perkin-Elmer, сила тока 10 мА, спектральная ширина щели 0.2 нм. Параметры алгоритма линеаризации - уровень обращения A_r ($A_r=1.46$ Б) и параметр β ($\beta=0.23$) для пересчета аналитических сигналов были взяты в соответствии со значениями, определенными ранее (Таблица 13). Для определения чувствительности был приготовлен один калибровочный раствор. Для калибровки проводилось измерение в стандартов - холостой пробы и калибровочного стандарта.

Для оценки правильности работы алгоритма линеаризации была приготовлена серия стандартных растворов. Были проведены три серии измерений: водные стандарты, стандарты с добавлением в качестве матрицы 0.05 мкг Pd в виде нитрата палладия и 15 мкл морской воды. Добавление матрицы в обоих случаях приводило к изменению формы аналитического сигнала и появлению неселективного поглощения. Изменение формы абсорбционного импульсы свинца в присутствии матрицы детально рассмотрены в разделе 4.6.

Результаты пересчета аналитических сигналов представлены на Рисунках 39 - 41. Во всех случаях пересчитанные данные ложатся на прямую, соответствующую чувствительности, полученной при калибровке по единственному стандарту.

В Таблицах 15 - 17 представлены результаты оценки правильности работы алгоритма линеаризации по методу "введено - найдено". Для водных растворов среднее отклонение от заданного значения составляет -0.4%, максимальное 3.3%. При анализе растворов с палладиевой матрицей среднее отклонение от заданного значения составляет - 0.6%, максимальное - 3.3%. В присутствии морской воды среднее отклонение составляет -1.0%, максимальное - 3.8%.

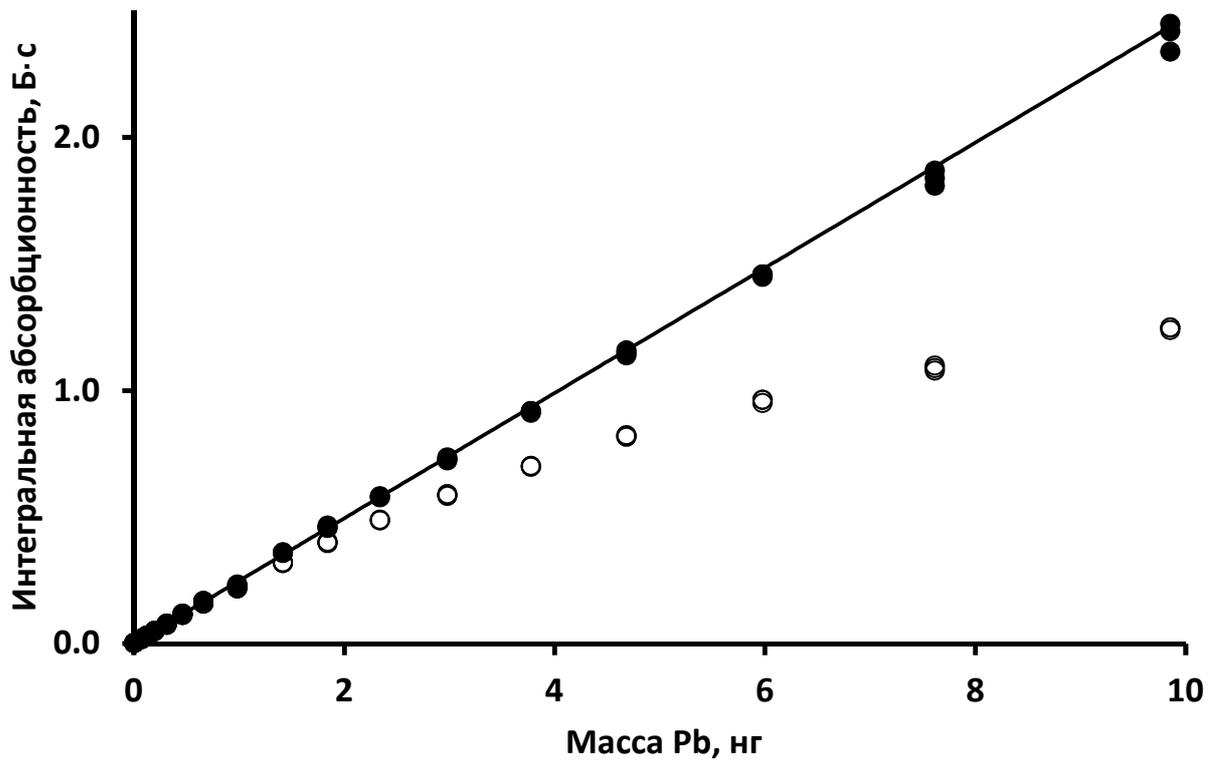


Рисунок 39. Линеаризация для Pb в водных растворах с использованием определенных ранее параметров.

(o) исходные данные;

(•) пересчитанные данные при $A_r=1.46$ Б, $\beta=0.23$, $m_0=18$ пг.

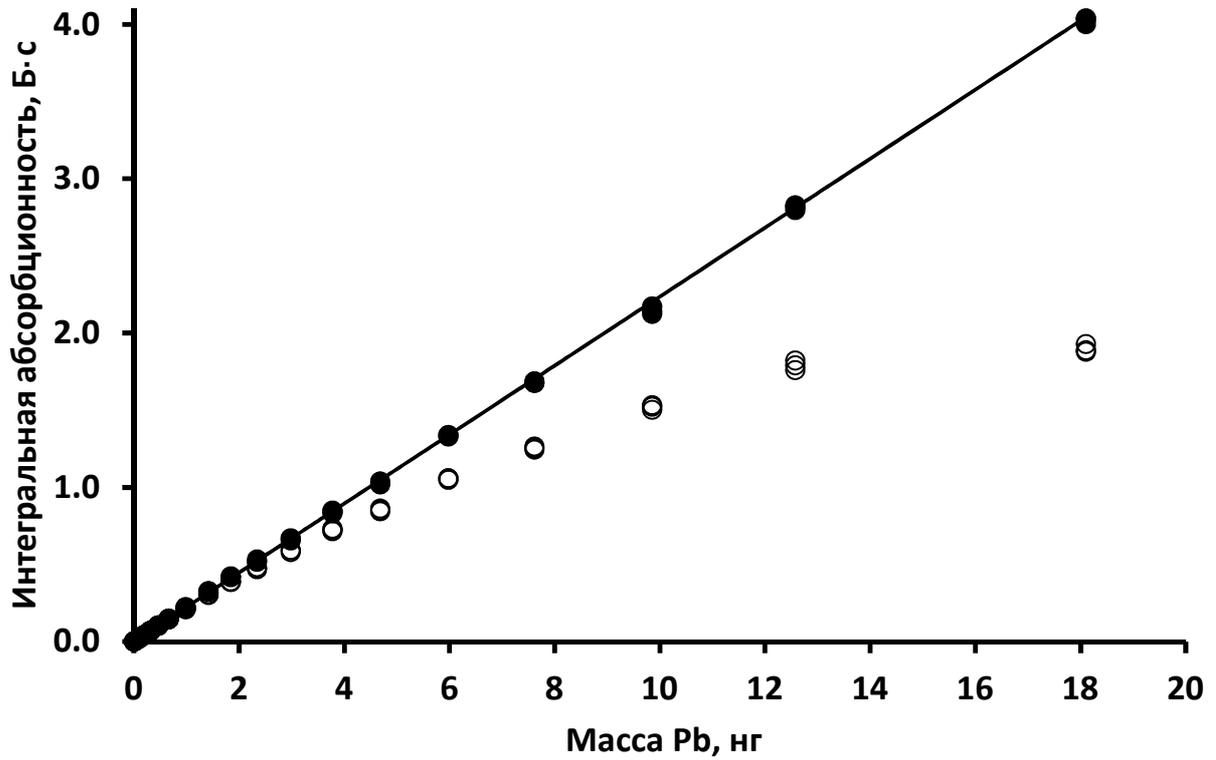


Рисунок 40. Линеаризация для Pb в присутствии 0.05 мкг Pd с использованием определенных ранее параметров.

(o) исходные данные;

(•) пересчитанные данные при $A_r=1.46$ Б, $\beta=0.23$, $m_0=20$ пг.

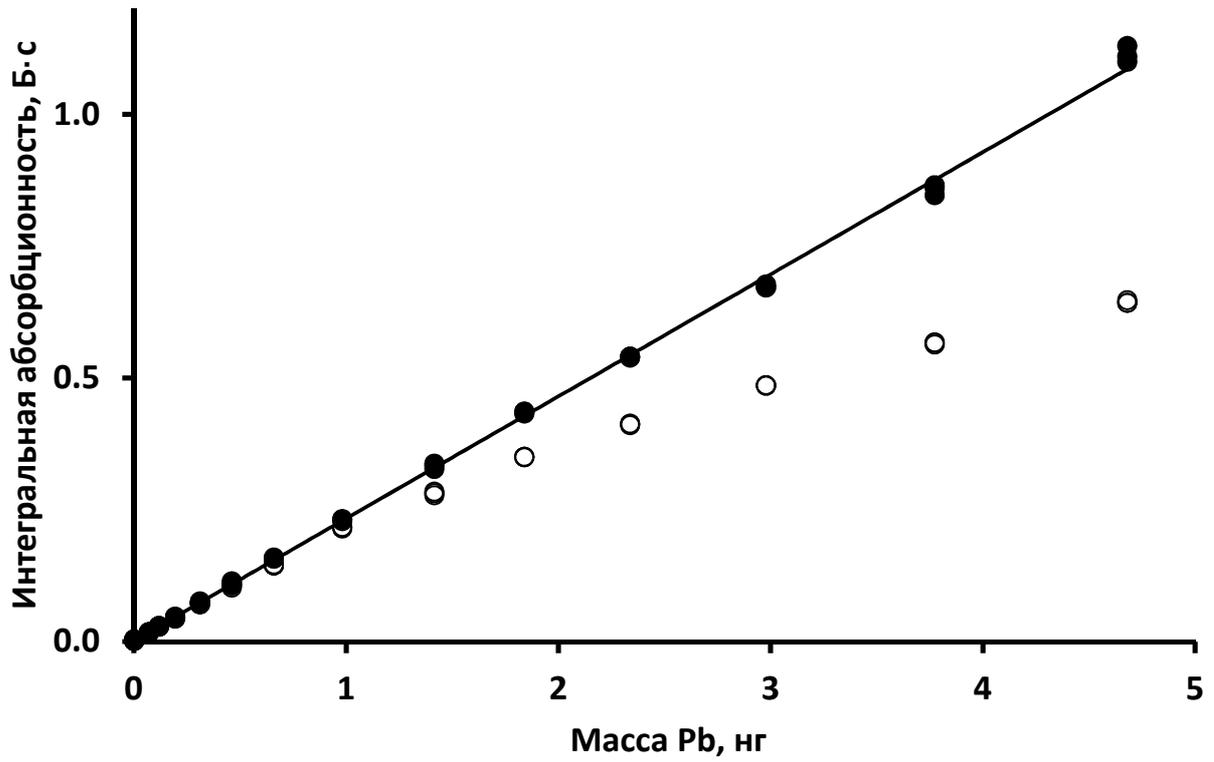


Рисунок 41. Линеаризация для Pb в присутствии 15 мкл морской воды с использованием определенных ранее параметров.

(○) исходные данные;

(●) пересчитанные данные при $A_r=1.46$ Б, $\beta=0.23$, $m_0=19$ пг.

Таблица 15. Правильность линейаризации Рb в водных растворах.

Условия измерений: ток ЛПК 10 мА, щель 0.2 нм.

Параметры линейаризации: $A_1=1.46$ Б, $\beta=0.23$.Чувствительность по одной точке с учетом холостой пробы $m_0=18$ пг.

№	Введено (нг)	Найдено (нг)	ОСО (%)	Отклонение	
				(нг)	(%)
1	0.071	0.073 ± 0.004	5.0	-0.002	-3.3
2	0.117	0.120 ± 0.020	1.8	-0.003	-2.6
3	0.194	0.200 ± 0.020	1.1	-0.006	-3.1
4	0.311	0.313 ± 0.008	2.6	-0.002	-0.8
5	0.461	0.473 ± 0.004	0.8	-0.012	-2.8
6	0.659	0.677 ± 0.005	0.7	-0.018	-2.8
7	0.981	0.933 ± 0.008	0.9	0.048	4.9
8	1.42	1.45 ± 0.01	0.7	-0.03	-2.1
9	1.84	1.86 ± 0.02	1.1	-0.02	-1.2
10	2.34	2.34 ± 0.01	0.4	0.00	0.0
11	2.98	2.95 ± 0.03	1.0	0.03	1.0
12	3.77	3.70 ± 0.02	0.6	0.07	1.8
13	4.68	4.64 ± 0.04	0.9	0.04	0.8
14	5.98	5.89 ± 0.02	0.4	0.09	1.5
15	7.61	7.44 ± 0.12	1.6	0.17	2.3
16	9.85	9.71 ± 0.33	2.4	0.14	1.4

Таблица 16. Правильность линейаризации Рb в матрице 0.05 мкг Рd.

Условия измерений: ток ЛПК 10 мА, щель 0.2 нм.

Параметры линейаризации: $A_r=1.46$ Б, $\beta=0.23$.Чувствительность по одной точке с учетом холостой пробы $m_0=20$ пг.

№	Введено (нг)	Найдено (нг)	ОСО (%)	Отклонение	
				(нг)	(%)
1	0.071	0.072 ± 0.001	1.4	-0.001	-1.6
2	0.117	0.121 ± 0.004	3.5	-0.004	-3.3
3	0.194	0.193 ± 0.001	0.5	0.001	0.5
4	0.311	0.313 ± 0.004	1.4	-0.002	-0.8
5	0.461	0.470 ± 0.004	0.9	-0.009	-2.1
6	0.659	0.667 ± 0.001	0.1	-0.008	-1.3
7	0.981	0.991 ± 0.014	1.4	-0.010	-1.0
8	1.42	1.46 ± 0.01	0.7	-0.04	-3.0
9	1.84	1.88 ± 0.01	0.5	-0.04	-2.3
10	2.34	2.34 ± 0.04	1.6	0.00	0.0
11	2.98	2.97 ± 0.03	1.1	0.01	0.2
12	3.77	3.77 ± 0.04	1.0	0.00	0.0
13	4.68	4.60 ± 0.05	1.0	0.08	1.7
14	5.98	5.98 ± 0.03	0.4	0.00	0.0
15	7.61	7.52 ± 0.03	0.4	0.09	1.2
16	9.85	9.61 ± 0.10	1.2	0.24	2.4
17	12.6	12.60 ± 0.07	0.6	0.00	0.0
18	18.1	18.00 ± 0.10	0.5	0.10	0.5

Таблица 17. Правильность линеаризации Рb в присутствии 15 мкл морской воды.

Условия измерений: ток ЛПК 10 мА, щель 0.2 нм.

Параметры линеаризации: $A_r=1.46$ Б, $\beta=0.23$.Чувствительность по одной точке с учетом холостой пробы $m_0=19$ пг.

№	Введено (нг)	Найдено (нг)	ОСО (%)	Отклонение	
				(нг)	(%)
1	0.071	0.071 ± 0.002	3.1	0.000	0.0
2	0.117	0.121 ± 0.001	0.8	-0.004	-3.3
3	0.194	0.193 ± 0.005	2.5	0.001	0.3
4	0.311	0.318 ± 0.005	1.5	-0.007	-2.4
5	0.461	0.478 ± 0.010	2.2	-0.017	-3.8
6	0.659	0.677 ± 0.005	0.7	-0.018	-2.7
7	0.980	0.990 ± 0.009	0.9	-0.010	-1.1
8	1.42	1.43 ± 0.02	1.5	-0.01	-0.7
9	1.84	1.87 ± 0.01	0.5	-0.03	-1.7
10	2.34	2.33 ± 0.01	0.2	0.01	0.4
11	2.98	2.90 ± 0.02	0.7	0.08	2.7
12	3.77	3.70 ± 0.04	1.2	0.07	1.9
13	4.68	4.80 ± 0.07	1.4	-0.12	-2.5

В целом алгоритм показал надежную работу при минимальных затратах времени на калибровку (определение чувствительности по одному стандарту). Измерение величины уровня обращения A_r и определение параметра β были проведены заранее. Данные параметры для конкретной лампы постоянны в течение длительного времени. Используемый алгоритм линеаризации оказался устойчивым к наличию неселективного поглощения и изменению формы импульса абсорбции.

4.6. Изменение формы аналитического сигнала

Для изучения зависимости результатов измерения от формы абсорбционного импульса был проведен модельный эксперимент по определению Pb в присутствии NaCl или Pd. Для калибровки использовались водные растворы. На Рисунке 42 приведены соответствующие этим матрицам импульсы абсорбции Pb. В Таблице 18 представлены результаты эксперимента, которые показывают зависимость открываемости от массы Pb для оригинальных и пересчитанных данных. При использовании алгоритма пересчета открываемость остается постоянной независимо от величины сигналов для обоих типов матрицы, тогда как без нее открываемость меняется с увеличением массы аналита для разных матриц по-разному. Присутствие NaCl ускоряет испарение Pb и увеличивает тем самым амплитуду сигнала. Это приводит к выходу сигнала из линейного диапазона для малых масс аналита и к снижению открываемости. Добавление Pd, напротив, замедляет испарение Pb, задерживая импульсы в области линейности, что приводит к относительному росту открываемости.

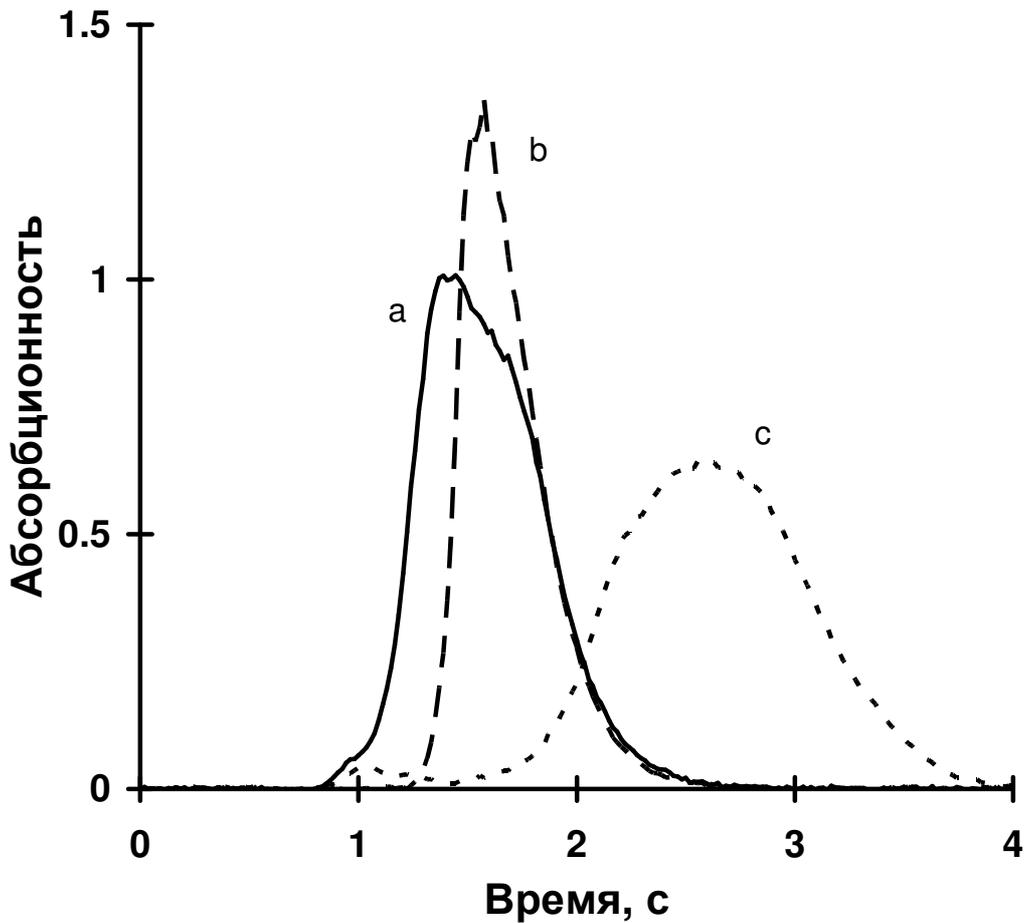


Рисунок 42. Влияние матрицы на форму сигнала для 4 нг Рb:
 (a) водный раствор;
 (b) в присутствии 15 мкг NaCl;
 (c) в присутствии 0.04 мкг Pd.

Приведенный пример показывает важность применения алгоритма линейаризации при анализе реальных проб. В аналитической практике для рутинной (ежедневной) калибровки крайне редко используются стандартные образцы состава. Чаще всего аналитики используют для калибровки водные растворы и проводят оптимизацию условий измерения с целью минимизации влияния матрицы пробы на чувствительность измерений. Такая оптимизация проводится обычно в области малых аналитических сигналов (в линейной области градуировочного графика) для того, чтобы можно было контролировать открываемость методом добавок.

Открываемость (Recovery) - отношение характеристической массы для водного раствора и в присутствии матрицы:

$$R = m_0^{H_2O} / m_0^{матрица} , \quad (29)$$

где $m_0^{H_2O}$ - характеристическая масса для водного стандарта,

$m_0^{матрица}$ - характеристическая масса в присутствии матрицы.

Данная процедура не позволяет избежать ошибок (занижения результатов) в тех случаях, когда матрица существенно изменяет форму аналитического сигнала (увеличивает амплитуду). Этот эффект становится заметным в области средних и высоких содержаний определяемых компонентов. Использование процедуры линеаризации (пересчета аналитических сигналов) в таких случаях не только расширяет возможности применения калибровки по методу добавок, но и исключает ошибки, связанные с влиянием матрицы на форму аналитического сигнала.

Таблица 18. Влияние пересчета сигнала на величину открываемости при определении Pb в различных матрицах

Масса Pb, нг	Открываемость <i>R</i> , %			
	В присутствии 15 мкг NaCl		В присутствии 0.04 мкг Pd	
	исходные	пересчитанные	исходные	пересчитанные
0.31	91	93	89	89
0.46	90	92	90	89
0.66	91	93	91	89
1.41	87	92	95	90
1.84	87	93	96	90
2.34	85	93	98	91
2.98	82	93	101	91
3.77	81	93	105	91
4.68	-	-	105	90
5.97	-	-	111	90

4.7. Использование техники линеаризации при анализе проб тканей животного происхождения

Техника линеаризации калибровочных зависимостей (восстановления импульса) была применена при определении содержания меди в образцах тканей животных и биологических жидкостях. Работы проводились совместно с Институтом экспериментальной медицины (НИИЭМ СЗО РАМН), Санкт-Петербург и с кафедрой биофизики СПбГТУ. Были проведены эксперименты по определению содержания меди в различных отделах мозга крыс и динамика возрастных изменений ее содержания, определение меди в печени и сыворотке крови новорожденных крыс, а так же в фетальной сыворотке человека, моче и других образцах. Результаты были использованы в публикациях [1, 6 - 8, 38, 39, 42, 44].

Можно выделить следующие особенности исследуемых проб:

- малые объемы (50 - 200 мкл) и уникальность каждой пробы;
- незначительные матричные влияния, позволяющие проводить калибровку по водным растворам;
- достаточно большое количество проб (серии от 30 до 120 проб);
- значительные различия в концентрации элементов в анализируемых образцах в пределах каждой серии.

Малые объемы образцов и необходимость определения нескольких элементов (Ag, Cu, Pt, Zn, Fe) в одной пробе требовало проведения их разбавления в 10 - 100 раз. Однако, даже после разбавления содержание меди в образцах колебалось в широком диапазоне (от 2 до 1000 мкг/л), что позволяло при использовании техники линеаризации значительно упростить и ускорить процедуру анализа.

Измерения проводились с использованием атомно-абсорбционного спектрометра с электротермическим атомизатором и зеемановским корректором неселективного поглощения Perkin Elmer Model 4100ZL. Калибровка проводилась по

водным растворам. Параметры алгоритма линеаризации соответствовали величинам, представленным в Таблице 13.

Результаты определения содержания меди в целом совпадают с опубликованными в литературе данными, полученными другими исследователями. В Таблице 19 в качестве примера представлено сравнение результатов определения содержания меди в различных отделах мозга крыс.

Таблица 19. Сравнение результатов измерения концентрации меди в отделах мозга взрослых крыс, полученные в разных лабораториях

Отделы мозга	Содержание меди, мкг/г		
	PE 4100ZL [7]	ICP MS [43]	Пламенная ААС [20]
Кора	2.8	2.9	2.2
Гиппокамп	2.9	2.4	-
Мозжечок	3.4	-	-
Гиппоталамус	7.1	-	-
Гипофиз	6.6	-	-
Миндалевидное тело	1.9	2.4	-
Сосудистое сплетение	0.4	-	-

В дальнейшем измерения были продолжены с использованием атомно-абсорбционных спектрометров ZEEnit-650 и ZEEnit-700P (Analytik Jena). В этом случае для расширения рабочего диапазона использовался динамический режим трех полевого зеемановского корректора (см. раздел 1.4.3). Поскольку измерения проводились в течение длительного времени (с 1998 по 2005 год на спектрометре Perkin Elmer 4100ZL с применением техники линеаризации, а после 2005 года на спектрометрах серии ZEEnit), не представляется возможным сравнение результатов

для одних проб. Однако наблюдается хорошая воспроизводимость результатов, полученных на разных спектрометрах с использованием различных способов расширения динамического диапазона, а также хорошая их корреляция с данными, опубликованными другими исследователями.

В Таблице 20 представлено сравнение результатов определения содержания меди, полученные с использованием техники линеаризации [38, 44] (PE Model 4100ZL) и 3-х полевого режима зеемановского корректора [57] (ZEEnit-650), а также результаты, опубликованные в литературе [11].

Таблица 20. Сравнение результатов определения содержания меди в пробах тканей биологического происхождения с использованием различных способов расширения динамического диапазона.

Объект анализа	Содержание меди		
	PE Model 4100ZL	ZEEnit-650	Литературные данные [11]
Сыворотка крови 10-дневных крыс, мкг/л	300±50	280±15	320±20
Сыворотка крови взрослых крыс, мкг/л	900±30	850±90	920±50
Печень 10-дневных крыс, нг/мг белка	1750±30	2000±100	-
Печень взрослых крыс, мкг/г ткани	20±2	18±1	20±4

Необходимо отметить, что использование техники линеаризации позволяло значительно упростить процедуру калибровки. При использовании техники линеаризации калибровка проводилась по 3 точкам в области малых концентраций. При использовании динамического режима зеемановского корректора калибровка

проводилась по 7 - 9 точкам. Кроме того, поскольку измерения проводились для высоких концентраций, после проведения калибровки перед измерением проб обязательно необходимо проведение дополнительного отжига графитовой печи и промывки дозирующего капилляра автодозатора. Необходимо также отметить, что проведение измерений большого числа проб в одной серии значительно изменяло свойства поверхности платформы, что приводило к изменению формы абсорбционного импульса. А в этом случае использование техники линеаризации способствовало обеспечению правильности результатов анализа (см. раздел 4.6).

4.8. Выводы к главе 4

Наиболее существенным результатом данного этапа работы является линейаризация калибровочных кривых во всей области изменения абсорбционных сигналов вплоть до уровня обращения с погрешностью, не превышающей случайный разброс результатов. Разработанный алгоритм применим для любых элементов при различных условиях измерения (токах через источник света и ширинах щели), в том числе и в тех случаях, когда кривизна калибровки частично вызвана зависящими от массы химическими эффектами и/или неоднородностью распределения атомов в поперечном сечении печи.

Процедура калибровки включает определение трех параметров A_r , m_0 и β . Для их определения необходимы холостой раствор и четыре калибровочных раствора. С учетом трех-четырёхкратного измерения каждого из растворов, процедура калибровки занимает от 40 до 50 минут, т.е. по продолжительности немногим отличается от обычной процедуры калибровки (без восстановления импульсов) по 5-6 стандартам.

Однако по сравнению с другими методами, метод калибровки, основанный на технике восстановления формы импульсов, имеет ряд важных преимуществ.

(1) Прежде всего, это возможность надежного использования метода добавок во всем аналитическом диапазоне, в том числе в области средних и больших сигналов, измеряемых с наибольшей фотометрической точностью.

(2) Независимость величины восстановленных сигналов от неконтролируемых изменений формы импульсов, связанных, например, с изменением состава матрицы или старением печи.

(3) Надежный и простой контроль кривизны концентрационной кривой с помощью параметра A_r , не зависящего от изменения чувствительности измерений. Этот контроль особенно важен при работе с таким пространственно неоднородным и нестабильным источником света, как высокочастотные лампы.

(4) Упрощение процедуры перекалибровки градуировочной зависимости в широком диапазоне концентраций. Исключение влияния на чувствительность факторов, влияющих на форму аналитического сигнала. Для линеаризованного графика стала возможна перекалибровка по одной единственной точке.

(5) Исключение влияния на чувствительность факторов, изменяющих форму аналитического сигнала.

(6) Возможность использования для калибровки единственного параметра m_0 является важным шагом в развитии концепции абсолютного анализа.

(7) Метод восстановления является единственно возможной основой для расширения аналитического диапазона за счет использования импульсов с провалом [27, 30, 32]. Предложенный модифицированный алгоритм в комбинации с остальными необходимыми для этого параметрами (Δ и R_d) обеспечивает дополнительное расширение линейного аналитического диапазона еще на порядок.

Работоспособность алгоритма при изменении формы абсорбционного импульса была проверена на примере свинца на модельных растворах с использованием метода "введено-найдено".

Алгоритм линеаризации с успехом использовался при определении содержания меди в тканях и жидкостях биологического происхождения.

ГЛАВА 5. Оценка предела обнаружения

Зеемановская ААС с ЭТА широко используется для анализа образцов со сложной матрицей, поскольку позволяет достигать низких пределов обнаружения при высокой надежности результатов измерения. В предыдущих главах обсуждалась проблема расширения динамического диапазона в области высоких концентраций с использованием техники линеаризации градуировочной зависимости. В области низких концентраций динамический диапазон ограничен пределом обнаружения.

Предел обнаружения является одной из важнейших характеристик аналитической процедуры и обычно становится объектом минимизации в процессе разработки методики.

Стандартная процедура определения величины предела обнаружения, рекомендованной IUPAC [22], требует проведения двадцати повторных измерений малого сигнала абсорбции, с последующим его расчетом на основании стандартного отклонения. Для учета влияния матрицы на погрешность измерений целесообразно при определении предела обнаружения использовать анализируемый образец с малым содержанием определяемого элемента, а для определения чувствительности проводить вторую серию измерений для образцов с известной концентрацией. Очевидно, что данная процедура определения предела обнаружения является весьма трудоемкой и длительной. Для аналитика важно иметь возможность оперативной оценки величины предела обнаружения, которая позволит заранее, до завершения полной процедуры оптимизации условий измерения, оценить границы методики и, соответственно, спланировать дальнейшую работу.

Другим подходом к оценке предела обнаружения является его теоретическая оценка, в частности с использованием отношения сигнал/шум [15, 55]. Этот подход, будучи достаточно общим, позволяет оценивать и сравнивать предельные возможности различных методов анализа. Однако данный метод не учитывает конкретные особенности аналитического метода, связанные с условиями измерений,

и не позволяет определить возможные пути снижения предела обнаружения. Последнее было показано в работе Барнетта и соавторов [10], в которой экспериментально исследовалась зависимость предела обнаружения ряда элементов от некоторых параметров (времени зануления, времени интегрирования, присутствия неселективного поглощения) и был сделан вывод о возможности оптимизации условий измерения с целью снижения предела обнаружения. В дальнейшем Львов и соавторы [26], основываясь на теоретическом анализе фотометрической ошибки в Зеемановской ААС сЭТА, показали возможность теоретической оценки величины предела обнаружения при оптимизации экспериментальных условий. В обоих исследованиях [10, 26] применялся спектрометр Perkin-Elmmer, Model 5000 Zeeman.

Целью данного этапа работы являлось развитие упомянутого выше [26] метода априорной оценки величины предела обнаружения на основе теоретического анализа фотометрической ошибки с учетом влияния неселективного поглощения на погрешность измерения, а также проверка эффективности предложенного алгоритма на более светосильном спектрометре Model 4100ZL. Результаты работы были использованы при оптимизации условий определения Cd в крови.

5.1. Ошибка измерения малого интегрального абсорбционного сигнала

Львовым и соавторами [26] было показано, что стандартное отклонение малого сигнала интегральной абсорбции и, соответственно, величина предела обнаружения, в основном, определяется фотометрической погрешностью измерения, а погрешностями стадий дозирования и атомизации можно пренебречь. Основными компонентами фотометрической ошибки при измерении интегральной абсорбции вблизи предела обнаружения являются ошибки на стадиях зануления, $\Delta Q_{\text{бoc}}$, и интегрирования сигнала, ΔQ_{read} .

Погрешность измерения интегрального сигнала абсорбции за счет погрешности зануления определяется временами зануления, $t_{\text{бoc}}$, и интегрирования, t_{int} , а также минимальной абсолютной фотометрической погрешностью, ΔA_{min} , соответствующей измерению сигнала в отсутствии поглощения [26]:

$$\Delta Q_{\text{бoc}} = \frac{\Delta A_{\text{min}} \cdot n}{\sqrt{k}} \quad (30)$$

где $n = t_{\text{int}} \cdot f$, $k = t_{\text{бoc}} \cdot f$ и f - число измерений абсорбции в секунду.

По правилу сложения независимых ошибок, суммарная погрешность измерения площади импульса абсорбции за счет процедур зануления и интегрирования имеет вид:

$$\Delta Q_A = \frac{1}{f} \sqrt{\Delta Q_{\text{read}}^2 + \Delta Q_{\text{бoc}}^2} = \frac{1}{f} \sqrt{\sum_{i=1}^n (\Delta A_z(i))^2 + \frac{(\Delta A_{\text{min}})^2 n^2}{k}} \quad (31)$$

где $\Delta A_z(i)$ - фотометрическая ошибка единичного измерения абсорбции. Для малого сигнала погрешность измерения $\Delta A_z(i)$ можно принять постоянной для всех i :

$\Delta A_z(i) = \Delta A_z$. В этом случае уравнение (31) можно представить в виде:

$$\Delta Q_A = \frac{1}{f} \sqrt{(\Delta A_Z)^2 n + \frac{(\Delta A_{\min})^2 n^2}{k}} \quad (32)$$

В случае отсутствия неселективной составляющей сигнала и дополнительных источников погрешности (шумы, связанные с рефракцией пучка света и/или с радиацией от стенок нагретой печи, и др.) справедливо условие $\Delta A_Z \approx \Delta A_{\min}$ и уравнение (32) после простейших преобразований принимает вид:

$$\Delta Q_A = \frac{\Delta A_{\min}}{\sqrt{f}} \cdot t_{\text{int}} \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{voc}}}} \quad (33)$$

Величина ΔA_{\min} определяется погрешностью измерения интенсивности потока света в отсутствие поглощения [26]:

$$\Delta A_{\min} \cong 0.6 \Delta I_o / I_o \quad (34)$$

При условии, что флуктуации интенсивности, ΔI_o в основном определяются дробовыми шумами, т.е. $\Delta I_o \propto \sqrt{I_o}$, увеличение интенсивности, I_o , светового потока будет уменьшать фотометрическую ошибку, так как $\Delta A_{\min} \propto 1/\sqrt{I_o}$ (см. уравнение (34)). В спектрометрах фирмы Perkin-Elmer величина интенсивности светового потока непосредственно не измеряется, но с ней связан показываемый на табло прибора или экране компьютера параметр E (энергия). Львовым и соавторами [26] было показано, что зависимость фотометрической ошибки измерения в отсутствие поглощения от параметра E в общем виде может быть представлена:

$$\Delta A_{\min} = a \cdot 10^{-E/b} \quad (35)$$

где a и b эмпирические коэффициенты, типичные для применяемого типа спектрометра и определяемые экспериментально.

Таким образом, величина предела обнаружения (DL) в отсутствии неселективного поглощения зависит от трех экспериментальных параметров: времени зануления, времени интегрирования и параметра E - и может быть априорно оценена по 3σ -критерию с помощью выражения, получаемого комбинацией уравнений (33) и (35):

$$DL \equiv 3\Delta Q_A = \frac{3a}{\sqrt{f}} 10^{-E/b} t_{\text{int}} \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}} \quad (36)$$

5.2. Влияние неселективного поглощения на точность измерения малого сигнала абсорбции

В случае атомно-абсорбционных измерений в присутствии значительного неселективного поглощения погрешность измерения сигнала, ΔA_z , оказывается выше погрешности, получаемой в отсутствие какого-либо поглощения, ΔA_{\min} , из-за дополнительного уменьшения светового потока. Для случая, когда фотометрическая погрешность в присутствии неселективного поглощения определяется только дробовыми шумами, т.е. уровнем интенсивности попадающего на ФЭУ света, она может быть представлена в виде [26]:

$$\Delta A_z = \Delta A_{\min} \sqrt{\frac{10^{A_{\text{off}}} + 10^{A_{\text{on}}}}{2}}, \quad (37)$$

где A_{off} и A_{on} - абсорбционные сигналы при выключенном и включенном магнитном поле соответственно. Если измеряется малый сигнал атомной абсорбции при высоком уровне неселективного поглощения, A_{bg} , то есть при условии $A_{\text{bg}} \gg A_z$, то $A_{\text{off}} \approx A_{\text{on}} = A_{\text{bg}}$, и уравнение (37) примет вид:

$$\Delta A_z = \Delta A_{\min} \sqrt{10^{A_{\text{bg}}}} \quad (38)$$

В этом случае, при заданном уровне энергии, фотометрическая ошибка будет зависеть только от величины неселективного поглощения.

Таким образом, для оценки предела обнаружения при измерениях с большой неселективной составляющей сигнала можно использовать следующее выражение, полученное комбинацией уравнений (32) и (38):

$$DL = \frac{3a}{\sqrt{f}} 10^{-E/b} t_{\text{int}} \sqrt{\frac{10^{A_{\text{bg}}}}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{бoc}}}} \quad (39)$$

5.3. Процедура измерения

Эксперименты проводились на спектрометре фирмы Перкин – Элмер, модель 4100 ZL. Источниками света служили лампы с полым катодом (ЛПК) типа ЛТ-2 и ЛСП-2, изготовленные в России, а также ЛПК Intensitron и высокочастотные лампы (EDL) фирмы Перкин - Элмер.

Использовали стандартные и диафрагмированные (end-capped) (с диаметрами апертуры 3.5 мм и дозирочного отверстия 2.1 мм) графитовые печи типа THGA. Аргон с содержанием не более $10^{-3}\%$ O_2 и N_2 служил защитным газом.

В качестве рабочих растворов для измерения пределов обнаружения использовались: 1.0 % раствор HNO_3 , а также водный 20% раствор $NaCl$, морская вода (отобранная в Индийском океане с глубины 4000 м) и обработанная в Норвегии кровь (Национальный Институт Профзаболеваний, Осло).

Процедура химической обработки крови состояла в следующем: 2 мл цельной крови нагревали совместно с 2 мл концентрированной азотной кислоты при $90^\circ C$ в течении 4 часов и далее образец разбавляли до 13 мл дистиллированной водой.

5.3.1. Зависимость фотометрической ошибки от параметра E

Для определения ΔA_{\min} проводили пять повторных измерений сигнала в отсутствии поглощения без нагрева атомизатора при значениях параметра E в интервале от 42 до 78 единиц, что достигалось варьированием спектральной ширины щели монохроматора и тока спектральной лампы. Времена зануления и интегрирования составляли: $t_{\text{noc}} = 5$ с и $t_{\text{int}} = 3$ с.

После записи данных на диск с помощью компьютерной программы, написанной на языке Turbo BASIC, рассчитывались значения ΔA_{\min} как стандартные отклонения измерений абсорбции. При $f = 54$ Гц и $t_{\text{int}} = 3$ с обрабатывались 162

экспериментальные точки. Относительное стандартное отклонение величины ΔA_{\min} не превышало 10%.

5.3.2. Определение зависимости напряжения на ФЭУ от интенсивности света

Исходя из того, что интенсивность светового потока при постоянном токе НСЛ пропорциональна спектральной ширине полосы пропускания монохроматора, была получена зависимость напряжения на ФЭУ от интенсивности (Рисунок 43).

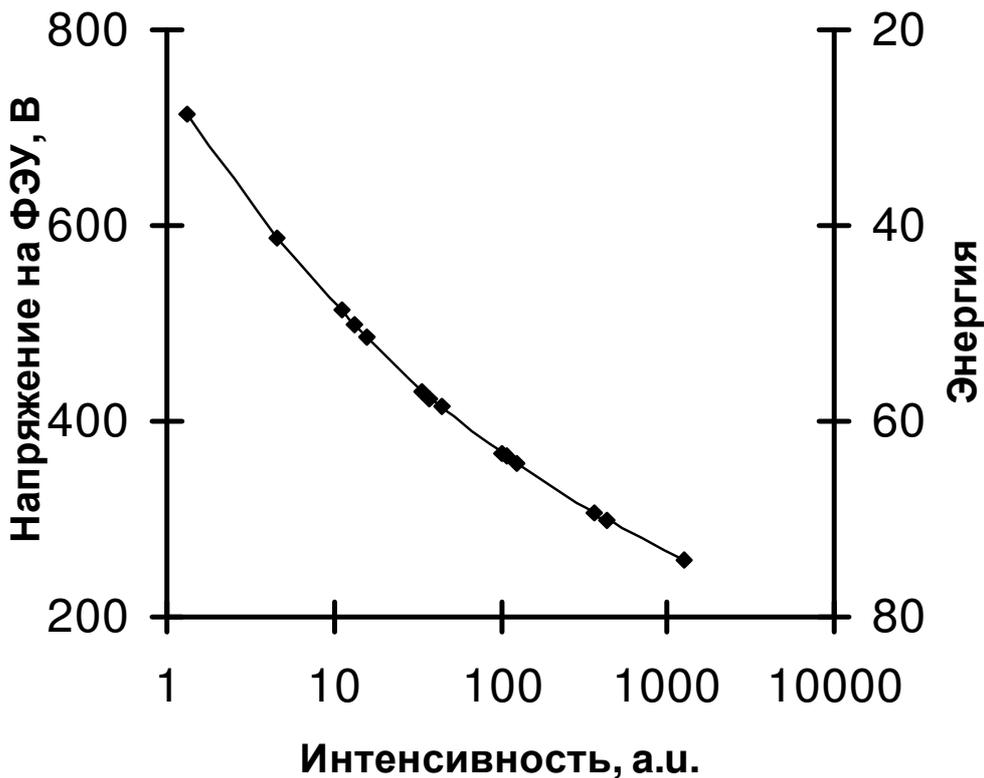


Рисунок 43. Зависимость напряжения на ФЭУ (Энергии) от интенсивности света для линии Cu 327.4 нм: (—♦—) напряжение, (○) энергия.

Процедура измерений заключалась в следующем (см. Таблица 21): для значения тока I_1 снимались показания напряжения на ФЭУ для трех различных щелей монохроматора: $V_1(2.0)$, $V_1(0.7)$ и $V_1(0.2)$. Затем, уменьшая ток лампы до значения I_2 , при котором $V_1(0.7) = V_2(2.0)$, снимались значения напряжения для других (0.7 и 0.2 нм) величин щелей и так далее.

Измерения проводили для линии Cu 327.4 нм с ЛПК фирмы Перкин - Элмер в диапазоне энергий от 77 до 29.

Таблица 21. Зависимость напряжения на ФЭУ от интенсивности света

Ток ЛПК	Щель, нм	Интенсивность света, у.е.	Напряжение на ФЭУ
i1	2.0	100	U1(2.0)
	0.7	35	U1(0.7)
	0.2	10	U1(0.2)
i2	2.0	10	U2(2.0)
	0.7	3.5	U2(0.7)
	0.2	1.0	U2(0.2)

5.3.3. Изучение зависимости фотометрической ошибки от величины неселективного поглощения

Для исследования зависимости ΔA_z от величины фонового сигнала проводились измерения шумовой дорожки для линии As 193.7 нм в присутствии матрицы (образец крови). В качестве источника света была использована высокочастотная лампа EDL System 2 фирмы Перкин-Элмер.

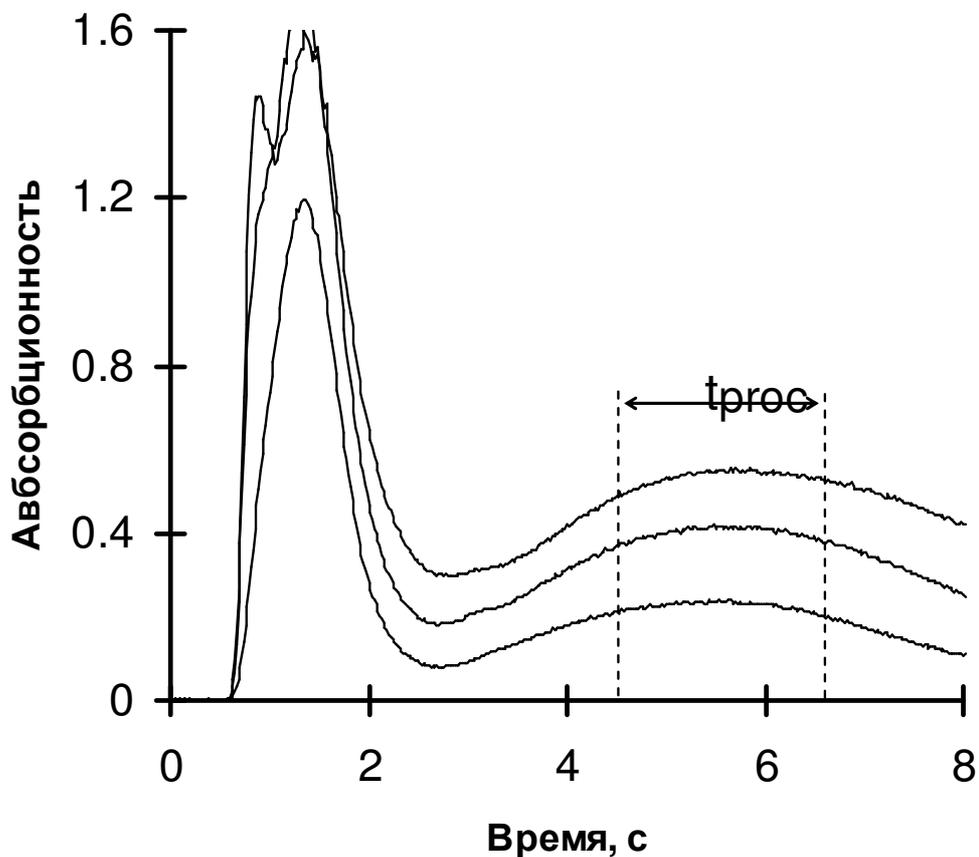


Рисунок 44. Сигнал неселективного поглощения для линии As 193.7 нм при дозировке 30, 60 и 90 мкл крови. t_{proc} — интервал, используемый для интегрирования аналитического сигнала.

Температурные условия измерений выбирались таким образом, чтобы, варьируя объем дозировки раствора обработанной крови, моделировать различный уровень фонового сигнала в отсутствие сигнала абсорбции A_s . Измерения проводились при температурах термообработки 300°C и атомизации 1000°C . Время атомизации составляло 8 секунд, для обработки использовался временной интервал 2-3 секунды с мало изменяющимся уровнем фона (Рисунок 44). Величина ΔA_z определялась аналогично величине ΔA_{\min} в отсутствие неселективного поглощения.

5.3.4. Определение предела обнаружения

Условия измерений пределов обнаружения выбирались в соответствии с оптимумом фотометрических измерений: близкая к максимальной энергия $E = 60 - 70$, максимальное для используемого типа спектрометра время зануления $t_{\text{noc}}=5\text{c}$ и минимально возможное время интегрирования $t_{\text{инт}}$, которое варьировалось в пределах $0.4 - 1.7 \text{ c}$.

Процедура измерений заключалась в следующем. По достаточно малому импульсу абсорбции с высотой пика не более 0.01 Б ($Q_A \approx 0.005 \text{ Б}\cdot\text{c}$) оптимизировалось временное окно интегрирования, соответствующее профилю пика. При этом время интегрирования уменьшалось в среднем в пять раз по сравнению с продолжительностью стадии атомизации (Рисунок 44). Для каждого элемента проводились 20 повторных измерений интегральной абсорбции. Для каждой серии измерений рассчитывались значения стандартного отклонения и величины предела обнаружения по 3σ -критерию.

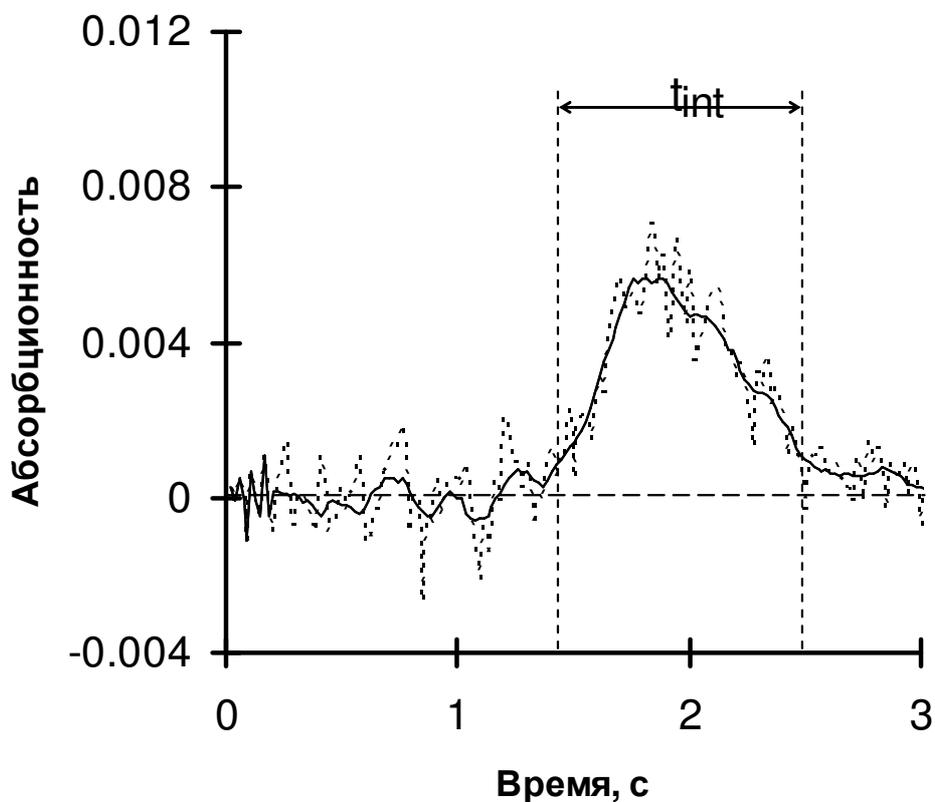


Рисунок 45. Оптимизация окна интегрирования, t_{int} , для сигнала Ag: (-----) до и (____) после сглаживания.

При оптимизации условий определения Cd в крови пределы обнаружения определяли по результатам 20 повторных измерений сигнала интегральной абсорбции при дозировке образца крови с малым содержанием Cd. В качестве матричного модификатора на платформу дозировались 10 мкг Pd и 30 мкг Mg. Перед дозировкой пробы модификатор обрабатывался при температуре 1100 °C в течении 30 секунд для снижения холостого сигнала по определяемому элементу. Для предотвращения адсорбции образца на стенках капилляра автодозатора в качестве промывного раствора использовались 5 мкл 0.5 % азотной кислоты.

5.3.5. Зависимость фотометрической ошибки от интенсивности света и величины неселективного поглощения

На Рисунке 46 графически представлена экспериментально полученная зависимость величины фотометрической ошибки в отсутствие поглощения, ΔA_{\min} , от параметра E .

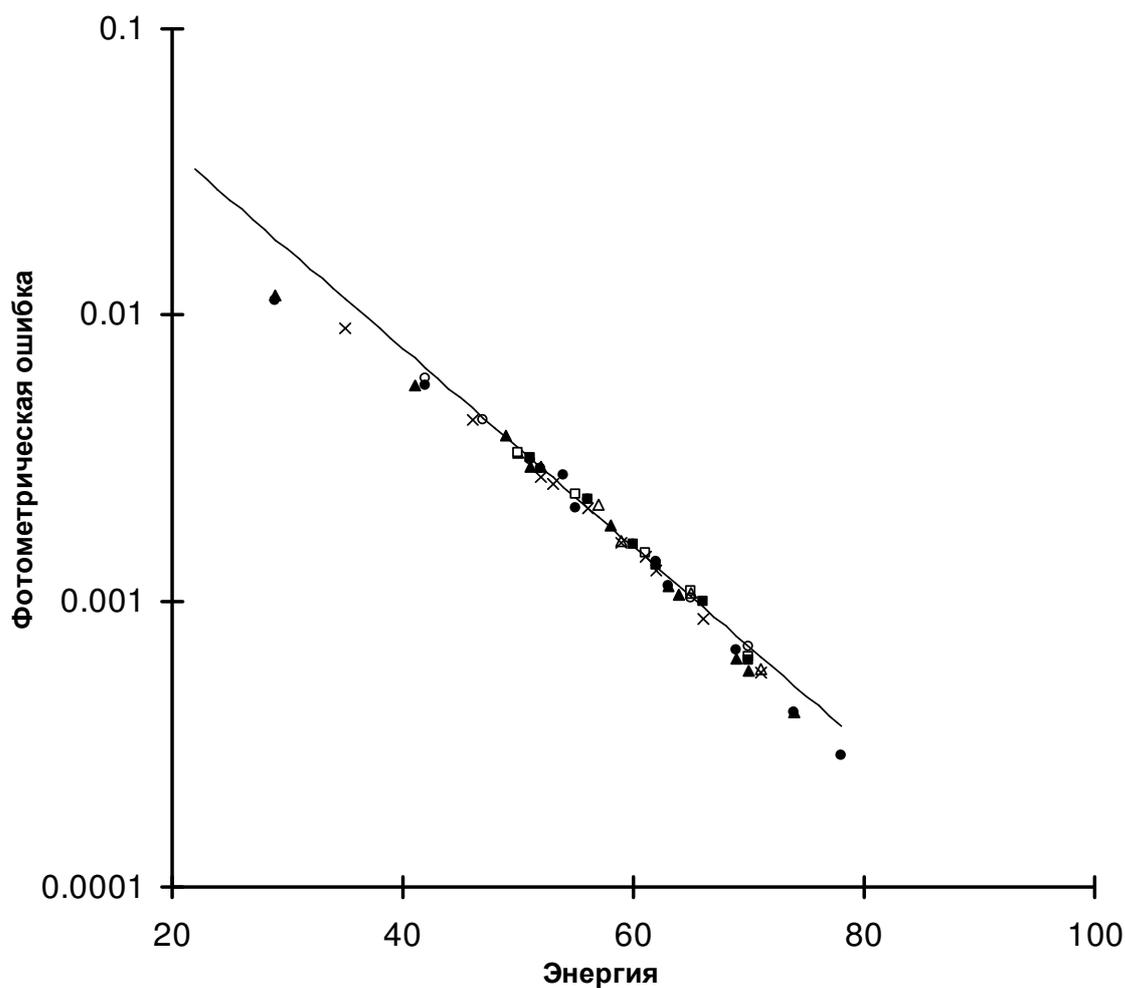


Рисунок 46. Зависимость фотометрической ошибки от параметра E для различных линий и ламп: (\square) Ca 422.7 нм (ЛПК ЛСП-2), (\circ) Cr 357.9 нм (ЛПК ЛТ-2), (\bullet) Cr 357.9 нм (ЛПК Р-Е), (Δ) Cu 324.7 нм (ЛПК ЛСП-2), (S) Cu 324.7 нм (ЛПК Р-Е), (\diamond) Mg 285.2 нм (ЛПК ЛСП-2), (—) Аппроксимация.

Основываясь на этих данных и используя представленную на Рисунке 42 зависимость напряжения ФЭУ от интенсивности светового потока, был построен график зависимости фотометрической погрешности от интенсивности светового потока (Рисунок 47). Наклон прямой для полученной зависимости в логарифмических координатах составляет 45° , что подтверждает правильность сделанного допущения о том, что $\Delta A_{\min} \propto I_0^{-0.5}$ ($\text{tg } \alpha = -1/2$).

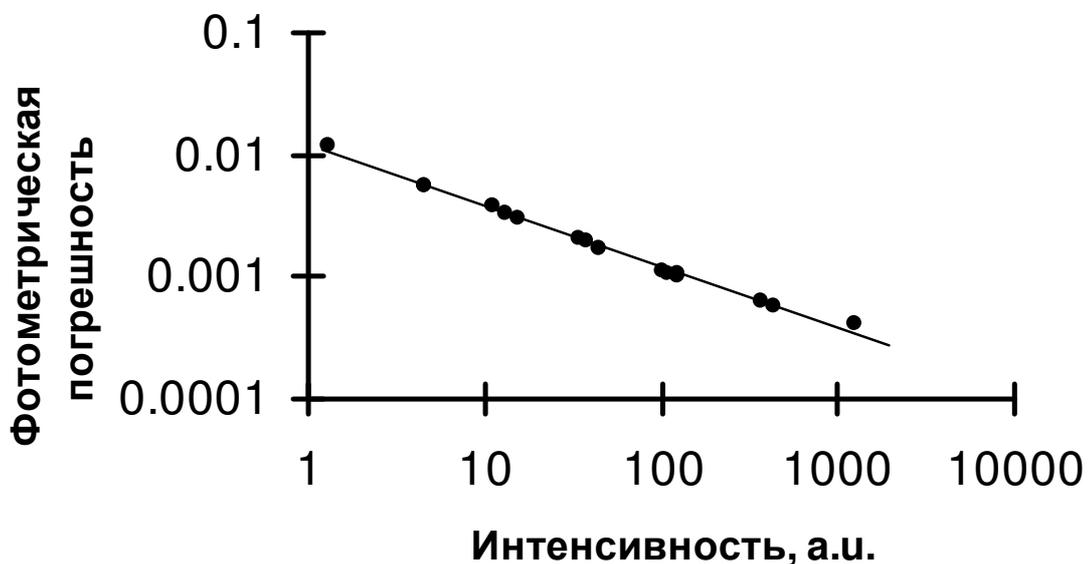


Рисунок 47. Зависимость фотометрической погрешности от интенсивности света для линии линии Cu 324.7 нм:

(●) эксперимент,

(—) расчет: $\Delta A_{\min} \propto I_0^{-0.5}$.

На Рисунке 48 представлена теоретически рассчитанная по формуле (38) и измеренная экспериментально для линии As 197.3 нм зависимость фотометрической ошибки, ΔA_z , от величины неселективного поглощения. Как видно из рисунка, экспериментальные данные согласуются с расчетными, что подтверждает

возможность корректного учета влияния неселективного поглощения на погрешность измерений.

Представленные данные подтверждают предположение о том, что фотометрическая ошибка при измерениях сигнала атомной абсорбции как в отсутствие, так и в присутствии неселективного поглощения в основном определяется дробовыми шумами.

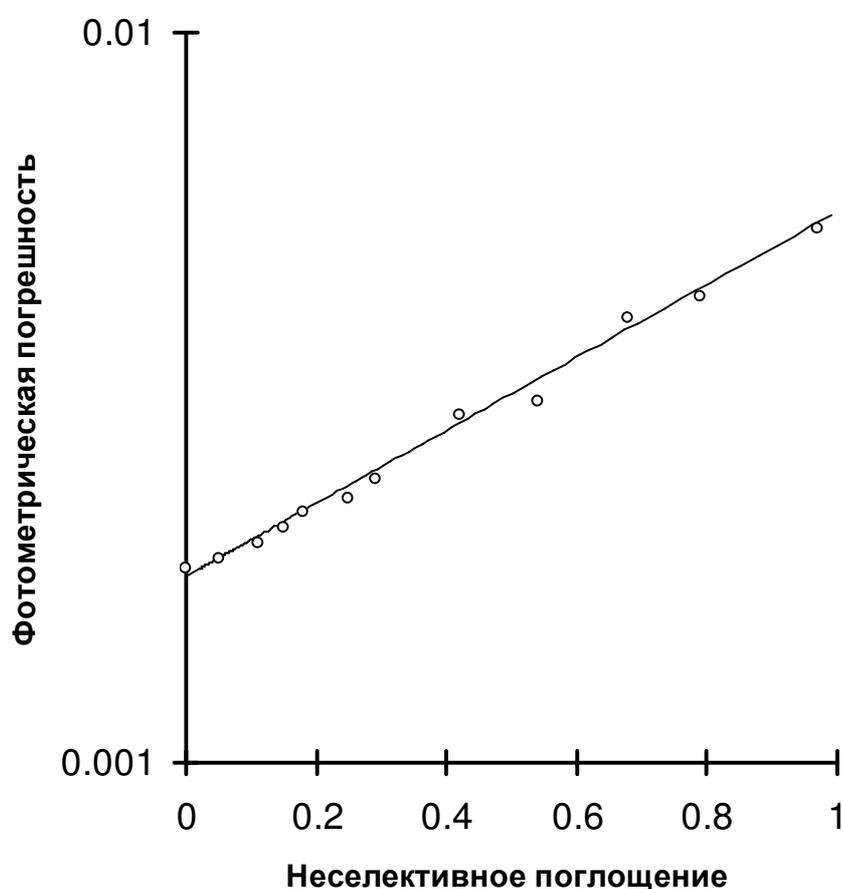


Рисунок 48. Зависимость фотометрической ошибки от величины неселективного поглощения для линии As 193.7 нм при анализе крови: (○) эксперимент, (—) расчет в соответствии с уравнением (38).

5.3.6. Пределы обнаружения для водных растворов

Представленная на Рисунке 46 зависимость может быть аппроксимирована следующим уравнением:

$$\Delta A_{\min} = (0.19 \pm 0.01) \cdot 10^{-E/(28.8 \pm 0.4)} \quad (40)$$

Коэффициент корреляции для полученной аппроксимационной зависимости составляет 0.998. С учетом коэффициентов уравнения (40) выражение (36) принимает вид:

$$DL = 0.076 \cdot 10^{-E/29} \cdot t_{\text{int}} \cdot \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}} \quad (41)$$

В числовом коэффициенте 0.076 учитывается значение частоты измерения $f = 54$ Гц.

Таблица 22 содержит экспериментально измеренные и рассчитанные по формуле (41) пределы обнаружения для десяти элементов. Выбранные для изучения элементы сильно различаются по летучести и, соответственно, для них применяли различные температуры атомизации и времена интегрирования. Несмотря на это, а также на различие в интенсивности излучения источников света, наблюдается соответствие результатов эксперимента теоретическим расчетам. В среднем расхождение между расчетом и экспериментом составляет около 15% и находится в пределах погрешности экспериментального определения пределов обнаружения.

Таблица 22. Сравнение экспериментально измеренных величин пределов обнаружения и величин, рассчитанных с использованием уравнения (41)

Линия, нм	E	t_{int} , с	ПО (3σ) / мБ·с	
			Эксперимент	Расчет
Ag 328.1	70	1.0	0.27	0.32
Al 309.1	67	0.4	0.21	0.24
Bi 306.7	71	0.8	0.30	0.26
Cd 228.8	66	0.8	0.39	0.39
Cr 357.9	68	0.5	0.21	0.25
Cu 324.8	67	1.0	0.39	0.41
In 325.6	67	1.0	0.33	0.41
Pb 283.3	72	0.6	0.27	0.20
Sb 231.1	62	1.0	0.57	0.61
V 318.4	56	1.7	1.59	1.34

5.3.7. Влияние матрицы на величину предела обнаружения

В отличие от модельного эксперимента, когда для обработки атомного сигнала выбирается временной интервал с практически постоянным уровнем фона, на практике сигнал атомной абсорбции может измеряться при изменяющемся сигнале неселективного поглощения, как например, при определении Cd в морской воде (см. Рисунок 49).

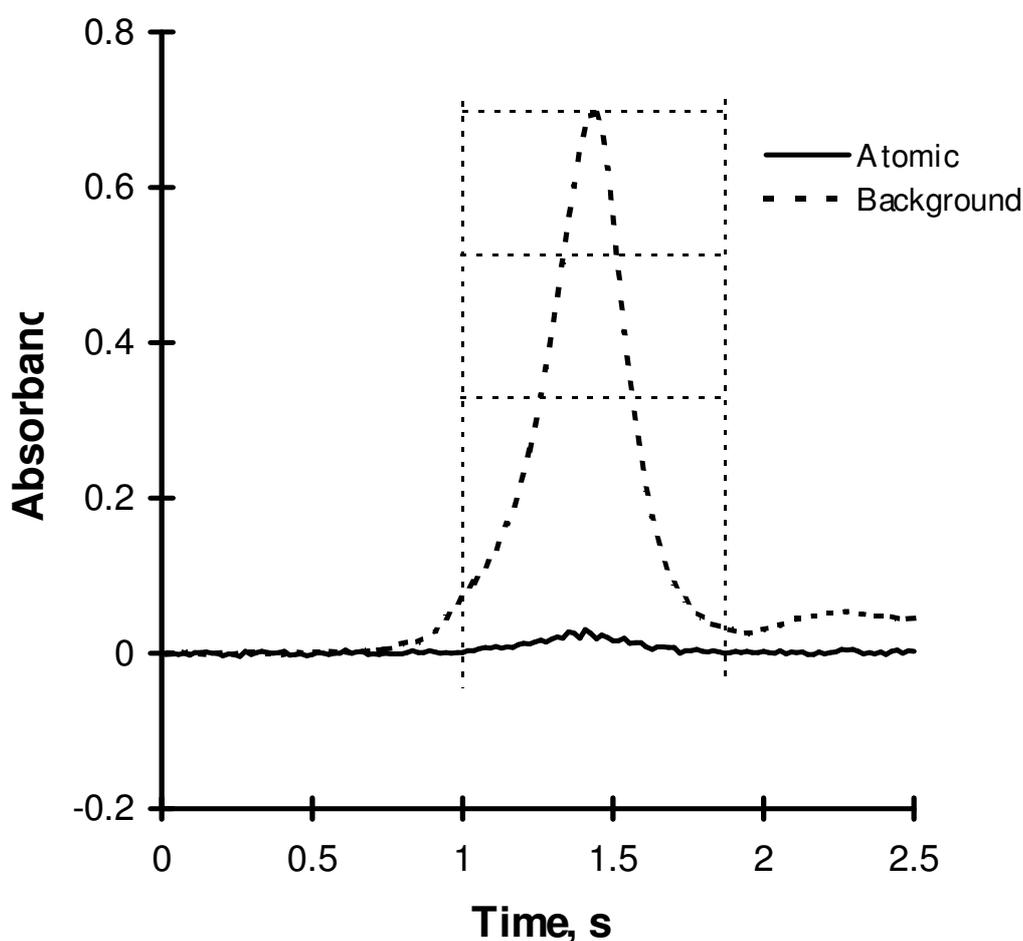


Рисунок 49. Аналитический сигнал при анализе Cd в морской воде

В этом случае фотометрическая погрешность единичного измерения атомной абсорбции, $\Delta A_z(i)$, будет изменяться в зависимости от величины неселективного

поглощения, $A_{bg}(i)$, (см. уравнение (38)) в интервале интегрирования сигнала. В этом случае величину суммарной погрешности, ΔQ_{read} , с учетом уравнений (31) и (38) можно представить:

$$\Delta Q_{\text{read}} = \frac{\Delta A_{\text{min}}}{f} \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(10^{A_{bg}(i)} \right)} = \frac{\Delta A_{\text{min}}}{f} \sqrt{n \cdot 10^{\tilde{A}_{bg}}} \quad (42)$$

где \tilde{A}_{bg} - средне взвешенная величина неселективного поглощения, процедура определения которой будет описана ниже.

Из уравнения (42) видно, что наибольший вклад в величину фотометрической погрешности на стадии интегрирования сигнала вносят точки, которым соответствуют максимальное или близкие к нему значения $A_{bg}(i)$. Исходя из этого, для простоты использования выражения (39) был введен параметр \tilde{A}_{bg} , позволяющий оценить суммарное влияние неселективного поглощения на погрешность интегрирования сигнала.

В рассматриваемых случаях (для матрицы NaCl и морской воды) сигнал атомной абсорбции Cd или Pb располагается прямо под сигналом неселективного поглощения (см. Рисунок 49). Для определения средне взвешенного значения неселективного поглощения мы использовали следующее выражение:

$$\tilde{A}_{bg} = \left[A_{bg}^{\text{max}} + \bar{A}_{bg} \right] / 2 \quad (43)$$

где \bar{A}_{bg} - средний уровень неселективного поглощения

$$\bar{A}_{bg} = Q_{bg} / t_{\text{int}} \cdot \quad (44)$$

Таким образом, для расчёта \tilde{A}_{bg} использовали два параметра: A_{bg}^{max} и Q_{bg} , получаемые непосредственно из эксперимента.

С учетом уравнения (42) величину предела обнаружения в присутствии неселективного поглощения можно оценить следующим образом:

$$DL = 0.076 \cdot 10^{-E/29} \cdot t_{\text{int}} \cdot \sqrt{\frac{10 \tilde{A}_{\text{bg}}}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}} \quad (45)$$

В Таблице 23 приведены результаты экспериментального определения и теоретических расчетов предела обнаружения, выполненных по формулам (39) и (40). Как видно из представленных данных, формула (41) дает значительно меньшее расхождение между экспериментом и расчетом. Таким образом, данный алгоритм может быть использован для оценки фотометрической ошибки и величины предела обнаружения (ПО) в присутствии неселективного поглощения.

Таблица 23. Сравнение экспериментально измеренных величин пределов обнаружения и величин, рассчитанных с использованием уравнений (41) и (45).

Элемент (матрица)	E	$t_{\text{инт}}$ с	Q_{bg} Б·с	$A_{\text{bg}}^{\text{max}}$ Б	\tilde{A}_{bg} Б	ПО (3 σ) / мБ·с		
						Эксп.	Расчет (41)	Расчет (45)
Cd (NaCl)	60	0.8	0.35	0.95	0.70	1.4	0.6	1.3
Cd (Морская вода)	60	0.9	0.22	0.55	0.40	1.0	0.6	0.9
Pb (Морская вода)	66	1.5	0.45	0.45	0.30	1.5	0.6	1.2

5.3.8. Алгоритм оценки величины предела обнаружения

Предложенный алгоритм оценки величины предела обнаружения основан на оценке величины фотометрической погрешности, которая определяется дробовыми шумами фотоприемника. Как известно, дробовые шумы снижаются с увеличением интенсивности излучения. Таким образом, необходимо экспериментально установить для данного типа спектрометра зависимость фотометрической ошибки от интенсивности излучения.

Алгоритм оценки величины предела обнаружения можно представить в следующем образом.

Величина предела обнаружения определяется фотометрической погрешностью измерения интегрального сигнала ΔQ_A :

$$\Delta Q_A = \frac{\Delta A_{\min}}{\sqrt{f}} \cdot t_{\text{int}} \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{voc}}}}, \quad (46)$$

которая зависит от фотометрической погрешности ΔA_{\min} , частоты измерения абсорбционности f , времени зануления t_{voc} и времени интегрирования t_{int} .

К уменьшению ошибки интегрирования и, соответственно, предела обнаружения приводит уменьшение фотометрической погрешности ΔA_{\min} и времени интегрирования t_{int} , а также увеличение времени зануления t_{voc} . Частота измерения абсорбционности обычно постоянна для данной модели спектрометра.

Фотометрическая погрешность определяется дробовыми шумами и является функцией интенсивности излучения I_0 :

$$\Delta A_{\min} = f(I_0). \quad (47)$$

Увеличение интенсивности источника света приводит к уменьшению фотометрической погрешности.

Наличие неселективного поглощения ухудшает условия фотометрирования и приводит к увеличению величины предела обнаружения. В этом случае должна быть рассчитана величина средневзвешенного значения неселективного поглощения \tilde{A}_{bg} с

использованием значений максимальной амплитуды сигнала неселективного поглощения A_{bg}^{\max} и его интеграла Q_{bg} в использовании уравнений (43) и (44).

В этом случае для оценки погрешности измерения интегрального сигнала может быть использовано следующее выражение:

$$\Delta Q_A = \frac{\Delta A_{\min}}{\sqrt{f}} \cdot t_{\text{int}} \sqrt{\frac{10^{\tilde{A}_{bg}}}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}}. \quad (48)$$

Величина ΔA_{\min} может быть измерена на основании оценки величины стандартного отклонения при обработке шумовой дорожки.

На Рисунке 50 представлена зависимость фотометрической погрешности ΔA_{\min} от интенсивности излучения ЛПК I_0 в логарифмических координатах. Измерения проводились на атомно-абсорбционном спектрометре SIMAA-6000 (Perkin Elmer). В системе регистрации этого спектрометра используется твердотельный детектор типа ССД. Использование полупроводникового детектора в системе регистрации (в отличие от ФЭУ) позволяет непосредственно измерить интенсивность источника излучения (в импульсах за секунду). Измерения проводились с использованием ЛПК на Cr на длине волны 357.9 нм. Для исключения влияния засветки системы регистрации на фотометрическую погрешность измерения проводились при температуре атомизации 120 °С. Для изменения интенсивности источника ток ЛПК изменялся от 3 до 35 мА.

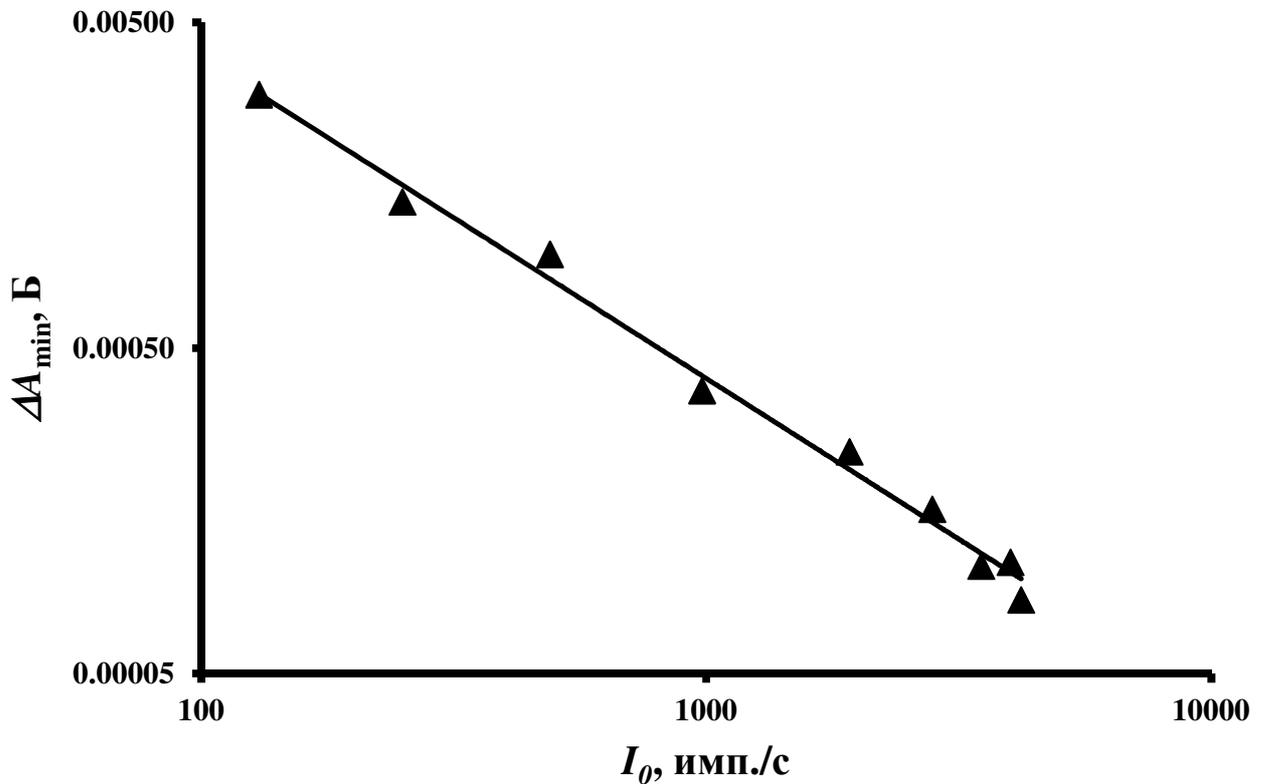


Рисунок 50. Зависимость фотометрической погрешности ΔA_{\min} от интенсивности излучения ЛПК I_0 (АА спектрометр СИМАН-6000, Сг, 357.9 нм).

Современные спектрометры с ФЭУ в системе регистрации не позволяют провести измерение интенсивности источника излучения. В этом случае в качестве параметра, однозначно связанного с интенсивностью выступает напряжение на ФЭУ.

Зависимость величины ΔA_{\min} от напряжения на ФЭУ ($\Delta A_{\min} = f(U)$) (или иного параметра, связанного с интенсивностью источника излучения (например, параметра E для спектрометров Perkin Elmer) может быть найдена экспериментально. Для этого должна быть проведена серия экспериментов по измерению стандартного отклонения при измерении нулевого поглощения (шумовой дорожки) при различных интенсивностях излучения (напряжении на ФЭУ). Измерения должны проводиться

для разных ламп путем варьирования силы тока и спектральной ширины щели. Полученные результаты (Рисунок 44) используются для аппроксимации.

Для спектрометров PerkinElmer напряжение на ФЭУ не выводится на экран в качестве стандартного параметра. Для отображения интенсивности излучения применяется параметр E , который рассчитывается программным обеспечением спектрометра с использованием формулы $E=(1000 - U)/10$, где U - напряжение на ФЭУ.

В этом случае зависимость фотометрической погрешности от интенсивности излучения имеет вид $\Delta A_{\min} = a \cdot 10^{-E/b}$, где a и b - эмпирические коэффициенты, определяемые при аппроксимации экспериментальных данных. Найденная зависимость $\Delta A_{\min} = f(U)$ или $\Delta A_{\min} = f(E)$ подставляется в уравнение (46) или (48). Для спектрометра Perkin Elmer Model 4100ZL формулы расчета предела обнаружения по сигналу соответствуют уравнениям (41) и (45).

Концентрационный C_L предел обнаружения (мкг/л) по 3- σ критерию может быть рассчитан по следующей формуле:

$$C_L = \frac{3 \cdot m_0 \cdot \Delta Q_A}{V \cdot 0.0044}, \quad (49)$$

где m_0 - характеристическая масса (пг), а V - объем дозировки (мкл).

5.3.9. Практическое применение алгоритма оценки величины предела обнаружения

В основу предложенного алгоритма положена зависимость погрешности стадии фотометрирования от интенсивности излучения. Современные атомно-абсорбционные спектрометры не позволяют проводить измерение интенсивности. В этом случае для ее оценки целесообразно использовать напряжение на ФЭУ, которое зависит только от интенсивности света, попадающего на фотоприемник.

Для оценки фотометрической ошибки необходимо оценить величину стандартного отклонения шумовой дорожки (при нулевой абсорбции). Стандартное программное обеспечение коммерческих спектрометров не позволяет напрямую рассчитывать величину стандартного отклонения шумовой дорожки. В этом случае, если возможен экспорт измеренных сигналов в цифровой форме, возможна обработка необходимых данных во внешних программах. В том случае, если это невозможно, для нахождения зависимости фотометрической ошибки (ΔA_{\min}) необходимо провести пересчет экспериментально измеренной ΔQ_A с учетом времен зануления $t_{\text{бoc}}$ и интегрирования t_{int} , а так же частоты измерения абсорбционного сигнала f , с использованием следующего уравнения, получаемого преобразованием выражения (46):

$$\Delta A_{\min} = (\Delta Q_A \sqrt{f}) / \left(t_{\text{int}} \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{бoc}}}} \right). \quad (50)$$

Для проверки универсальности предложенного алгоритма была проведена серия экспериментов с атомно-абсорбционными спектрометрами Analytik Jena.

Определение параметров алгоритма (установление параметров зависимости $\Delta A_{\min} = f(U)$) проводились на спектрометре с электротермическим атомизатором ZEE nit-650P (Analytik Jena, Германия). Измерения проводились с использованием ЛПК Ag, Cu, V, Zn и Se при различных временах интегрирования (от 3 до 30 секунд), токах и спектральных щелях. В качестве ΔQ_A использовалось стандартное

отклонение для 10 параллельных измерений интегрального сигнала абсорбции без дозирования пробы в атомизатор. Частота измерения f для спектрометров серии ZEEnit составляет 100 Гц. В качестве параметра, характеризующего интенсивность излучения было использовано напряжение на ФЭУ. Полученная зависимость фотометрической ошибки ΔA_{\min} от напряжения на ФЭУ (U) представлена на Рисунке 51.

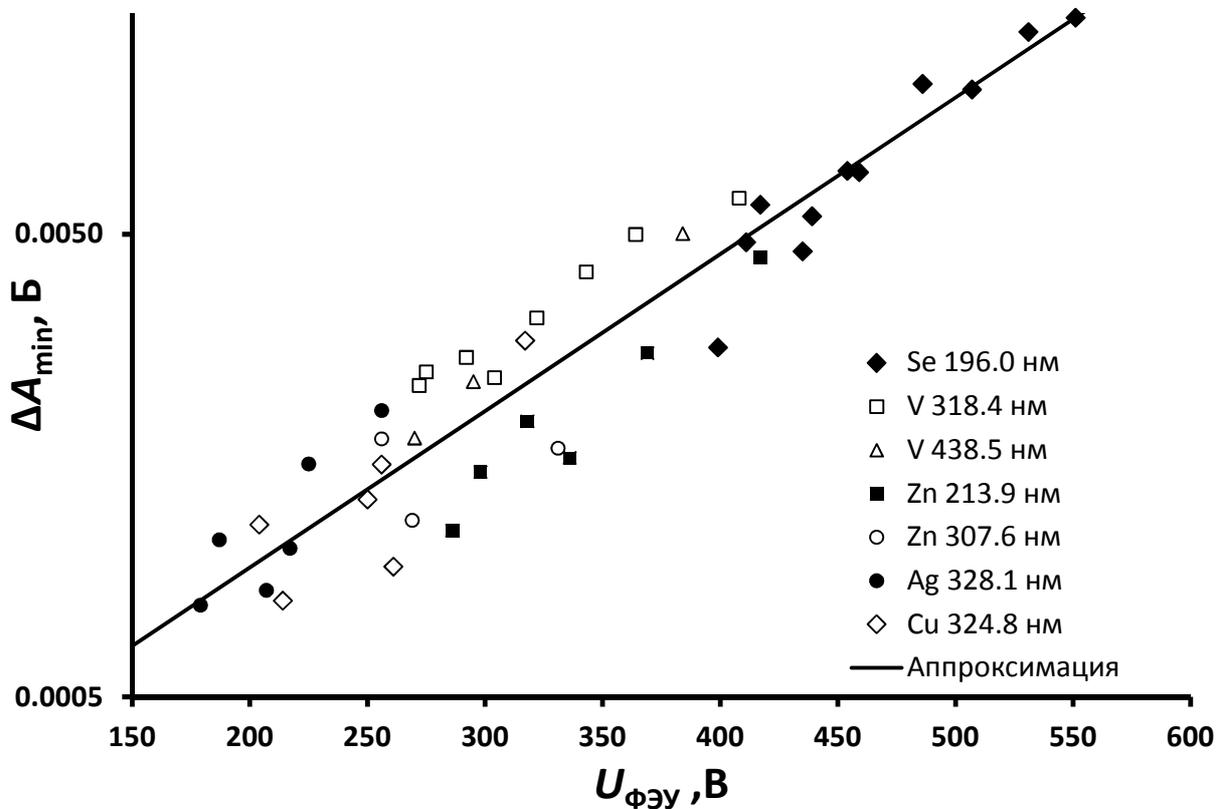


Рисунок 51. Зависимость фотометрической ошибки от напряжения на ФЭУ для спектрометра ZEEnit-650P.

В результате аппроксимации полученных экспериментальных точек было получено следующее выражение:

$$\Delta A_{\min} = 0.0002 \cdot e^{0.0085 \cdot U} . \quad (51)$$

Таким образом, выражения для оценки предела обнаружения для спектрометров ZEEnit могут быть представлены в виде:

$$DL = 0.00002 \cdot e^{0.0085 \cdot U} \cdot t_{\text{int}} \cdot \sqrt{\frac{1}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}} \quad (52)$$

без учета неселективного поглощения, и с учетом влияния неселективного поглощения:

$$DL = 0.00002 \cdot e^{0.0085 \cdot U} \cdot t_{\text{int}} \cdot \sqrt{\frac{10^{\tilde{A}_{\text{bg}}}}{t_{\text{int}}} + \frac{1}{t_{\text{вос}}}} . \quad (53)$$

Средневзвешенная величина неселективного поглощения \tilde{A}_{bg} рассчитывается с использованием уравнений (42) и (43).

В таблице 24 представлены экспериментально измеренные и рассчитанные величины пределов обнаружения для различных спектрометров серии ZEEnit. Измерения проводились для семи спектрометров серии ZEEnit моделей 600, 600P, 650 и 700P, выпущенных в период с 2008 до 2012 год, а так же спектрометров novAA-400P (2014 года выпуска) и novAA-410G (2007 года выпуска). В системе регистрации всех спектрометров используется ФЭУ модели R 928 (Hamamatsu, Япония). Предел обнаружения определялся по 3- σ критерию как утроенное стандартное отклонение для 15 параллельных измерений сигнала для дистиллированной воды.

Различие экспериментально измеренных и расчетных величин не превышает 30 %, что соизмеримо с погрешностью экспериментального определения величины предела обнаружения.

Таблица 24. Сравнение экспериментально измеренных величин пределов обнаружения и величин, рассчитанных с использованием уравнения (52) для спектрометров серии ZEEnit и novAA.

Спектрометр	Линия, нм	U, В	t _{вос} , с	t _{int} , с	ПО (3σ) / мБ·с	
					Эксперимент	Расчет
ZEEnit-600	Cd 228.8	300	3.0	3.0	1.4	2.0
	Pb 217.0	300	4.0	4.0	1.8	2.2
	Pb 283.3	258	4.0	4.0	1.2	1.5
	Ni 232.0	319	5.0	5.0	2.3	2.8
	Mn 259.5	369	3.0	3.0	2.7	3.3
ZEEnit-600	As 193.7	460	3.0	3.0	8.4	7.2
	Al 309.3	300	2.0	2.0	1.6	1.5
	Cd 228.8	230	3.0	3.0	0.78	1.1
	Pb 217.0	328	4.0	4.0	3.0	3.0
	Pb 283.3	264	4.0	4.0	1.2	1.5
	Se 196.0	380	5.0	5.0	5.4	4.8
	Sn 224.6	322	3.0	3.0	1.8	2.3
ZEEnit-650	As 193.7	385	4.0	4.0	4.2	4.5
	As 193.7	525	4.0	4.0	14	15
	Cd 228.8	285	2.0	2.0	1.7	1.4
	Pb 217.0	390	3.0	3.0	3.6	3.9
	Pb 283.3	303	3.0	3.0	1.4	1.9
	Ni 232.0	403	5.0	5.0	5.7	5.7
	Hg 253.7	320	2.0	2.0	1.7	1.8
	Hg 253.7	280	2.0	2.0	1.3	1.3
ZEEnit-650P	Cd 228.8	275	3.0	2.5	1.0	1.3
	Mn 279.5	282	3.0	3.0	1.2	1.6
	Cr 357.9	238	3.0	4.5	1.4	1.5
ZEEnit-700P	Pb 283.3	312	3.0	3.0	1.6	2.1
	Cu 324.7	276	3.0	4.0	1.4	1.9
ZEEnit-700P	Cd 228.8	294	3.0	3.5	2.2	2.0
ZEEnit-700P	Pb 283.3	366	5.0	2.5	2.8	2.6
	As 193.7	445	5.0	2.5	6.6	5.1
novAA-400P	Cd 228.8	316	3.0	3.0	2.6	2.2
	Cu 324.7	299	3.0	3.0	2.0	1.9
	Pb 217.0	377	3.0	5.0	6.4	5.4
	Pb 283.3	279	3.0	5.0	2.9	2.3
	Zn 213.9	335	3.0	3.0	3.0	2.5
novAA-410G	Al 309.3	362	5.0	4.0	4.2	3.5
	Ni 232.0	418	5.0	4.0	7.0	5.6

В таблице 25 представлены результаты оценки величины предела обнаружения в присутствии неселективного поглощения. В качестве матрицы дозировались пищевая добавка и кровь после кислотного разложения. Измерения проводились на спектрометре ZEEnit-600.

Таблица 25. Сравнение экспериментально измеренных величин пределов обнаружения и величин, рассчитанных с использованием уравнений (52) и (53) для спектрометра ZEEnit-650, $t_{\text{бoc}} = t_{\text{int}}$.

Линия, нм	U , В	t_{int} , с	$A_{\text{bg}}^{\text{max}}$, Б	Q_{bg} , Б·с	\tilde{A}_{bg} , Б	ПО (3σ) / мБ·с		
						Эксперимент	Расчет	
							(52)	(53)
As 193.7	378	4.5	0.5	0.9	0.4	6.2	4.5	5.7
Pb 217.0	393	4.0	0.5	0.5	0.3	5.6	4.8	5.9
Pb 217.0	393	4.0	1.0	0.9	0.6	6.2	4.8	7.7
Ni 232.0	380	3.0	0.6	0.6	0.4	5.2	3.7	5.6

Как видно из представленных данных, формула (10) обеспечивает значительно меньшее расхождение между экспериментом и расчетом. Таким образом, данный алгоритм может быть использован для оценки фотометрической ошибки и величины предела обнаружения (ПО) в присутствии неселективного поглощения.

Погрешность оценки величины предела обнаружения не превышает 30 %, что является приемлемой с учетом простоты используемого алгоритма. Параметры аппроксимации зависимости фотометрической ошибки от напряжения на ФЭУ ($\Delta A_{\text{min}} = f(U)$), определенные для одного спектрометра, были использованы для расчета величины предела обнаружения для других приборов серий ZEEnit и novAA, различных модификаций и годов выпуска, в системе регистрации которых используются однотипные ФЭУ.

5.4. Оптимизация условий определения содержания кадмия в крови

Изложенная выше теория была применена при оптимизации условий определения Cd в крови с целью снижения предела обнаружения.

Согласно определению, концентрационный предел обнаружения по 3σ критерию может быть рассчитан по формуле:

$$C_L = \frac{3 \cdot SD(Q_A)}{S}, \quad (50)$$

где S - чувствительность.

При интегральном способе регистрации сигнала в Зеемановской ААС с ЭТА для характеристики чувствительности обычно используется величина характеристической массы, m_0 . С учетом того, что

$$S = \frac{0.0044}{m_0/V} \quad (51)$$

где V - объем дозируемой пробы, выражение (50) можно представить в виде:

$$C_L = \frac{3 \cdot m_0 \cdot SD(Q_A)}{V \cdot 0.0044} \quad (52)$$

Таким образом, величина предела обнаружения определяется объемом дозируемого раствора, чувствительностью и погрешностью измерения сигнала интегральной абсорбции.

5.4.1. Влияние объема дозировки

Наиболее распространённый способ снижения предела обнаружения состоит в увеличении объёма дозируемого раствора. Однако при этом для объектов с высоким содержанием матрицы возможно значительное снижение открываемости, а также увеличение неселективного поглощения, что приводит к ухудшению условий фотометрирования (см. Рисунки 47 и 48).

Таблица 26. Влияние объема дозировки на предел обнаружения для Cd. Условия измерения соответствуют стандартным рекомендациям производителя спектрометра [49]: стандартная печь, ток ЛПК 4 мА, спектральная щель 0.7 нм, энергия $E=55$, время зануления $t_{\text{бос}} = 2$ с и время интегрирования $t_{\text{int}} = 3$ с.

Объем дозировки, мкл	A_{bg}^{max} , Б	Q_{bg} , Б·с	m_0 , пг	Открываемость, %	ПО			
					Расчет	Эксперимент		
					мБ·с	мБ·с	пг	мкг/л*
5	0.08	0.10	1.4	100	2.7	2.6	0.8	1.1
10	0.20	0.22	1.8	79	2.8	3.1	1.3	0.8
20	0.25	0.30	2.3	61	2.9	3.2	1.7	0.6
30	0.50	0.45	2.5	58	3.2	3.6	2.0	0.5
40	0.70	0.80	2.7	53	3.6	6.4	3.9	0.6

* Для цельной крови.

В Таблице 26 представлены результаты теоретического (45) и экспериментального исследования зависимости предела обнаружения от объема дозируемой крови при определении Cd. Увеличение объема дозировки пробы в четыре раза (с 5 до 20 мкл) концентрационный предел обнаружения снижается

только в два раза, что объясняется почти двукратным уменьшением открываемости при практически неизменном пределе обнаружения по сигналу. В процессе дальнейшего увеличения объема дозируемого раствора открываемость уменьшается незначительно, но увеличение неселективного поглощения, а следовательно, и фотометрической погрешности измерения не позволяет снизить концентрационный предел обнаружения.

Представленные данные показывают, что при объемах раствора до 30 мкл использование уравнения (45) позволяет учесть влияние неселективной составляющей на погрешность измерений, несмотря на сложную форму сигнала неселективного поглощения (Рисунок 52).

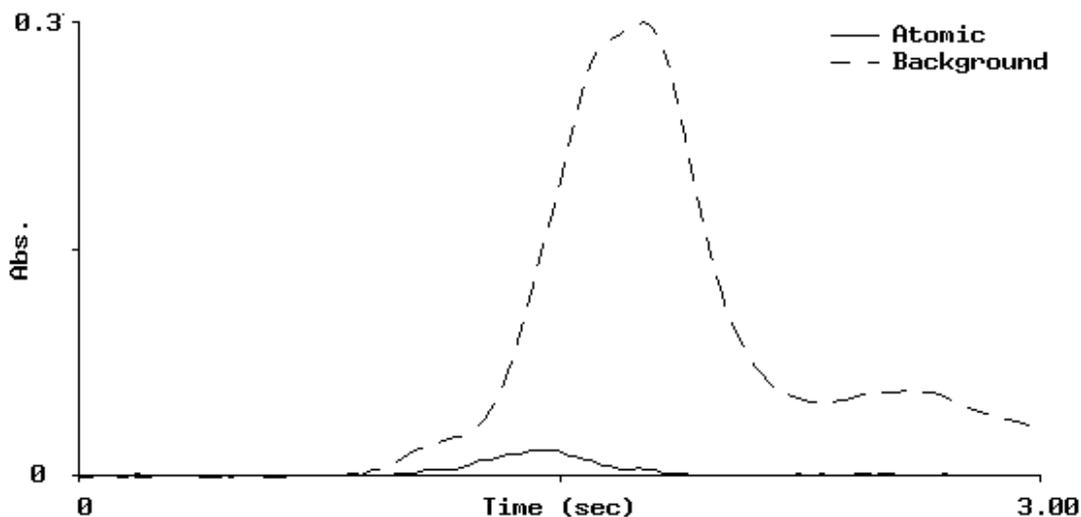


Рисунок 52. Сигналы атомного и неселективного поглощения при определении Cd в крови (стандартные условия, объем дозировки 20 мкл).

Расхождение между экспериментом и расчётом не превышает 15 %. Начиная с объема крови 40 мкл, который соответствует 1 мг сухого остатка в печи после высушивания, наблюдается почти двукратное различие между экспериментально определенным и расчетным значением пределов обнаружения по сигналу. Это

явление, скорее всего, связано с дополнительными матричными эффектами [54], влияние которых на погрешность измерения не учитывается в расчетах.

Таким образом, при анализе объектов с высоким содержанием матрицы увеличение объема дозируемого раствора не позволяет существенно снизить предел обнаружения. Для дальнейшей оптимизации экспериментальных параметров был выбран объем крови 20 мкл.

5.4.2. Увеличение чувствительности

На чувствительность измерения в основном оказывают влияние типы используемого атомизатора и источника света. Так, для спектрометра Perkin-Elmer 4100ZL использование графитовой печи с диафрагмами (end-capped tube) позволяет повысить чувствительность определения в 1.3-1.8 раза, а также снизить влияние матрицы за счет уменьшения эффекта конденсации матрицы и со-конденсации analyта по сравнению со стандартной графитовой печью [16]. Представленные в Таблице 27 результаты показывают, что при определении кадмия в крови использование графитовой печи с диафрагмами позволяет повысить чувствительность в 1.4 раза по сравнению со стандартной печью. При этом, что очень важно, не происходит увеличения сигнала неселективного поглощения и снижения открываемости (снижения чувствительности).

При определении Cd использование высокочастотной лампы типа EDL с более чистым по сравнению с полым катодом спектром, а следовательно, и с меньшей долей не абсорбируемого излучения, позволяет повысить чувствительность определения [30] (Рисунок 23, Таблица 7).

В дальнейшем для снижения величины предела обнаружения при определении Cd в крови использовались графитовая печь с диафрагмами и высокочастотная лампа EDL.

Таблица 27. Оптимизация условий определения Cd (объем дозировки 20 мкл)

Условия	Печь	Лампа	Ток мА	Щель, мм	E	$t_{\text{вос}}$ сек.	t_{int} сек.	m_0 пг	Предел обнаружения			
									Расчет (45) мБ·с	Эксперимент		
										мБ·с	пг	мкг/л*
Стандартные	Стандартная	ЛПК	4	0.7	55	2	5	2.3	4.0	4.0	2.1	0.68
					55	2	3	2.3	2.9	3.2	1.7	0.56
					55	5	3	2.3	2.1	2.1	1.1	0.36
					54	5	2	2.3	1.7	1.8	0.9	0.29
Оптимизированные	С диафрагмами	ЛПК	4	0.2	45	5	2	1.7	3.6	3.9	1.5	0.49
				0.7	54	5	2	1.7	1.7	2.3	0.9	0.29
				2.0	62	5	2	1.8	0.9	1.0	0.4	0.13
	EDL		230	0.2	61	5	2	1.2	1.0	1.2	0.3	0.10
			230	2.0	73	5	2	1.3	0.4	0.9	0.3	0.08

* Для цельной крови

5.4.3. Условия измерения

Выше было показано, что величина предела обнаружения по сигналу в основном зависит от трёх параметров: энергии (E), времени зануления и времени интегрирования.

Параметр E для спектрометра PE-4100ZL определяется в соответствии с формулой:

$$E = \frac{1000 - V_{\text{ФЭУ}}}{10} \quad (53)$$

где $V_{\text{ФЭУ}}$ - напряжение на фотоумножителе, которое зависит от количества света, попадающего на детектор.

Увеличение параметра энергии E может быть достигнуто увеличением ширины щели монохроматора и увеличением интенсивности излучения источника света. При определении Cd раскрытие щели до 2 нм позволяет значительно увеличить энергию (Таблица 27) без заметного снижения чувствительности. Использование высокочастотной лампы EDL с более высокой интенсивностью излучения по сравнению с ЛПК позволяет увеличить энергию. Увеличение тока ЛПК для этой цели является нежелательным, так как при этом может наблюдаться снижение чувствительности измерения из-за самопоглощения аналитической линии.

Зависимость предела обнаружения от времён зануления и интегрирования определяется в соответствии с формулой (45). Представленные в Таблице 27 данные показывают, что оптимизация условий фотометрирования, а именно увеличение времени зануления с 2 до 5 секунд и уменьшение времени интегрирования с 3 до 2 секунд позволяет в полтора раза снизить величину предела обнаружения. Выбор времени интегрирования (2 секунды) обусловлен невозпроизводимостью положения импульса абсорбции по шкале времени при последовательных измерениях, при том, что сама продолжительность импульса не превышает 1 секунды.

На Рисунке 53 представлены импульсы абсорбции при определении 3 пг Cd в крови при различных инструментальных параметрах: в стандартных условиях определения Cd, рекомендованных [49] в качестве исходных при оптимизации условий определения (Таблица 27, Стандартные) и оптимизированных нами условиях определения Cd в крови (Таблица 27, Оптимизированные). Как видно из таблицы, оптимизация инструментальных параметров позволяет снизить концентрационный ПО при определении Cd в крови в 7 раз (с 0.56 до 0.08 мкг/л).

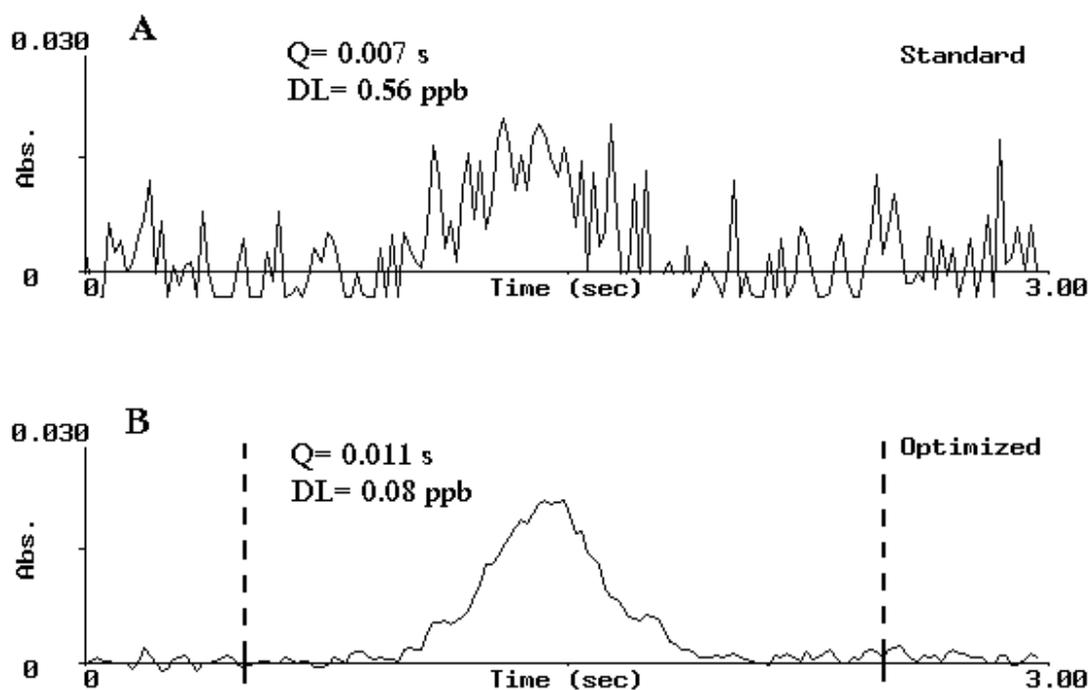


Рисунок 53. Аналитические сигналы при определении 3 пг Cd в крови в различных условиях:

А – Стандартные условия (до оптимизации): стандартная графитовая печь, ЛПК, ток – 4 мА, щель 0.7 нм, Энергия – 55, время зануления $t_{\text{noc}} = 2 \text{ с}$, время интегрирования $t_{\text{int}} = 5 \text{ с}$.

В – Оптимизированные условия: графитовая печь с диафрагмами, высокочастотная лампа EDL System 2, ток – 230 мА, щель 2.0 нм, Энергия – 73, время зануления $t_{\text{noc}} = 5 \text{ с}$, время интегрирования $t_{\text{int}} = 2 \text{ с}$.

Для всех этапов оптимизации условий измерения наблюдается хорошее согласие между рассчитанными по формуле (45) и экспериментально измеренными пределами обнаружения по сигналу. Только при величине энергии 73 единицы появляется значительное расхождение между расчетом и экспериментом. Это связано с тем, что при больших энергиях ($E > 70$) вклад дробовых шумов становится меньше вкладов других факторов, определяющих фотометрическую погрешность и не учитываемых при расчетах.

Возможность теоретического учета погрешности измерений, подтвержденная результатами исследований, позволяет существенно сократить время, необходимое для выбора оптимальных условий измерения малых содержаний аналита. С учетом уравнений (45) и (48) для определения абсолютных пределов обнаружения, m_{DL} , удобно использовать следующее выражение:

$$m_{DL} = 0.076 \cdot 10^{-E/29} \cdot \frac{m}{Q_A} t_{int} \sqrt{\frac{10 \tilde{A}_{bg}}{t_{int}} + \frac{1}{t_{voc}}} . \quad (54)$$

Для этого требуется единственное измерение сигнала интегральной абсорбции, Q_A , для малой массы аналита, m . Данное измерение используется для оптимизации окна интегрирования, t_{int} , и оценки величины \tilde{A}_{bg} по формуле (44).

С помощью уравнения (54) был произведен расчет величины пределов обнаружения при определении Т1 в водных растворах и в матрицах по данным, опубликованным в работе Барнетта [10]. При расчетах было учтено, что в работе Барнетта [10] частота измерений составляла 60 Гц, а предел обнаружения определялся по 2σ -критерию. Вместо отношения m/Q_A использовалось отношение $m_0/0.0044$. Результаты сопоставления расчетных и экспериментальных данных представлены в Таблице 28. Несмотря на различие в моделях спектрофотометров, использованных Барнеттом и в данной работе, наблюдается неплохое согласие между экспериментом и расчетом. Расхождение между расчетными и экспериментально измеренными величинами не превышает 20% (исключение составляют данные для времени интегрирования 10 секунд), что свидетельствует о возможности использования уравнения (50) для оценки предела обнаружения (DL) без предварительного экспериментального определения коэффициентов a и b в уравнении (35).

Таблица 28. Сравнение экспериментально измеренных [10] пределов обнаружения при определении Г1 и их теоретической оценки с использованием уравнения (54). Параметр $E = 54$, величины Q_{bg} , A_{bg}^{max} и \tilde{A}_{bg} не использовались в расчетах для водных растворов ввиду их малых значений.

Матрица	t_{voc} , с	t_{int} , с	Q_{bg} , Б·с	A_{bg}^{max} , Б	\tilde{A}_{bg} , Б	m_o , пг	$DL(2\sigma)$, пг	
							Измерение	Расчет
H ₂ O	1	4	-	-	-	16	7.8	10.7
	2	4	-	-	-	16	6.4	8.3
	4	4	-	-	-	16	5.4	6.8
	4	3	-	-	-	16	4.4	5.5
	4	10	-	-	-	16	10.3	14.2
NaH ₂ PO ₄	1	6	3.9	1.3	0.98	21	28.0	30.3
	2	6	3.9	1.3	0.89	21	27.0	27.2
	4	6	3.9	1.3	0.89	21	25.0	25.5
MgSO ₄	4	4	2.2	0.9	0.72	22	20.0	16.2
	4	10	4.3	0.9	0.67	21	32.0	27.3

5.5. Выводы к главе 5

В результате теоретического и экспериментального исследования фотометрической погрешности измерения малых сигналов был разработан простой метод, позволяющий с помощью полуэмпирического выражения оценивать величину предела обнаружения с погрешностью $< 20\%$. Метод основан на учете условий измерения: интенсивности светового потока (параметр "Энергия"), времени зануления, времени интегрирования и величины неселективного поглощения. Использование данного метода позволяет сократить время и упростить процедуру оптимизации условий измерения с целью снижения пределов обнаружения.

Некоторым ограничением предлагаемого метода является тот факт, что на величину погрешности измерения могут оказывать влияние и другие факторы, которые не учитываются при расчете, например, шумы связанные с радиацией от стенок нагретой печи. В этом случае можно ожидать более чем двадцатипроцентное расхождение между теоретически рассчитанными и экспериментально определенными величинами пределами обнаружения.

Заключение

1. Проведена теоретическая и экспериментальная оценка влияния различных факторов на кривизну градуировочных графиков в Зеемановской ААС с ЭТА. Показано, что основным фактором, влияющим на степень кривизны градуировочных зависимостей, является наличие в спектре источника света не абсорбируемого излучения. Во всех случаях снижения доли не абсорбируемого излучения (уменьшение спектральной ширины щели, снижение тока, использование иного источника излучения с более "чистым" спектром) приводит к снижению степени кривизны градуировочного графика и увеличению уровня обращения (A_T). Величина уровня обращения для конкретной лампы постоянна в течение длительного времени и зависит только от величины тока и используемой ширины щели. Величина уровня обращения не зависит от конфигурации и состояния используемой графитовой печи.
2. Предложен алгоритм линеаризации калибровочных кривых во всей области изменения абсорбционного сигнала вплоть до уровня обращения с погрешностью, не превышающей случайный разброс результатов. Разработанный алгоритм применим для любых элементов при различных условиях измерения (токах через источник света и ширинах щели), в том числе и в тех случаях, когда кривизна калибровки частично вызвана зависящими от массы химическими эффектами. С помощью предложенного алгоритма была успешно проведена линеаризация градуировочных графиков для 21 элементов. Показана работоспособность предложенного алгоритма линеаризации при изменении формы аналитического сигнала в присутствии матрицы.

3. В результате теоретического и экспериментального исследования фотометрической погрешности измерения малых сигналов развит простой метод, позволяющий с помощью полуэмпирического выражения оценить величину предела обнаружения с погрешностью менее 30%. Метод основан на учете условий измерения: интенсивности светового потока, времени зануления, времени интегрирования и величины неселективного поглощения. Использование данного метода позволяет сократить время и упростить процедуру оптимизации условий измерения с целью снижения пределов обнаружения.

Список литературы

1. Жигулева Е., Мокшина С., Пучкова Л., Гайцхоки В. Некоторые свойства фетального церулоплазмينا человека// Бюлл. Эксп. Биол. и мед. 1999, т. 128 (10), с. 453-459.
2. Куба И., Кучера Л., Пазак Ф., Мраз Ф., Таблицы совпадений по атомной спектроскопии, Издательство чехословацкой академии наук, Прага, 1964.
3. Львов Б. В., Атомно-абсорбционный спектральный анализ. -М.: Наука, 1966.
4. Львов Б. В., Николаев В. Г., Измерение параметра Фойхта для аналитических линий некоторых элементов методом электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии// Журнал прикладной спектроскопии, 1988, т. 49 с. 382 - 388.
5. Львов Б. В., Рябчук Г. Н., Исследование молекулярных спектров поглощения при электротермической атомизации алюминия в графитовой печи// Ж. прикл. спектроск. 1980, т. 33. н. 6, с. 1013 - 1018.
6. Платонова Н. А., Гюлиханданова Н. Е., Жигулева Е. А., Живулько Т. В., Воронина О. В., Евсюкова И. И., Цымбаленко Н. В., Пучкова Л. В. Роль церулоплазмينا молока как физиологического источника пищевой меди в раннем онтогенезе млекопитающих // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова, 2005; 91 (6). с. 66-77.
7. Платонова Н. А., Барабанова С. В., Повалихин Р. Г., Цымбаленко Н. В., Даниловский М. А., Воронина О. В., Дорохова И. И., Пучкова Л. В.. In vivo экспрессия медь-транспортных белков в отделах мозга крыс // Извес. РАН. Сер. биол., 2005, №2, с. 108 – 120.

8. Пучкова Л. В., Жигулева Э. А., Мокшина С. В., Сасина Л. К., Цымбаленко Н. В., Платонова Н. А., Гюлихандова Н. Е., Свиридова Т. А., Мищенко Б. С., Гайцхоки В. С.. Влияние искусственного вскармливания на распределение меди в организме 8-дневных крысят // Вопросы питания, 2000, т. 69 (1-2) с. 15-23.
9. Стриганов А. Р., Свентицкий Н. С., Таблицы спектральных линий нейтральных и ионизованных атомов. -М, Атомиздат, 1966.
10. Barnet, W. B., Bohler, W., Carnrick, G. R. and Slavin W., Signal processing and detection limits for graphite furnace atomic absorption with Zeeman background correction// Spectrochim. Acta, Part B, 1985, v. 40, p. 1689 – 1703.
11. Bauerly K. A., Kelleher Sh. L. and Lonnerdal B., Effects of copper supplementation on copper absorption, tissue distribution, and copper transporter expression in an infant rat model // Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2005, v. 288 p. G1007–G1014.
12. de Loos-Vollebregt M. T. C. and de Galan L., Stray light in Zeeman and pulsed hollow cathode lamp atomic-absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1986, v. 41, p. 597 - 600.
13. de Loos-Vollebregt M. T. C. and de Galan L., The shape of analytical curves in Zeeman AAS. II, Theoretical analysis and experimental evidence for absorption maximum in the analytical curve// Appl. Spectrosc., 1980, v. 34, p. 464-472.
14. de Loos-Vollebregt M. T. C. and de Galan L., Zeeman atomic absorption spectrometry// Prog. Anal. At. Spectrosc., 1985, v. 8, p. 47 - 81.
15. Epstein, M. S., and Wineforder, J. D., Summary of the usefulness of signal-to-noise treatment in analytical spectrometry Prog. analyt. atom. Spectrosc., 1984, 7, 67-137.

16. Frech W. and L'vov B. V., Matrix vapors and physical interference effects in graphite furnace atomic absorption spectrometry—II. Side-heated tubes// *Spectrochim. Acta, Part B*, 1993, v. 48, p. 1371 - 1379.
17. Gilmutdinov A. Kh., Abdullina T. M., Gorbachev S. F. and Makarov V. L., Concentration curves in atomic absorption spectrometry// *Spectrochim. Acta Part B*, 1992, v. 47, p. 1075 - 1095.
18. Gilmutdinov A. Kh., Radziuk B., Sperling M., Welz B. and Nagulin Yu., Spatial distribution of radiant intensity from primary sources for atomic absorption spectrometry. Part 1: Hollow cathode lamps// *Appl. Spectrosc.*, 1995, v. 49, p. 413 - 424.
19. Gilmutdinov A. Kh., Zakharov Yu. A., Ivanov V. P., and Voloshin A. V., Shadow Spectral Filming: A Method of Investigating Electrothermal Atomization. Part 1. Dynamics of Formation and Structure of the Absorption Layer of Thallium, Indium, Gallium and Aluminum Atoms// *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 1991, v. 6, p.505 - 519.
20. Gybina A.A., Prohaska J.R. Increased rat brain cytochrome c correlates with degree of perinatal copper deficiency rather than apoptosis // *J. Nutr.* 2003. 133, v. 12, p. 3361–3368.
21. Holcombe J. A., Rayson G. D. and Akerlind N., Time and spatial absorbance profiles within a graphite furnace atomizer// *Spectrochim. Acta Part B*, 1982, v. 37, p 319 – 330.
22. IUPAC Commission on Spectrochemical and Other Optical Procedures for Analysis: Nomenclature, Symbols, Units, and Their Usage in Spectrochemical Analysis-II// *Spectrochim. Acta, Part B*, 1978, p. 242 - 250.
23. L'vov B. V. and Ryabchuk G. N., A new approach to the problem of atomization in electrothermal atomic absorption spectrometry// *Spectrochim. Acta Part B*, 1982, v. 37, p. 673 – 684.

24. L'vov B. V., Polzik L. K. and Kocharova N. V., Theoretical analysis of calibration curves for graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1992, v. 47, p. 889 - 895.
25. L'vov B. V., Polzik L. K., Borodin A. V., Dyakov A. O. and Novichikhin A. V., Detection Limits in Zeeman-effect Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry// J. Anal. At. Spectrom, 1995, v. 10, p. 703 - 709.
26. L'vov B. V., Polzik L. K., Borodin A. V., Fedorov P. N. and Novichikhin A. V., Precision and detection limits in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1994, v. 49, p. 1609 - 1627.
27. L'vov B. V., Polzik L. K., Fedorov P. N., and Slavin W., Extension of the dynamic range in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1992, v. 47, p. 1411 - 1420.
28. L'vov B. V., Polzik L. K., Fedorov P. N., Novichikhin A. V. and Borodin A. V., Correction of characteristic mass in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1995, v. 50, pp. 1621 - 1636.
29. L'vov B. V., Polzik L. K., Kocharova N. V., Nemets Yu. A. and Novichikhin A. V., Linearization of calibration curves in Zeeman atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1992, v. 47, p. 1187 - 1202.
30. L'vov B. V., Polzik L. K., Novichikhin A. V., Borodin A. V. and Dyakov A. O., Effectiveness of linearization of calibration curves in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1996, v. 50 p. 1757-1768.
31. L'vov B. V., Polzik L. K., Novichikhin A. V., Borodin A. V. and Dyakov A. O., Improved algorithm for linearization of calibration graphs in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1996, v. 51 p. 609-618.

32. L'vov B. V., Polzik L. K., Novichikhin A. V., Fedorov P. N. and Borodin A. V., Automatic correction of absorption pulse in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// *Spectrochim. Acta Part B*, 1993, v. 47, p. 1625-1632.
33. L'vov B. V., Recent advances in absolute analysis by graphite furnace atomic absorption spectrometry// *Spectrochim. Acta Part B*, 1990, v. 45, p. 633 - 655.
34. Larkins P. L., Atomic line profile measurements on hollow-cathode and electrodeless discharge lamps using a high-resolution echelle monochromator// *Spectrochim. Acta Part B*, 1985, v. 40, p. 1585 - 1598.
35. Larkins P. L., The effect of spectral line broadening on shape of analytical curves obtained using pulsed hollow-cathode lamps for background correction// *Spectrochim. Acta Part B*, 1988, v. 40, p. 1175-1186.
36. Mitchell A. C. G. and Zemansky M. W., *Resonance Radiation and Excited Atoms*, Cambridge, 1934.
37. Piso S. and de Boer J. L. M., A priori calculation of instrumental detection limits in graphite furnace atomic absorption spectrometry *At. Spectrosc.*, 1994, 5, pp. 220-222.
38. Platonova N., Guolikhandanova N., Tsymbalenko N., Zhiguleva E., Zhivulko T., Vasin A., Evsukova I. Puchkova L. Milk ceruloplasmin is a valuable source of nutrient copper ions for mammalian newborns // *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2007, v. 21, p. 184-193.
39. Platonova N., Zhiguleva E., Tsymbalenko N., Mishchenko B., Vasin A., Zhivul'ko T., Puchkova L. Age-related features of ceruloplasmin biosynthesis and distribution in rats // *Ontogenez*, 2004 v. 35 (3), p. 171-182.
40. Polzik L. K., Novichikhin A. V., Borodin A. V., Dyakov A. O., Computer processing of absorption signal for Zeeman ET-AAS// *Modern aspects of analytical chemistry*, 5. Analytical Russian-German-Ukrainian Symposium, 16.-21.3.1997, p. 52 - 60.

41. Polzik L. K., Novichikhin A. V., Borodin A. V., Dyakov A. O., Stabilization of characteristic mass in Zeeman electrothermal atomic absorption spectrometry// Modern aspects of analytical chemistry, IV Analytical Russian-German-Ukrainian Symposium, 25.02-03.03.1996, p. 235 - 243.
42. Puchkova L., Zhiguleva E., Mokshina S., Bichevaia N., Platonova N., Skvortsova N., Sasina L., Tsymbalenko N., Chebotar' N., Gaitshoki V. The role of the yolk sac in copper metabolism during rat embryogenesis// *Ontogenez*, 2001, v. 32 (3), p. 204-211.
43. Saito T., Itoh T., Fujimura M., Saito K. Age-dependent and region-specific differences in the distribution of trace elements in 7 brain regions of Long-Evans Cinnamon (LEC) rats with hereditary abnormal copper metabolism // *Brain Res.* 1995, v. 695, p. 240-244.
44. Samsonov S., Platonova N., Skvortsov A., Tsymbalenko N., Vasin V., Puchkova L. Relationships between CTR1 Activity and Copper Status in Different Rat Organs // *Mol. Biol. (Moscow)* 2006; v. 40 (2), p. 239–251.
45. Savitzky A. and Golay M. J., Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures// *Anal. Chem.* 1964, v. 36, p. 1627 - 1639.
46. Smith Jr and G. M. Hieftje, A new Background-correction Method for Atomic Absorption Spectrometry// *Appl. Spectrosc.*, 1983, v. 37, p. 419 - 425.
47. Su E. G., Yuzefovsky A. I., Michel R. G., McCaffrey J. T. and Slavin W., Effect of stray light on characteristic mass in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// *Microchemical Journal*, 1993, v. 48, p. 278-302.
48. Su E. G., Yuzefovsky A. I., Michel R. G., McCaffrey J. T. and Slavin W., Linearization of calibration curves of manganese, copper, silver, thallium and chromium in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// *Spectrochim. Acta Part B*, 1994, v. 49, p. 367 - 385.

49. The THGA Graphite Furnace Techniques and Recommended Conditions, Part Number B050-5538. BSW Perkin-Elmer, Germany, 1991.
50. Wagenaar H. C. and de Galan L., The influence of line profiles upon analytical curves for copper and silver in atomic absorption spectroscopy// Spectrochim. Acta Part B, 1975, v. 30, p. 361 - 381.
51. Wagenaar H. C., Novotny I. and de Galan L., The influence of hollow cathode line profiles upon analytical curves in atomic absorption spectroscopy// Spectrochim. Acta Part B, 1974, v. 29, p. 301-317.
52. Walsh A., The application of atomic absorption spectra to chemical analysis// Spectrochim. Acta, 1955, v. 7, p. 108-117.
53. Welz B., Becker-Ross. H. Florek, S. and Heitmann U., High-Resolution Continuum Source AAS, Wiley-VCH, 2005, 295 p.
54. Welz B., Schlemmer G., and Mudakavi J. R., Palladium nitrate-magnesium nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5. Performance for determination of 21 elements// J. Anal. At. Spectrom., 1992, v. 7, p. 1257 - 1271.
55. Winefordner J. D., Petrucci G. A., Stevenson C. L., Smith B. W., Theoretical and practical limits in atomic spectroscopy// J. Anal. At. Spectrom., 1994, v. 9, p. 131 - 143.
56. Yuzefovsky A. I., Su E. G., Michel R. G., Slavin W. and McCaffrey J. T., Newton approximation method for linearization of calibration curves in Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry// Spectrochim. Acta Part B, 1994, v. 49, p. 1643 – 1656.
57. Zatulovskaia Yu. A., Puchkova L. V., Comparison of copper metabolism in the liver and adrenal glands of rats during development // Trace Elements in Medicine and Biology, в печати.