

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2015

Radek Brabec

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta
Katedra fyziky

Atomová spektrometrie, biomonitoring toxických kovů, přístrojová technika

Bakalářská práce

Autor: Radek Brabec
Studijní program: B1701 Fyzika
Vedoucí práce: Ing. Lidmila Hyšplerová, CSc.
Odborní konzultanti: Ing. Stanislav Eminger, CSc.
dr. Małgorzata Rajfur
Ing. Ivo Šrámek
Oponent: Prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Hradec Králové

2015

Zadání bakalářské práce

Autor: Radek Brabec
Studijní program: B1701 Fyzika
Studijní obor: Fyzikálně-technická měření a výpočetní technika

Název závěrečné práce: **Atomová spektrometrie, biomonitoring toxických kovů, přístrojová technika**
Název závěrečné práce: Atomic spectrometry , biomonitoring of toxic metals,
AJ: instrumentation

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

V teoretické části práce bude uveden přehled historie atomové spektrometrie. Bude obsahovat informace o úloze atomové spektrometrie v biomonitoringu toxických kovů. Budou popsány principy přístrojové techniky pro atomovou absorpční a atomovou emisní spektrometrii. V experimentální části práce budou zpracovány materiály pro praktické cvičení studentů. Budou vypracovány a ověřeny návody pro stanovení toxických kovových prvků v bioindikátorech metodami 1. Atomové absorpční spektrometrie s plamenovou ionizací 2. Atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací 3. Atomovou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem.

Literatura:

1. Klos A., Rajfur M., Waclawek M., Šrámek I., Trnková L., Hyšplerová L.: *Využití lišejníků, mechů a půdy pro hodnocení znečištění oblastí Euroregionů Praděd a Glacensis. Ecol. Chem. Eng. Monograph POWT RCz-RP, Opole 2010, p. 75-98. ISBN 978-83-917511-6-9.*
2. Černohorský, T., Jandera, P.: *Atomová spektroskopie. 1. vyd. Univerzita Pardubice, 1997. 218 s. ISBN 80-7194-114-X.*
3. Sommer, L., et al.: *Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plazmatech. 1. vyd., Československá akademie věd, Praha 1992. 152 s.*

Garantující pracoviště: Katedra fyziky, Přírodovědecká fakulta
Vedoucí práce: Ing. Lidmila Hyšplerová, CSc.
Oponent: prof. Ing. Karel Kolář, CSc.

Datum zadání závěrečné práce: 2. 6. 2014

Datum odevzdání závěrečné práce: 29. 1. 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval pod vedením vedoucí práce samostatně a uvedl jsem všechny použité prameny a literaturu.

V Hradci Králové dne ...

Radek Brabec

Poděkování:

Děkuji paní ing. L. Hyšplerové, CSc. za vedení mé diplomové práce a paní dr. M. Rajfur za cenné rady při mém pobytu na Přírodovědno-technické fakultě Univerzity Opole. Panu Ing. S. Emingerovi, CSc. z EMPLA AG a.s. a panu Ing. I. Šrámkovi ze Zdravotního ústavu v Hradci Králové děkuji za to, že se mi věnovali v průběhu mých odborných stáží.

Anotace

BRABEC, Radek. Atomová spektrometrie, biomonitoring toxických kovů, přístrojová technika. Hradec Králové: Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové, 2014. Bakalářská práce, 41 s.

V teoretické části práce je uveden přehled historie atomové spektrometrie a její úloze v biomonitoringu toxických kovů. Jsou zde popsány principy přístrojové techniky pro atomovou absorpční a atomovou emisní spektrometrii. V experimentální části práce jsou uvedeny pracovní návody pro praktické seznámení studentů bakalářského studijního oboru Fyzikální měření a výpočetní technika s atomovými absorpčními spektrometry s plamenovou ionizací, s elektrotermickou atomizací, s analyzátory rtuti a s atomovými emisními spektrometry s indukčně vázaným plazmatem. Návody byly ověřeny na stanovení zinku, kadmia, chromu, olova a rtuti v archivovaných vzorcích bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, z let 2011-13 z okolí pěti referenčních bodů dlouhodobě sledované česko-polské přeshraniční oblasti.

Klíčová slova: Atomová absorpční a emisní spektrometrie, bioindikátory, toxické kovy

Annotation:

BRABEC, Radek: Atomic spectrometry , biomonitoring of toxic metals, instrumentation.
Hradec Králové : Faculty of Science, University of Hradec Králové, 2014. Bachelor Degree Thesis. 41 s.

There is a summary of atomic spectrometry history and its role in the biomonitoring of toxic metals stated in the theoretical part of the bachelor degree thesis. Here are described the principles of instrumentation for atomic absorption and atomic emission spectrometry. There are work instructions for practical familiarization for students of bachelor branch of study Physical measuring and computer technology with atomic absorption spectrometry with flame ionization, with electrothermic atomization, with mercury analysers and with atomic emission spectrometres with inductively fixed plasma stated in the experimental part of the thesis.

The instructions were verified at determination of zinc, cadmium, chromium, lead and mercury in archival samples of bioindicators, mushrooms *Boletus badius*, from 2011 – 2013 from the area of five referential points in the long-term monitoring Czech–Polish border area.

Key words: Atomic absorption and emission spectrometry , bioindicators , toxic metals

OBSAH:

1. Úvod	9
2. Teoretická část	10
2.1 Biomonitoring.....	10
2.2 Odběry vzorků bioindikátorů.....	12
2.3 Atomová spektrometrie, historický vývoj	13
2.3.1 Plamenová AAS (FA AAS – Flame atomization AAS)	19
2.3.2 AAS s elektrotermickou atomizací (GF AAS)	20
2.3.3 Rtuťový analyzátor AMA	21
2.3.4 Optická emisní spektroskopie (ICP OES)	22
2.3.5 Validace metod atomové spektrometrie	29
3. Praktická část	33
3.1 Pracovní metodika FA AAS	33
3.2 Pracovní metodika GF AAS	34
3.3. Pracovní metodika AMA 254.....	35
3.4 Pracovní metodika ICP OES Integra XL2, GBC	36
3.5. Výsledky	37
4. Diskuse a závěry	39
4. Použitá literatura	40

1. Úvod

Úkolem předkládané bakalářské práce bylo seznámení s historií atomové spektrometrie a její úlohou v biomonitoringu toxických kovů.

V teoretické části práce je proto uveden přehled o biomonitoringu toxických kovů se zaměřením na jeden z jejich bioindikátorů, na hřibovité houby *Boletus badius*.

Jsou zde uvedeny principy přístrojové techniky atomové absorpční spektrometrie, tj. atomového absorpčního spektrometru s plamenovou ionizací (*FA AAS*), atomového absorpčního spektrometru s elektrotermickou atomizací v grafitové píce (*GF AAS*), s atomovým absorpčním rtuťovým systémem (*Hg AAS*) a s atomovým emisním spektrometrem s indukčně vázaným plazmatem (*ICP OES*).

Cílem práce měly být inovace praktického cvičení k předmětu Fyzikální biomonitring, část Atomová spektrometrie.

V experimentální části práce jsou proto uvedeny, ve spolupráci s fy EMPLA AG a.s. a Zdravotním ústavem-zkušebními laboratořemi v Hradci Králové, vypracované návody pro praktické seznámení studentů bakalářského studijního oboru Fyzikální měření a výpočetní technika s atomovými absorpčními spektrometry s plamenovou ionizací, s elektrotermickou atomizací, s analyzátory rtuti a s atomovými emisními spektrometry s indukčně vázaným plazmatem.

Návody měly být ověřeny na stanovení zinku, kadmia, chromu, olova a rtuti v archivovaných vzorcích bioindikátorů - hřibovitých hub *Boletus badius*, z let 2011-13, z okolí pěti referenčních bodů dlouhodobě sledované česko-polské přeshraniční oblasti - Božanovský Špičák, Vrchmezí, Velká Deštná, Adam a Suchý vrch.

Pracovní návody měly být koncipovány jednoduše a srozumitelně tak, aby byly (po překladu) využitelné také pro společná výměnná laboratorní cvičení českých a polských studentů z Přírodovědno-technické fakulty Univerzity Opole PL.

2. Teoretická část

2.1 Biomonitoring

Použití flóry a fauny pro hodnocení znečištění životního prostředí, tzv. biomonitoring, začal být populární teprve v průběhu druhé poloviny minulého století. Biomonitoring je prováděn jako tzv. biomonitoring pasivní, při kterém je prováděna analýza částí biot, které rostou ve svém přirozeném prostředí, a také jako biomonitoring aktivní, při kterém jsou rostliny rostoucí v oblastech s malým znečištěním transplantovány (metoda transplantace) společně se svým přirozeným podložím (např. kůra), příp. jsou umísťovány na přirozeném podloží v místě expozice. Jsou také využívány jako testové rostliny, kdy jsou umísťovány na syntetickém materiálu, díky čemuž je možné eliminovat sorpce analytů z podloží. Hlavní výhodou aktivního biomonitoringu je možnost kontrolovat čas expozice. Vadou jsou pak možné změny metabolismu exponovaných vzorků, vyvolané změnou klimatických činitelů nebo koncentrací toxinů v životním prostředí, což může ve svém důsledku vést k jejich odumírání a způsobit tak přerušení experimentu.

V evropských zemích jsou od roku 1990, s periodou 5 let, realizovány výzkumy, které se týkají těžkých kovů kumulovaných v určitých druzích mechů. Výzkumy jsou prováděny v rámci International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops. V roce 2005 se programu účastnilo 28 států, mezi nimi také Česká republika [1].

Biomonitoring, který byl realizován s použitím lišejníků, se týkal hlavně hodnocení kyselosti atmosférického aerosolu, hodnocení znečištění těžkými kovy a jinými stopovými prvky, a dále hodnocení znečištění přírodního prostředí radionuklidy. Série zkoumání, která byla realizována v mnoha evropských zemích, byla započata v roce 1970 po zveřejnění lišejníkové stupnice, která uváděla prahové obsahy oxidu siřičitého ve vzduchu, nad kterými dochází k zániku některých druhů lišejníků. Příkladem použití zjednodušené verze této stupnice byl program „Air Pollution Project Europe“ [2].

Hřibovité houby *Boletus badius* jsou v současné době využívány zejména k biomonitoringu aktivity radionuklidu Cs-137, který se dostal do půdy spadem po Černobylské havárii v r. 1986. Bylo zjištěno, že příčinou různé aktivity ¹³⁷Cs v půdě, měřené na území několika metrů čtverečních, ve stejných půdních podmínkách, může být i translokace tohoto radionuklidu vyvolaná druhem rostlin v lesích, kde jsou houby pravděpodobně nejdůležitějším biologickým faktorem.

Dalším poznatkem je, že v plodnicích hub *Boletus badius*, v přepočtu na suchou hmotu, koncentrace Cs-137 je několikanásobně větší než v půdě.

Dolhanczuk, Ziembik Waclawek a Hyšplerová v roce 2007 naměřili v nejvíce kontaminovaných regionech Evropy aktivitu v plodnici houby *Boletus badius* cca 10 kBq/kg čerstvé masy. V místech rozkladu plodnice se tato aktivita ve vrchních vrstvách půdy dokonce může zvětšovat o 20 až 90 % ve srovnání s půdou, ve které se nachází podhoubí [3].

Bylo zjištěno, že aktivity Cs-137 i koncentrace toxických kovů se v různých částech plodnic, zejména u hříbovitých hub, výrazně liší.

Pro vyjádření těchto rozdílů v různých částech plodnice se používá poměr aktivit radioaktivního cesia a koncentrace mikroprvků v kloboucích \underline{C} (*cap*) a třeních \underline{S} (*stalk*).

V posledních letech se začínají využívat tzv. biokoncentrační faktory pro klobouky BCF_c (*Bioconcentration factors of the cup*) a tzv. biokoncentrační faktory pro třeně BCF_s (*Bioconcentration factors of the stalk*).

Získané výsledky měření plošné aktivity radioaktivního cesia v lesní půdě a aktivity v sušině vzorků hub *Boletus badius* potvrzují, že tyto hodnoty již nepřekračují průměrné hodnoty aktivit ^{137}Cs z oblastí prokazatelně nezasážených radioaktivním spadem po černobylské havárii. Výzkum koncentrace toxických kovů v houbách *Boletus badius*, umožňuje vyznačení pásem znečištění a směry jeho šíření [5].

Bylo zjištěno, že mechy, lišejníky a houby jsou také jedny z nejlepších bioindikátorů znečištění životního prostředí toxickými kovy *Cr, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg a Pb*.

Pro posouzení kontaminace bioindikátorů toxickými kovy jsou v některých publikacích používány tzv. ukazatele koncentračního poměru \underline{CR} (*Concentration ratios*).

$$CR = \frac{C_{bioty}}{C_{soil}} \frac{[mg/kg \text{ sušiny}]}{[mg/kg \text{ sušiny}]} \quad (1)$$

C_{bioty} koncentrace mikroprvku v bioindikátoru

C_{soil} koncentrace mikroprvku v půdě

K těmto výpočtům jsou využívány koncentrace a aktivity měřené pouze v organické vrstvě půdy, která je, z hlediska kontaminace jak radioaktivním cesiem, tak toxickými kovy, nejvýznamnější. V nižších půdních vrstvách je stabilní cesium pevně vázáno ke zde se

vyskytujícím minerálům a příjem prostřednictvím kořenů je oproti organickým horizontům značně omezen.

Byly definovány tzv. biokoncentrační faktory pro celé houby BCF (klobouk a první třetina třeně), BCF_C a BCF_S pro jednotlivé části těchto bioindikátorů.

$$BCF_C = \frac{M_C}{M_{SO}} \quad (2)$$

BCF_C (*Bioconcentration factors of the cup*) biokoncentrační faktor pro klobouky
 M_C (*the mean concentration of the metal in cap*) koncentrace stopových kovových prvků v kloboukách
 M_{SO} (*the mean concentration of the metal in the soil*) koncentrace kovových mikroprvků v půdě

$$BCF_{C,S} = \frac{M_{C,S}}{M_{SO}} \quad (3)$$

BCF_S (*Bioconcentration factors of the stalk*) biokoncentrační faktor pro třeně
 M_S (*the mean concentration of the metal in stalk*) koncentrace stopových prvků v třeni [9].

2.2 Odběry vzorků bioindikátorů

K určení polohy odebíraných vzorků bioindikátorů byl využíván ruční mapový přístroj fy Garmin s vestavěným barovýškoměrem a elektromagnetickým kompasem, vhodným pro terénní mapování GPSMAP 60CS [4].

Referenční body (RB) pro oblasti odběrů vzorků a jejich GPS zaměření byla vytyčena v rámci diplomové práce [20].

U hřibovitých hub *Boletus badius* určených pro biomonitoring je vhodné odebírat přibližně 1/3 nadzemní části třeně a celý klobouk.

Odebranou houbu je důležité očistit od veškerých nečistot. Odběry se provádějí 100 m od kraje lesa a 200m od staveb a cest přístupných pro auta. Vzdálenost od kmene stromu by měla být kolem 2 m.

Celková hmotnost odebraného vzorku má být asi 100 g. Dále jsou houby vysušeny při pokojové teplotě a následně zváženy. Pokud je vzorek před mineralizací potřeba nějakou dobu uchovat, děje se tak v uzavíratelných plastových nádobkách.

Číslo RB	Název	X	Y	Z	GPS N-šířka	GPS E - délka
3001	Velká Deštná	-600071	-1036653	1115	50°18'05"	16°23'52"
3002	Suchý vrch	-581919	-1066826	995	50°03'14"	16°41'14"
3005	Adam	-587648	-1059587	765	50°06'31"	16°37'23"
3007	Vrchmezí	-601984	-1030860	1084	50°21'01"	16°20'59"
3009	Božanovský Špičák	-603464	-1012629	773	50°31'03"	16°19'00"

Tab. č. 1. Referenční body pro biomonitoring na česko-polské přeshraniční oblasti

Před mineralizací je nutné vzorky zhomogenizovat v plastové třecí misce. Pracovní postup pro mineralizaci vzorků bioindikátorů je popsána v práci [7].

2.3 Atomová spektrometrie, historický vývoj

Atomová absorpční spektrometrie byla poprvé popsána již v roce 1802, kdy William H. Wollaston pozoroval sluneční spektrum, kde objevil tmavé čáry, které v roce 1815 podrobně studoval Joseph Fraunhofer.

Gustav Robert Kirchhoff a Robert Wilhelm Bunsen provedli pokus s kuchyňskou solí, kdy přes plamen svítiplyn-vzduch procházelo spojité záření zbarvené sodíkem. Po rozkladu prošlého záření hranolem se na místě sodíkové čáry objevila tmavá čára. Přitom zjistili, že Fraunhoferova tmavá čára D je totožná s čarou sodíku. To vedlo v r. 1859 k formulování Kirchhoffova zákona o vztahu mezi emisí a absorpcí světla.

G. R. Kirchhoff a R. W. Bunsen pak rozvinuli metodu spektrální analýzy. Touto metodou je možné určovat složení hvězd. V letech 1860-1861 objevili pomocí spektrální analýzy dva nové chemické prvky cesium a rubidium.

I přes znalosti těchto principů však trvalo poměrně dlouho, než byly využity v praxi. Z počátku byly tyto poznatky používány astronomy pro stanovení koncentrace kovů v atmosféře hvězd.

Až v roce 1939 E. A. Woodson využil rtuťové výbojky jako zdroje záření k analýze rtuti v ovzduší [9], [10].

Za objevitele AAS (*Atomic Absorption Spectrometry*) se považuje A. Walsh, který v roce 1954 na výstavě CSIRO v Melbourne vystavoval přístroj – atomový absorpční spektrometr. Jako zdroje záření použil výbojku s dutou katodou.

V Čechách se první přístroje začaly využívat v roce 1967. Od té doby byla vyvinuta řada variant těchto přístrojů pro různá použití [11], [12], [13].

Nejčastěji je používána:

- plamenová atomizace (*FA AAS- Flame Atomisation Atomic Absorption Spectrometry*) pro stanovení vyšších koncentrací (desetiny až desítky $\mu\text{g/ml}$)
- elektrotermická atomizace (*ET AAS nebo GF AAS - Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) pro stanovení stopových a ultrastopových koncentrací (setiny až desítky ng/ml)
- hydridová technika AAS (*HG AAS-Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*) pro stanovení stop As, Se, Sb, Te, Sn

Tzv. jednoúčelové atomové absorpční spektrometry představují analyzátory rtuti. Termooxidační metoda stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku spočívá v tepelném rozkladu vzorku v proudu kyslíku, uvolnění veškerých sloučenin rtuti a změření absorpce vzniklých atomových par při vlnové délce 253,65 nm.

AMA-zdokonalený rtuťový analyzátor (*Advanced Mercury Analyser*) je označení jednoúčelových atomových absorpčních spektrometrů vyvinutých a vyráběných v ČR fy Altec s.r.o. pro stanovení celkového obsahu rtuti (THg) v pevných i kapalných vzorcích bez potřeby předchozí úpravy vzorku (mineralizace, separace). Bylo vyvinuto několik přístrojů využívajících tuto metodu. Dva z nich jsou české výroby. Stopový analyzátor rtuti (*Trace*

Mercury Analyzer) TMA-254 (1985) a jeho nástupce AMA-254 (1990). Oba byly vyvinuty firmou Altec, s.r.o.

Americká firma Milestone vyvinula v roce 2006 Direct Mercury Analyzer – DMA-80, vycházející principiálně z AMA-254.

Atomová emisní spektrometrie (*AES- Atomic Emission Spectrometry*) je založena na sledování emise elektromagnetického záření vzorku, který je v důsledku dodání energie převeden do atomárního excitovaného stavu. Excitované atomy emitují čárové polychromatické záření. Spektrum je rozloženo na jednotlivé vlnové délky.

Metoda s indukčně vázaným plazmatem (*ICP -Inductively Coupled Plasma*) bývá označována jako (ICP-AES). Byla představena ve Velké Británii a první komerčně dostupný přístroj byl představen v roce 1974. Představuje nejpobulárnější analytický nástroj pro stanovování stopových prvků o koncentracích nižších než 1 ppm (mg vzorku / kg materiálu) v mnoha typech vzorků [14], [15], [16].

Atomová spektrometrie zahrnuje řadu metod, které slouží k analýze prvků v různých maticích. Výhodou těchto metod je možnost multiprvkového stanovení velmi nízkých koncentrací ve velmi krátké době.

Principem spektrálních metod je interakce elektromagnetického záření s částicemi hmoty. Částice hmoty mohou toto záření buď absorbovat, pak mluvíme o absorpčních metodách nebo emitovat v případě metod emisních. V praxi nejpoužívanějšími metodami atomové spektrometrie jsou:

- atomová absorpční spektrometrie (AAS)
- atomová emisní spektrometrie (AES)
- rentgenová fluorescenční spektrometrie

Atomová spektra jsou tvořena souborem spektrálních čar. Poloha a intenzita těchto čar závisejí na systému elektronů v atomech jednotlivých prvků. Při interakci elektromagnetického záření s atomy přecházejí elektrony ze svých původních energetických hladin na hladiny s energií vyšší a vzápětí se vracejí zpět na své původní hladiny. Excitace elektronů je uskutečňována dodáním energie např. tepelné, elektrické, kinetické apod. Při návratu elektronu na původní energetickou hladinu je vyzařováno záření o energii dle Plancka:

$$\Delta E = h \cdot \nu = E_2 - E_1 \quad (4)$$

E₂ a E₁ energie vyšší a nižší energetické hladiny, v kmitočet a h Planckova konstanta

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) patří mezi nejrozšířenější analytické metody. Je založena na principu absorpce záření volnými atomy v plynném stavu, které vznikají v atomizátorech. Volné atomy v plynném stavu absorbují fotony určité energie, záření o určité vlnové délce. Energetická hodnota fotonů je pro určitý druh atomů charakteristická, počet absorbovaných fotonů je mírou množství stanovovaných atomů. AAS lze stanovit více než 68 prvků v koncentracích od desetin g.l^{-1} až po koncentrace nižší jak $1\mu\text{g.l}^{-1}$.

Klasickým způsobem získání volných atomů je plamen vysoké teploty, v němž molekuly disociují na atomy. Monochromatického záření se docílí použitím speciálních výbojek, jejichž elektrody jsou vyrobeny ze sledovaného kovu. Při vlastním měření se sleduje zeslabení paprsku po průchodu analytickým prostředím tvořeným volnými atomy. Pro absorpci platí obecně Lambertův-Beerův zákon, který lze psát ve tvaru:

$$\Phi = \Phi_0 e^{-knl} \quad (5)$$

kde Φ_0 je zářivý tok záření dopadajícího na absorbující atomy, Φ je zářivý tok po průchodu absorbující vrstvou tloušťky l , k je atomový absorpční koeficient charakteristický pro danou čáru a n je počet volných atomů daného prvku v jednotce objemu. Zeslabení procházejícího paprsku tedy závisí na koncentraci atomů n při konstantním l .

Absorbovaná kvanta monochromatického záření převádějí atom do excitovaného stavu. Z něho se atom vrací do základního energetického stavu v důsledku srážek s okolními částicemi nebo vyzářením fotonu stejné vlnové délky, jakou mělo absorbované záření [10].

Atomový absorpční spektrometr se nejčastěji skládá z pěti základních částí:

- 1) Zdroj záření
- 2) Atomizátor – produkuje volné atomy a je zároveň absorpčním prostředím
- 3) Monochromátor
- 4) Detektor
- 5) Zpracování signálu, případně výpočetní systém [11].

Zdroje záření

V AAS se uplatňují výhradně čárové zdroje záření, které emitují intenzivní zářivou energii soustředěnou do úzkých spektrálních intervalů, využitelných pro charakteristickou absorpci záření. Zdroje musí být stabilní, cenově přijatelné a musí mít dlouhou životnost.

V praxi se prosadily tři typy čárových zdrojů:

- Výbojky s dutou katodou (HCL – Hollow cathode lamps)
- Bezelektrodové výbojky (EDL – Electrodes discharge lamps)
- Superlampy

Výbojka s dutou katodou je evakuovaná baňka z optického skla naplněná plnicím plynem na tlak 100- 500 Pa. Plynem je zpravidla čistý monoatomický neon, nebo argon. Výstupní okénko je vyrobeno z materiálu propouštějícího příslušné emisní čáry (do 240 nm je to optický křemen, nad 240 nm některý speciální druh optického skla a nad 300 nm je používáno běžné optické sklo). Uvnitř výbojky je instalována dutá katoda, a nad ní je umístěna anoda z těžkotavitelného materiálu (Zr, W, Ta, T...). Katoda je vyrobena buď z čistého materiálu prvku, který má být lampou stanovován (Zn, Ni, Fe, ...) nebo je použit tzv. nosič. Nosič je dutý váleček z materiálu s chudým emisním spektrem (Al, Cu). Do jeho vnitřní dutiny je buď vložena fólie stanovovaného kovu, nebo se příslušný prvek na nosič nanáší metodou práškové sintrace. Metoda sintrace se používá pro vzácné a drahé kovy, pro těžko opracovatelné kovy a také pro výrobu tzv. víceprvkových lamp, které emitují spektrum dvou až šesti prvků. U víceprvkových lamp jsou omezeny použitelné kombinace prvků a tyto lampy mají kratší životnost a většinou snižují citlivost a zhoršují detekční limity pro některé prvky. [11], [12]

Princip funkce výbojky je založen na tvorbě doutnavého výboje v dutině katody. Na elektrody se vloží napětí 200 – 600 V, dochází tak ke srážení elektronů s atomy plnicího plynu, a tím k jejich ionizaci. Kladně nabité ionty plynu bombardují povrch katody a vyrážejí z něj atomy prvku. Nastává katodické rozprašování. Volné atomy jsou dále excitovány srážkami s ionty a při následné deexcitaci jsou emitovány fotony charakteristické pro materiál katody. Životnost výbojek je dána čistotou materiálu a stabilitou tlaku plnicího plynu. [11], [12].

Bezelektrodové výbojky jsou baničky válcovitého, nebo sférického taru, vyrobené z křemene, nebo skla. Délka baničky je několik cm a šířka 5- 15 mm. Výbojka je naplněna několika mg směsí čistého prvku a jeho těkavé sloučeniny, nejčastěji jodidu. Banička je naplněna plnicím plynem (Ar, Ne, He) na tlak 30-300 Pa a je umístěna do pole vysokofrekvenční cívky. Uvnitř výbojky dochází k vytvoření stabilního prstencového výboje při stěnách výbojky, takže záření prochází zanedbatelnou vrstvou atomové páry uvnitř výbojky a také samoabsorpce rezonančních čar je minimální. Výhodou použití EDL je zlepšení poměru signálu a šumu a tím také lepší meze detekce (2- 3x proti HDL). Hlavní

nevýhodou je nižší životnost a poměrně vysoká cena. Tyto výbojky fungují na stejném základním principu jako výbojky s dutou katodou, navíc je použit emitor elektronů a cylindrická katoda beze dna, pod kterou je umístěna anoda. Vnitřní prostor cylindrické katody je bombardován elektrony z emitoru elektronů, což způsobuje homogenní buzení v celém objemu cylindrické katody. Tím je dána malá pravděpodobnost dlouhodobého výskytu atomů v základním energetickém stavu, čímž je potlačena samoabsorbance. Vyšší buzení a vyšší používané žhavicí lampy jsou příčinou vyšších intenzit záření. Výhoda těchto výbojek spočívá ve větší intenzitě čar, která 5- 75x vyšší než u HCL v závislosti na prvku. Superlampy mají vyšší životnost než HCL a menší pořizovací cenu než EDL. [11], [12]. Atomizátor má v AAS funkci rezervoáru volných atomů, a zároveň slouží jako absorpční prostředí. Jeho funkcí je přeměnit stanovovaný prvek na atomovou páru. K atomizaci se používají plameny, elektrotermické atomizátory a křemenné trubice, většinou vyhřívané. Podle používaných atomizátorů se AAS dělí na plamenovou AAS a AAS s elektrotermickou atomizací.

Optický systém

Úkolem optického systému je vést paprsek záření ze zdroje skrz absorpční prostředí do disperzního prvku, který izoluje příslušný spektrální interval, a po výstupu z disperzního prvku, fokusovat záření na detektor. Optické systémy obsahují čočky, zrcadla, rotační zrcadlové sektory a polopropustná zrcadla. Čím více je optických prvků, tím větší jsou ztráty záření, což způsobí snížení detekčních limitů. Proto je u moderních spektrometrů počet optických prvků minimalizován a čočky jsou nahrazovány odraznými konkávními zrcadly, která mají o polovinu nižší ztráty záření než čočky.

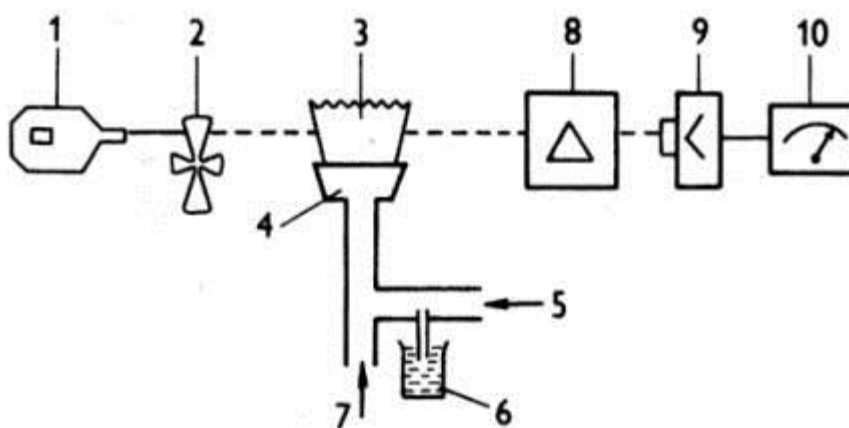
Monochromátor slouží hlavně k separaci určitého intervalu vlnových délek $\Delta \lambda$ ze spektra. Velikostí intervalu $\Delta \lambda$ se volí velikost výstupní štěrbinou monochromátoru, v AAS se běžně pracuje s intervaly 0,2 – 2,0 nm [11].

Detektorem je v AAS fotonásobič, což je evakuovaná skleněná baňka se vstupním okénkem z vhodného materiálu, většinou z křemene. V baňce je fotocitlivá katoda, anoda a systém devíti až třinácti dynod. Fotonásobič bývá umístěn hned za výstupní štěrbinou monochromátoru a je uzavřen ve světlotěsném pouzdru. Dopadem fotonu na světlocitlivou vrstvu dojde k vyražení elektronu, který je urychlen v elektrickém poli a přitažen na první z dynod. Dopad elektronů na dynodu způsobí vyražení několika sekundárních elektronů, které jsou přitahovány k další dynodě. Mezi jednotlivými dynodami je udržován potenciálový spád 50 – 150 V, čímž je zaručen lavinovitý vzrůst počtu elektronů a tím měřitelné výstupní

proudy i při nízkých intenzitách dopadajícího záření. Měří se zářivé toky v oblasti 10^{-6} až 10^{-11} , výstupní proudy jsou při citlivosti fotonásobičů 10- 100 A/Im řádově desítky mA a proud se musí pro další zpracování ještě zesilovat. [11].

2.3.1 Plamenová AAS (FA AAS – Flame atomization AAS)

Plamenová AAS (*Flame atomisation*) je nejstarším druhem atomizace. Jejím principem je převedení roztoku na aerosol ve zmlžovači a následné zavádění tohoto aerosolu do laminárního předmíchaného plamene. Homogenní směs směsi aerosolu vzorku, paliva a oxidovadla je zajišťována v mlžné komoře.



Obr. 1 Schéma atomového absorpčního spektrometru s plamenovou atomizací [21]

1 – výbojka, 2 – přerušovač, 3 – plamen, 4 – štěrbinový hořák, 5 – přívod stlačeného vzduchu, 6 – vzorek, 7 – přívod výhřevného plynu, 8 – monochromátor, 9 – fotonásobič se zesilovačem, 10 – indikační zařízení

V plameni probíhá hoření, reakce paliva s oxidovadlem za vývoje tepla a záření. V AAS jsou nejpoužívanější laminární předmíchané plameny. Vzorek je veden do plamene ve formě aerosolu pomocí zmlžovače a mlžné komory. Rychlost proudění plynů ve štěrbině hořáku je 2 až 3 krát větší než rychlost hoření. Při vyšším poměru je plamen nestabilní nebo hasne, při nižším poměru plamen projde do hořáku a hrozí nebezpečí výbuchu.

Složení plamene

- Plamen se skládá ze zóny přehřívání, primární reakční, mezireakční a sekundární reakční zóny. V zóně přehřívání dochází k vyhřátí plynů na zápalnou teplotu. V primární reakční zóně se tvoří radikály. V sekundární reakční zóně probíhá difúzní hoření a dohořívá zde palivová směs.

Nejpoužívanějšími topnými plyny při plamenové atomizaci jsou acetylen – vzduch (2300 °C) nebo acetylen – oxid dusný (2700 °C). Volba plynů je dána prvky, které se sledují a jaká teplota plamene pro tyto analýzy je optimální.

Zavádění kapalného vzorku do plamene se nejčastěji provádí pomocí pneumatických zmlžovačů, kde se vytváří aerosol drobných kapek zkoumaného roztoku.

Plamenové atomizátory nacházejí uplatnění při analýzách větších obsahů analytu ve vzorku. Měření probíhá rychle a ve srovnání s elektrotermickou atomizací je zde menší vliv interferencí matrice vzorku. Konstrukce tohoto typu atomizátorů je poměrně jednoduchá.

Na druhou stranu je zde však nevýhoda, že se vzorek velmi naředí spalnými plyny a jen malý podíl vzorku se využije pro samotnou analýzu.

2.3.2 AAS s elektrotermickou atomizací (GF AAS)

Atomizátory s elektrotermickou atomizací jsou založeny na odpařování vzorku průchodem elektrického proudu. Nejčastěji se využívají odporově vyhříváné atomizátory, kde se využívá vlivu vloženého napětí. Kapacitně vyhříváné atomizátory využívají opačných elektrických nábojů a indukční atomizátory fungují pomocí indukce elektromagnetického pole.

Při elektrotermické atomizaci se dávkuje velmi malé množství vzorku do speciální miniaturní odporově vyhříváné kyvety. Kyvety jsou vyrobeny z elektricky vodivého materiálu a jsou mechanicky a chemicky stálé při vysokých teplotách. Nejčastěji se používají kyvety z grafitu, skelného uhlíku, nebo wolframu, molybden, nebo tantal. Vzorek lze dávkovat buď na stěnu kyvety, na platformu nebo na sondu.

Výhodou bezplamenových atomizátorů je fakt, že se celé nadávkované množství vzorku podílí na absorpci primárního záření. Tzn., že ve velmi malém množství atomizátoru

získáme mnohem vyšší okamžitou koncentraci volných atomů volných atomů v plynné fázi. Jedná se o atomizaci, která oproti plamenové AAS dosahuje vyšší citlivosti.

K atomizaci vzorku dochází postupným ohřevem kyvety průchodem elektrického proudu. Grafitová kyveta se nachází ve speciální hlavici elektrotermického atomizátoru, která ji udržuje v optické dráze atomového absorpčního spektrometru. Aby bylo zabráněno přístupu kyslíku ze vzduchu k rozžhavenému grafitu a volným atomům analytu, probíhá elektrotermický ohřev kyvety v atmosféře čistého argonu. Vzorek je do kyvety dávkován buď pomocí mikrodávkače a nebo programovatelným dávkovačem. Po nadávkování vzorku je zvyšována teplota kyvety v krocích podle teplotního programu, který se skládá z několika stupňů:

Prvním krokem je ohřev nad teplotu varu rozpouštědla – dochází k vysušení vzorku. Druhým krokem je ohřev na teplotu pyrolýzy – dojde k odstranění převážné části matrice vzorku. Třetím krokem je ohřev na teplotu atomizace – vytváří se oblak plynných atomů analytu v základním energetickém stavu a dochází k absorpci primárního záření těmito atomy. Čtvrtým krokem je krátkodobé zahřátí kyvety nad teplotu atomizace – dojde k vyčištění kyvety. Pátým krokem je zchlazení kyvety na počáteční teplotu, kyveta je připravena k dalšímu měření.

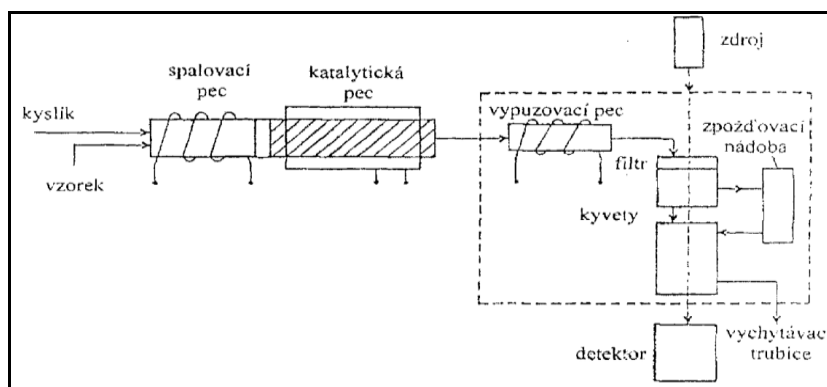
Ve fázi atomizace se zaznamená analytický signál. Optimální teplota této fáze se určuje z atomizační křivky sestavené pro konstantní teplotu pyrolýzy. Optimální teplotou je zpravidla teplota o 50 – 100 °C vyšší než teplota, od které se již signál nemění. Doba atomizace se volí tak, aby nedocházelo ke změnám plochy signálu. Dalšími důležitými parametry při atomizaci, které je nutno sledovat, jsou rychlost nárůstu teploty a průtok plynu při atomizaci.

2.3.3 Rtuťový analyzátor AMA

Zdokonalený rtuťový analyzátor AMA (*Advanced Mercury Analyser*) je označení jednoúčelových atomových absorpčních spektrometrů vyvinutých a vyráběných v ČR fy Altec s.r.o. pro stanovení celkového obsahu rtuti (THg) v pevných i kapalných vzorcích bez potřeby předchozí úpravy vzorku (mineralizace, separace).

Termooxidační metoda stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku spočívá v tepelném rozkladu vzorku v proudu kyslíku, uvolnění veškerých sloučenin rtuti z rozloženého

vzorku a jejich redukci na elementární rtuť. Ta je po průchodu spalin katalytickou trubicí zachycena v amalgamátoru, ze kterého je poté uvolněna všechna zároveň a odvedena do systému kyvet, kde je změřena absorpance vzniklých atomových par rtuťi při vlnové délce 253,65 nm. Schéma je na Obr.3.



Obr. 2. Jednoučelový atomový absorpční spektrometr AMA [16].

Bylo vyvinuto několik přístrojů využívajících tuto metodu. Dva z nich jsou české výroby, Stopový analyzátor rtuťi TMA-254 (*Trace Mercury Analyzer*) (1985) a jeho nástupce Zdokonalený rtuťový analyzátor AMA-254 (*Advanced Mercury Analyzer*) (1990). Oba byly vyvinuty firmou Altec, s.r.o. CZ [16].

Americká firma Milestone vyvinula v roce 2006 Direct Mercury Analyzer – DMA-80, vycházející principiálně z AMA-254.

2.3.4 Optická emisní spektroskopie (ICP OES)

Spektrální analýza určuje kvalitativní i kvantitativní složení látek podle emisního spektra těchto látek v plazmatickém stavu. Záření plazmatu je vytvářeno emisí atomů, iontů, molekul a částic tuhých látek. Spektrum je výsledkem diskretních přechodů elektronů z hladin s vyšší energií na hladiny s nižší energií. Energie fotonu je dána vztahem:

$$E = hv = hc/\lambda, \tag{6}$$

kde ν je frekvence záření (Hz nebo s^{-1}), h – Planckova konstanta ($6,625 \cdot 10^{-34}$ Js), c rychlost světla ($3 \cdot 10^8$ ms^{-1}), λ – vlnová délka záření

Ze vztahu vyplývá kvalitativní charakteristika záření daná vlnovou délkou (frekvencí). Vlnové délky spektrálních čar atomů jsou dány horní a spodní energetickou hladinou přechodu podle vztahu:

$$\lambda = hc/(E_2 - E_1) \quad (7)$$

kde E_2 je energie horní hladiny, E_1 je energie spodní hladiny

Všechny prvky s výjimkou H, He, Ar, Kr, Xe, F, Cl, Br, I, N, O, S, P, C, Se, a Hg mají ionizační potenciál nižší než 10 eV, leží převážně v rozsahu 4 - 6 eV. Pro excitační energie $E = 6,0$ eV budou mít spektrální čáry (podle výše uvedené rovnice) $\lambda > 206,6$ nm. Rezonanční, atomové čáry většiny prvků se proto vyskytují v oblasti nad 200 nm a lze je určovat na obvyklých spektrografech. Při $\lambda < 190$ nm absorbují již vodní páry i kyslík a je nutná vakuová aparatura nebo inertní atmosféra (argon, dusík).

Šířka spektrální čáry je výsledkem vlastností vyzařujícího atomu a vnějších podmínek. Teoretická šíře čar ($10^{-4} - 10^{-5}$ nm) nezávisí na vlnové délce, ovšem reálná šířka bývá mnohonásobně větší. V převážné většině případů je však vlastní šířka čáry mnohem menší než rozšíření vyvolané Dopplerovým jevem a srážkovými efekty.

Dopplerovo rozšíření čáry jako výsledek tepelného pohybu zářících částic je dáno vztahem:

$$\Delta\lambda = 7,2 \cdot 10^{-7} \lambda_0 \sqrt{T/A} \quad (8)$$

kde A je atomová hmotnost a Dopplerovo rozšíření je tedy větší pro lehčí prvky a roste s teplotou.

Srážkové rozšíření čáry je způsobeno interakcí zářících atomů s okolními částicemi. Podle jejich charakteru se může velikost srážkových efektů měnit. Tyto efekty mohou kromě rozšíření spektrální čáry vést také k jejímu rozštěpení a posunu. Relativní rozšíření čáry může způsobit také samoabsorbce.

Intenzita spektrálních čar

Při termickém buzení se koncentrace částic s určitou s danou excitační hladinou stanoví podle Boltzmanova vztahu:

$$N_m = N_0 g_m/g_0 e^{-(E_m/k \cdot T)} \quad (9)$$

Intenzita spektrální čáry, odpovídající spontánnímu přechodu vzbuzeného atomu nebo iontu mezi hladinami $m \rightarrow n$ vyplývá ze vztahu:

$$I_{mn} = N_0 h\nu_{mn} P_{mn} g_m/g_0 e^{-(E_m/k \cdot T)} \quad (10)$$

kde N_0 je počet atomů nebo iontů, P_{mn} pravděpodobnost přechodu, g_m, g_0 jsou statistické váhy vzbuzené a základní hladiny, E_m energie vzbuzené hladiny k Boltzmanova konstanta a T je absolutní teplota

Atomový emisní spektrometr se obvykle skládá z budícího zdroje, disperzního systému s pomocnou optikou, detektoru záření a řídicího a vyhodnocovacího zařízení.

Budící zdroje ve spektrální analýze plní dvě základní funkce. Jednak převádí vzorek z pevné a kapalné fáze na plynnou a pak také vytváří plazma, v níž dochází k excitaci, příp. ionizaci jednotlivých atomů vzorku. Vzhledem k tomu, že pro optimální vybuzení daného prvku je potřebná určitá teplota, byly vyvinuty různé typy zdrojů. K nejvýznamnějším moderním plazmovým zdrojům využívaných k analytickým účelům patří indukčně vázané plazma (ICP).

Spektrometry

Úkolem spektrometru je soustředit maximální množství spektrální energie, která je nositelem analytické informace, oddělit dostatečně záření s touto informací od nežádoucích složek a detekovat toto záření.

Hlavní charakteristiky spektrálních přístrojů:

Rozlišovací schopnost:

$$R = \lambda/d\lambda \quad (11)$$

charakterizuje schopnost přístroje rozlišit záření dvou blízkých vlnových délek.

Úhlová disperze

$$D = d\delta/d\lambda \quad (12)$$

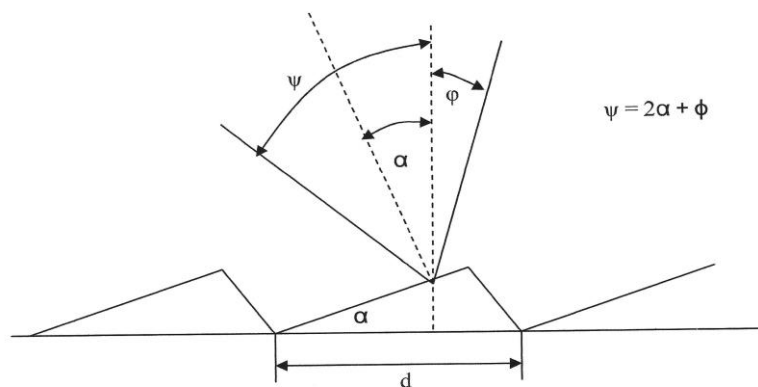
kde δ je úhel, který svírají dva paprsky blízkých vlnových délek vystupující ze spektrometru. Převrácená hodnota lineární disperze $d\lambda/dl$ (v nm/mm) vyjadřuje rozdíl vlnových délek dvou monochromatických paprsků vzdálených o hodnotu l v zobrazovací rovině.

Světelnost určuje efektivnost využití světelné energie zdroje. Je dána geometrickou konstrukcí, absorpcí a odrazem světla na optických částech přístroje.

Osvětlovací soustava soustředí záření zdroje na vstupní štěrbinu monochromátoru tak, aby osvětlení štěrbin bylo homogenní. Někdy je vyžadována možnost zeslabení části spektra filtry, popřípadě osvětlení štěrbin jen určitou částí zdroje. Materiál optických prvků (čoček) musí být vybírán vzhledem k propustnosti v daném rozsahu vlnových délek.

Vstupní štěrbina odděluje z homogenního obrazu zdroje paprsek tvaru této štěrbin, který se po průchodu spektrálním přístrojem zobrazí jako spektrální čára. Šířka spektrální čáry je pak tedy úměrná šířce vstupní štěrbin.

Disperzní prvky rozdělují dopadajícího paprsky na monochromatické složky. Nejčastěji se rozklad světla dosahuje mřížkami nebo hranoly. Rozklad záření hranolem je založen na závislosti indexu lomu propustných prostředí na vlnové délce. V moderních přístrojích se jako disperzních prvků používá mřížek (hranoly se nicméně stále používají v kombinaci s mřížkami u Eschelle monochromátorů s tzv. „zkříženou optikou“). K rozkladu záření mřížkou dochází difrakcí na soustavě vrypů mřížky. Mřížky ryté lineárně v rovině mají větší část světelné energie soustředěnu ve spektru nultého řádu. Jestliže však zrcadlicí plocha vrypu neleží v rovině mřížky, mění se rozdělení energie a její větší část se soustřeďuje v úhlu, odpovídajícímu zrcadlovému odrazu od plochy vrypu. Tento úhel maximální odrazivosti je nazýván úhlem odlesku a je důležitou konstantou mřížky.



Obr. 3 Schéma rozkladu záření mřížkou. [20]

Pro úhel maximální odrazivosti platí:

$$\psi = 2\alpha + \phi \quad (13)$$

Úhlová disperze mřížky:

$$d \phi/d\lambda = k/d \cdot \cos \phi \quad (14)$$

kde k je řád spektra, d je vzdálenost vrypů, tzv. konstanta mřížky

Pro malé úhly odrazu je vyjádřena vztahem:

$$d \phi/d\lambda = k/d \quad (15)$$

a závisí tedy jen málo na vlnové délce. Rozlišovací schopnost mřížky podle Rayleighova kritéria je dána vztahem:

$$R = k.N \quad (16)$$

kde N je celkový počet vrypů na mřížce.

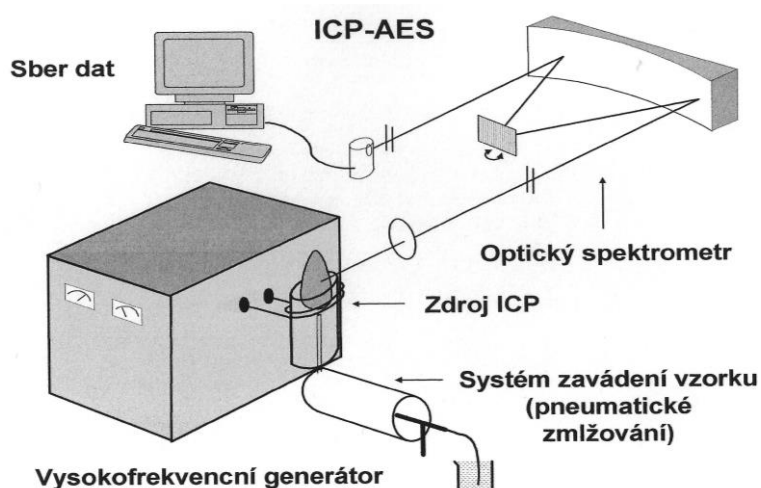
Rozlišovací schopnost proto závisí na řádu spektra a charakteristice mřížky (její velikosti a počtu vrypů na milimetr).

Indikace záření – Vizuální indikace se dnes uplatňuje výjimečně, dříve se používalo tzv. stiloskopů s optickým systémem o velké disperzi pro třídění kovových materiálů.

Detekce pomocí fotonásobičů se stále používá u řady komerčních spektrometrů. Uplatňují se jak v případě polychromátorů, kde je využíváno větší množství těchto detektorů pro simultání měření na předem vybraných emisních čarách zájmových prvků, tak i u

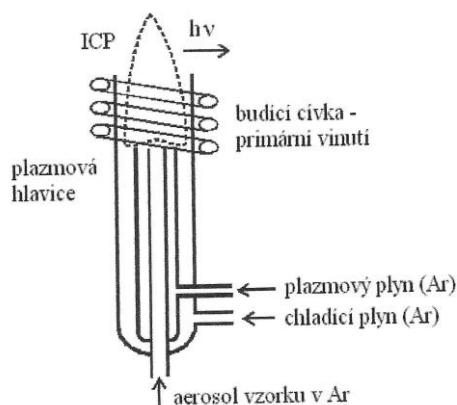
některých typů monochromátorů či zařízení pro časově rozlišené měření. Velká většina všech přístrojů vyráběných v současné době využívá polovodičových CCD nebo CID detektorů (případně intenzifikovaných CCD detektorů).

Indukčně vázané plazma (ICP) je využíváno v chemické prvkové analýze již téměř po čtyři desetiletí. Výboj ICP byl nejdříve použit jako budící zdroj pro atomovou emisní spektrometrii (ICP-AES), označovanou také jako ICP-OES (optická emisní spektrometrie s ICP). Od počátku 80. let je využíván také jako zdroj iontů pro hmotnostní spektrometrii (ICP-MS). Schéma optického emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmovým zdrojem je uvedeno na (obr.5).



Obr. 4 Schéma optického emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem [20]

Atomová spektrometrie s ICP zdrojem je převážně používána pro analýzu kapalných vzorků. Z roztoku je generován zmlžovacím zařízením jemný aerosol, který je nosným plynem vnášen do indukčně vázaného plazmového zdroje generovaného v proudu pracovního plynu, nejčastěji argonu.



Obr. 5. Schéma excitačního zdroje pro atomovou emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES) [9]

Ve výboji je aerosol vysušen, odpařen, atomizován a volné atomy jsou excitovány, případně ionizovány a excitovány. Excitace a emise probíhají na úrovni valenčních elektronů. Záření je tvořeno čárovou emisí excitovaných atomů a iontů a pásovou či spojitou emisí dalších částic. Analytický signál představuje čarová emise atomů a jedenkrát nabitých iontů (X^+) analytu, pozadí je tvořeno spojitým rekombinačním zářením iontů argonu a pásovou emisí molekulárních částic z obklopující atmosféry a vzorku. Záření z ultrafialové (UV) a viditelné (Vis) oblasti spektra je monochromatizováno v mřížkovém spektrálním přístroji a detekováno různými typy fotodetektorů.

Plazma je ionizovaný, makroskopicky neutrální plyn, v němž volné elektrony a ionty vykazují tzv. kolektivní chování, za které jsou považovány pohyby částic závislé nejen na lokálních podmínkách, ale i na stavu plazmatu ve vzdálenějších oblastech. Na rozdíl od plamene, kde je kinetická energie částic potřebná pro srážkové procesy (disociaci, atomizaci, excitaci) získávána ze spalného tepla paliva, do ICP výboje je dodávána energie volným elektronům z vnějšího zdroje, kterým je *vf* elektromagnetické pole indukční cívky. Výboj ICP je iniciován ionizací jiskrovým výbojem z Teslova transformátoru. Vytvořené elektrony jsou urychlovány *vf* elektromagnetickým polem a způsobují další, lavinovitou ionizaci pracovního plynu (např. Ar).

Přestože lze plazma vytvořit z libovolného plynu, v praxi se dává přednost vzácným plynům, které mají jednoduchá spektra a netvoří stabilní sloučeniny. Jejich vysoké hodnoty ionizační energie navíc umožňují účinnou ionizaci většiny prvků. Nejčastěji se dává přednost argonu, který představuje kompromis z hlediska jeho fyzikálních vlastností a ceny.

S výjimkou těkavých hydridů a některých dalších těkavých sloučenin je vzorek do ICP výboje

transportován v podobě vlhkého či suchého aerosolu.

Spektrometr slouží k separaci záření podle vlnových délek a k měření emise spektrálních čar. Jako disperzní členy se používají mřížky na odraz.

Spektrometr s rovinnou mřížkou tvoří tyto součásti:

- a) osvětlovací soustava,
- b) vstupní (primární) štěrbina,
- c) zrcadlový objektiv kolimátoru
- d) rovinná mřížka, (u spektrometru s konkávní mřížkou místo rovinné zastává mřížka současně funkci kolimátorového a kamerového zrcadla),
- e) zrcadlový objektiv kamery,
- f) výstupní štěrbina,
- g) detektor

Osvětlovací soustava je tvořena čočkami a slouží:

k osvětlení vstupní štěrby žádanou součástí zdroje, k rovnoměrnému osvětlení každého bodu štěrby každým bodem zdroje, k maximálnímu využití světelnosti spektrometru.

Izolace selektivního analytického signálu z bohatého čárového spektra emitovaného v ICP vyžaduje použití spektrálního přístroje s vysokou rozlišovací schopností. S klesající šířkou propouštěného spektrálního intervalu klesá počet a velikost spektrálních interferencí na analytických čarách a současně se zvyšuje poměr signálu k pozadí.

2.3.5 Validace metod atomové spektrometrie

Termínem *validace* je označováno uvedení metody do analytické praxe. Je spojeno s celou řadou požadavků, které musí být splněny a zjištěny, aby bylo možné metodu považovat za správnou a použitelnou. Je to v podstatě ověření správnosti metody.

Validace metody je proces potvrzení výkonnostních charakteristik a omezení metody a identifikace vlivů, které mohou tyto charakteristiky změnit. Určuje, jaké analyty je metoda schopna stanovit, v jakých matricích, za přítomnosti jakých interferujících složek. A rovněž vypovídá o úrovni přesnosti a správnosti, jaké lze za daných podmínek dosáhnout.

Validačními parametry jsou: selektivita a specifická, mez detekce, mez stanovitelnosti, pracovní a lineární rozsah, správnost, přesnost, robustnost, výtěžnost, citlivost, nejistota měření [14].

Selektivita je rozsah, do kterého je možné stanovit analyt bez ovlivnění interferencemi. Metoda, která je naprosto selektivní, je označována jako metoda specifická pro daný analyt, popř. skupinu analytů. Měření na přístroji AMA je specifické, zatímco u ICP-OES je specifická splněna pouze pro některé z analytů. Metoda je ale dostatečně selektivní, díky množství analytických čar, na nichž lze měřit a vyhnout se tak některým interferencím.

Mez detekce (MD) je nejnižší detekovatelná koncentrace analytu za podmínek zkoušky, ale nemusí být nutně kvantifikována. Určuje se jako odezva slepého vzorku plus trojnásobek odhadu směrodatné odchylky (17).

$$MD = y_0 + 3 \cdot s_0 \quad (17)$$

Mez stanovitelnosti (MS) je nejnižší koncentrace analytu, která může být stanovena s přijatelnou přesností (opakovatelností) a správností za uvedených podmínek zkoušky. Určuje se jako odezva slepého vzorku plus desetinásobek odhadu směrodatné odchylky (18).

$$MS = y_0 + 10 \cdot s_0 \quad (18)$$

Pracovní rozsah je soubor hodnot koncentrací, pro něž leží chyba měřicího zařízení uvnitř stanovených mezí.

Linearita je schopnost metody poskytnout výsledky zkoušky přímo úměrné koncentraci analytu.

Pro ICP-OES byl stanoven pracovní rozsah s přihlédnutím k předpokládaným obsahům a to MS – 2500 mg/kg pro pevný materiál, resp. MS – 5 mg/l pro výluhy.

Na přístroji AMA byl proveden test linearity a vytvořeny dva pracovní rozsahy MS – 0,2 mg/l pro nízké koncentrace a pro vyšší koncentrace 0,2 – 3,0 mg/l.

Správnost udává těsnost shody mezi výsledkem zkoušky a přijatou referenční hodnotou. U obou přístrojů byla stanovena analýzou referenčních materiálů o známé koncentraci jednotlivých analytů.

Přesnost je těsnost shody mezi nezávislými výsledky zkoušek získanými za předem specifikovaných podmínek. Nejběžnějšími mírami přesnosti jsou opakovatelnost a reprodukovatelnost.

Přesnost byla pro oba přístroje stanovena na základě opakovaného měření vybraných materiálů a porovnání s jinými laboratořemi.

Opakovatelnost se získá měřením za podmínek opakovatelnosti, tj. stejnou metodou, na stejném materiálu, v téže laboratoři, stejným pracovníkem na stejném přístroji v krátkém časovém období.

Reprodukovatelnost lze získat měřením za podmínek reprodukovatelnosti, tj. stejnou metodou, na stejném materiálu, ale v jiné laboratoři, jiným pracovníkem na jiném přístroji.

Robustnost je schopnost analytického postupu zůstat netečný vůči malým, ale záměrným změnám parametrů metody. Vliv změny některých parametrů ICP-OES se může projevit pouze pro některé prvky, zatímco jiné nebudou ovlivněny. Z tohoto důvodu se provádí měření za optimálního nastavení daného výrobcem.

Výtěžnost udává poměr množství analytu získaného danou metodou k přijaté referenční hodnotě. Získá se měřením certifikovaných referenčních materiálů nebo výpočtem z měření obohacených a neobohacených vzorků sledovanými analyty.

Citlivost je podíl změny výstupního signálu měřicího přístroje a odpovídající změny vstupního signálu. Pro lineární závislost kalibrační přímky je to její směrnice. Lze ji určit metodou nejmenších čtverců nebo experimentálně za použití vzorků o různé koncentraci analytu.

Nejistota měření je parametr přidružený k výsledku měření, který charakterizuje rozptyl hodnot, které by mohly být důvodně přisuzovány k měřené veličině. Na velikost celkové nejistoty mají vliv dílčí nejistoty, které vstupují do procesu, např. nejistota objemu, vážení, nejistoty referenčních materiálů, nejistota kalibrace, apod.

Stanovení nejistoty pro AMA bylo provedeno na základě opakovaného měření vybraných materiálů a výpočtem z příslušných hodnot.

Pro ICP-OES byla nejistota stanovena jako kvalifikovaný odhad na základě opakovaného měření certifikovaných referenčních materiálů, výsledků mezilaboratorního porovnání zkoušek, srovnání s výsledky jiných laboratoří, apod. [16]

3. Praktická část

3.1 Pracovní metodika FA AAS

Atomový absorpční spektrometr Unicam SOLAAR M5 fy Waltham, MA, uspořádání s atomizací v plameni vzduch-acetylen s korekcí pozadí deuteriovou lampou.

Prvek	Vlnová délka	Vzduch/acetylen	Typ lampy	Žhavicí proud lampy	Štěrbina	Hořák
Cd	228,80 nm	10 l/min/2,5 l/min	EDL	210 mA	0,5 nm	100 mm
Cr	357,87 nm	10 l/min/3,30l/min	HCL	25 mA	0,5 - 2 nm	50 mm
Pb	283,31 nm	10 l/min/2,5 l/min	HCL	10 mA	0,5 – 1 nm	100 mm
Zn	213,86 nm	10 l/min/2,5 l/min	HCL	15 mA	0,5 - 1 nm	100 mm

Tab. č. 2 Parametry pro jednotlivé kovy měřené metodou FA AAS.

Pracovní postup FA AAS:

- Otevřete přívod acetylenu a vzduchu.
- Zapněte přístroj, monitor a počítač.
- V počítači zvolte metodu FA AAS a měřený prvek.
- Zasuňte do přístroje lampu a nastavte odpovídající žhavicí proud dle údajů výrobce (např. pro Zn 15 mA).
- Dle údajů v Tab. č. X nastavte pro vybraný prvek šířku štěrby a odpovídající vlnovou délku. Režim lampy nastavte na maximum intenzity.
- Po otevření přívodu plynů zapalte plamen a proved'te vynulování přístroje.
- Dále proved'te kalibraci pro daný počet předložených standardů.
- Kalibrační křivka se zobrazí v samostatném okně. Kalibrace je zde nelineární, procházející nulou.
- Postupně proměřte všechny připravené vzorky. Naměřené hodnoty se zobrazí přímo na kalibrační křivce, současně se zapíší do souboru a zobrazí se na obrazovce.
- Po skončeném měření zhasněte plamen, uložte data a ukončete program. Dojde k automatickému vypnutí lampy.
- Následně vypněte počítač, monitor a přístroj, uzavřete přívody plynů.

3.2 Pracovní metodika GF AAS

Atomový absorpční spektrometr Unicam SOLAAR M5 fy Waltham, MA, uspořádání s elektrotermickou atomizací v grafitové pínce

Pracovní postup GF AAS:

- Zapněte přívod argonu.
- Práci zahajte zapnutím přístroje, monitoru a počítače.
- Zvolte metodu GF AAS a zadejte zvolený prvek.
- Zvolte teplotní program vhodný pro konkrétní analyzovaný vzorek. (Pro každý prvek má teplotní program různou délku a teplotu jednotlivých fází.)
- Proveďte kalibraci pro daný počet předložených standardů. Kalibrace je zde nelineární, procházející nulou.
- Analyzovaný roztok postupně dávkujte automatickým dávkovačem do grafitové trubice, a tak postupně proměřte všechny připravené vzorky.
- Naměřené hodnoty se zobrazí přímo na kalibrační křivce, současně se zapíše do souboru a zobrazí se na obrazovce. (V případě překročení koncentrace, nebo pod mezí stanovitelnosti vzorku se objeví příslušné chybové hlášení.)
- Po skončeném měření uložte data a ukončete program. Dojde k automatickému vypnutí lampy.
- Následně vypněte počítač, monitor a přístroj a uzavřete přívod plynu.

3.3. Pracovní metodika AMA 254

- Otevřete přívod kyslíku
- Zapněte přístroj, zapnutí ovládacího PC s monitorem
- Ustálení podmínek v peci AMA 254 – asi 30 min
- Vyčištění systému – ikona „L“ – otevření panelu Clean – spuštění analýzy s parametry 300 s sušení/250 s termický rozklad/45 s čekání (dále jen 300/250/45). Analýzu opakujte min 3x do dosažení konstantní hodnoty absorpance
- Nastavte slepý pokus – ikona „B“ – otevření panelu Blank – (60/150/45), spustěte START, po vysunutí lodičky vyčkejte asi 20 s, než lodičku stiskem „Continue (Insert)“, zasunete zpět
- Celý cyklus bez vzorku nechte proběhnout 5x. Naměřené hodnoty sledujte v sumárním panelu „ΣB“.
- Ověření platnosti kalibrace – ikona „A“ – panel Analysis – parametry analýzy: 60/150/45. Nadávkovat známé množství rtuti (100 µl roztoku o koncentraci 0,1 µg/ml Hg). Povolená odchylka je do 20%.
- Vyčistěte systém (300/250/45). Dojde k vyčištění přístroje od stop rtuti pocházející ze standardu.
- Veškeré používané pomůcky pro měření (lodičku, pinzetu...) je nutné před použitím vyžít v plameni do červeného žáru, tím se odstraní případná kontaminace prachem. Při měření pevných vzorků se navážka řídí předpokládaným obsahem rtuti.

Doporučuje se pracovat se dvěma lodičkami: na jedné probíhá analýza v přístroji a na druhou se váží.

3.4 Pracovní metodika ICP OES Integra XL2, GBC

- Zkontrolujte konfiguraci přístroje (koncentrický zmlžovač 2 ml.min⁻¹, cyklonická mlžná komora 50ml).
- Zapněte odsávání přístroje, zapněte přívod argonu, spusťte program pro obsluhu ICP-OES.
- Zažehněte plazmu, zahájte proplach přístroje demineralizovanou vodou.
- V aplikačních programech přístroje vyberte v adresáři vzorkovou sekvenci C:/ Program zahrnuje všechny pracovní podmínky a parametry nutné k provedení analýzy včetně kalibračních standardů.
- Vložte do vzorkové sekvence jednotlivé analyzované vzorky. Pokud jsou vzorky řaděny, ve sloupci „Dilution“ se uvádí ředící faktor.
- Zadejte parametry analýzy - je vyplněno dialogové okno – je uveden název vzorkové sekvence C:/
- Aktivovujte režim analýzy.
- Proměřte sadu kalibračních roztoků buď v plném, nebo omezeném rozsahu (bod 3. Kalibrace). Slepý pokus kalibrační křivky je roztok bez obsahu měřeného prvku s maticí kalibračních roztoků (redestilovaná voda s přidavkem kyseliny dusičné 1 ml na 100 ml výsledného objemu).
- Analyzujte kalibrační roztok s nejvyšší koncentrací v režimu analýzy vzorku. Neodchyluje-li se nalezená koncentrace od skutečné hodnoty o více než $\pm 5 \%$, lze analyzovat vzorky.
- Analýza vzorků. V podmínkách metody je nastaven čas proplachu mezi vzorky 30 s, což je doba dostačující k zamezení vzájemnému ovlivňování výsledků. Mezi analyzovanými standardy i vzorky není třeba zařazovat proplach demineralizovanou vodou.
- Hmotnostní koncentrace každého prvku je stanovena softwarem přístroje a ukládána do výsledkového souboru.
- Po ukončení analýzy posledního vzorku propláchněte demineralizovanou vodou (5 minut).
- Vypněte plazmu, vypněte software, vypněte přívod argonu, vypněte odsávání.

3.5. Výsledky

Metoda FA AAS Přístroj Unicam Solaar M5 Stanovení Zn, nejistota 10 %						
Číslo ref. bodu	Název ref. bodu	Navážka pro mineralizaci [g]	Zn [mg/kg]	Cd [mg/kg]	Pb [g/kg]	Cr [mg/kg]
3009	Božanovský Špičák	0,1838	207,1059	0,6057	0,1095	pms
3007	Vrchmezí	0,1795	191,3182	pms	0,1244	pms
3001	Velká Deštná	0,1244	117,4236	pms	0,1908	pms
3005	Adam	0,1909	151,0879	pms	0,1894	1,0554
3002	Suchý vrch	0,1965	139,0236	pms	0,1678	pms

Tab. č. 3 Stanovení obsahu zinku, kadmia, olova a chromu v sušině vzorků bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, (pms-pod mezí stanovitelnosti).

Metoda GF AAS Přístroj Unicam Solaar M5 Stanovení Cd, Pb, Cr nejistota 15 %					
Číslo refer. bodu	Název referenčního bodu	Navážka mineralizace [g]	Cd [mg/kg]	Pb [g/kg]	Cr [mg/kg]
3009	Božanovský Špičák	0,1838	0,6069	0,1095	0,5992
3007	Vrchmezí	0,1795	0,12219	0,1244	0,7983
3001	Velká Deštná	0,1244	0,3459	0,1908	0,4358
3005	Adam	0,1909	0,0993	0,1894	1,0994
3002	Suchý vrch	0,1965	0,1386	0,1678	0,9732

Tab. č. 4. Stanovení obsahu kadmia, olova a chromu v sušině vzorků bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, metodou GF AAS.

Metoda Hg AAS Přístroj AMA 254 Stanovení Hg, nejistota 15%			
Číslo referenčního bodu	Název referenčního bodu	Navážka suchého vzorku [g]	Hg [mg/kg]
3009	Božanovský Špičák	0,0254	0,1993
3007	Vrchmezí	0,0289	0,3204
3001	Velká Deštná	0,0237	0,1102
3005	Adam	0,0255	0,0949
3002	Suchý vrch	0,0247	0,1733

Tab. č. 5 Stanovení obsahu rtuti v sušině vzorků bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, metodou Hg AAS

Metoda ICP OES Přístroj ICP spektrometr GBC Integra XL Stanovení Zn, Cd, Pb, Cr nejistota 20 %						
Číslo refer. bodu	Název refer. bodu	Navážka mineralizace [g]	Zn [mg/kg]	Cd [mg/kg]	Pb [g/kg]	Cr [mg/kg]
3009	Božanovský Špičák	0,1838	200,1088	0,6057	0,1095	0,5992
3007	Vrchmezí	0,1795	189,4482	0,12219	0,1244	0,7983
3001	Velká Deštná	0,1244	107,4205	0,3459	0,1908	0,4358
3005	Adam	0,1909	142,0889	pms	0,1894	1,0554
3002	Suchý vrch	0,1965	199,0139	0,1386	0,1678	0,9732

Tab. č. 6. Stanovení obsahu zinku, kadmia, olova a chromu v sušině vzorků bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, metodou ICP OES.

4. Diskuse a závěry

V teoretické části práce je uveden přehled historického vývoje atomové spektrometrie. Jsou zde stručně shrnuty výsledky biomonitoringu toxických kovů pomocí bioindikátorů hřibovitých hub *Boletus badius*. Jsou zde popsány principy přístrojové techniky pro atomovou absorpční a atomovou emisní spektrometrii. V experimentální části práce jsou uvedeny pracovní návody pro praktické seznámení studentů bakalářského studijního oboru Fyzikální měření a výpočetní technika s atomovým absorpčním spektrometrem s plamenovou ionizací (FA AAS), a s elektrotermickou atomizací v grafitové pínce (FG AAS). Atomový absorpční spektrometr Unicam SOLAAR M5 fy Waltham, MA je dvoupraprskový optický systém s možností použití plamenové i elektrotermické atomizace. Uživatel sám softwarově definuje, který z těchto praprsků je vzorkový a tím také, který atomizér se bude konkrétně používat. Při metodě FA AAS byly všechny prvky ionizovány v plameni acetylén-vzduch s korekcí pozadí deuteriovou lampou. Při metodě FG AAS byl použit jako nosný plyn argon. Tyto návody byly zpracovány a ověřeny na vzorcích bioindikátorů v rámci týdenní stáže autora v laboratořích Zdravotního ústavu v Hradci Králové. S jednoúčelovým analyzátozem rtuti AMA 254 se autor práce seznámil a analýzy pěti vzorků bioindikátorů provedl při třídní návštěvě na Přírodovědno-technické fakultě Univerzity Opole. Oba tyto pobyty byly spolufinancovány projektem OPPS CZ-PL reg.č. PL.3.22/2.3.00/11.02553 „*Propagace výzkumu kvality životního prostředí přeshraniční polsko-české oblasti*“. Na přístroji ICP OES Integra XL2, GBC autor pracoval v rámci týdenní stáže v EMPLA AG a.s. podporované projektem OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0118 „*Inovace studijních oborů zajišťovaných katedrami PřF UHK*“.

Pracovní návody pro všechny tyto přístroje byly ověřeny na stanovení zinku, kadmia, chromu, olova a rtuti v archivovaných vzorcích bioindikátorů, hřibovitých hub *Boletus badius*, z let 2011-13 z okolí pěti referenčních bodů dlouhodobě sledované česko-polské přeshraniční oblasti. Bylo zjištěno, že atomový absorpční spektrometr Unicam SOLAAR M5 v uspořádání FA AAS vyhovuje pouze pro stanovení zinku ve vzorcích hub *Boletus badius*. Stanovení kadmia, chromu a olova vyhovuje uspořádání GF AAS. Rtuťový analyzátor AMA 254 pro stanovení rtuti ve všech těchto vzorcích plně vyhovoval. Moderní a značně nákladný přístroj ICP OES, spektrometr GBC Integra XL vyhovoval při všech analýzách vzorků hub, (pouze v jednom vzorku, zřejmě vlivem nějakého nedopatření, nebylo kadmium stanoveno).

Tento přístroj představuje, vzhledem k rychlosti analýz a nízkým detekčním limitům, progresivní směr v biomonitoringu, při stanovování toxických kovů v bioindikátorech.

4. Použitá literatura

- [1] KŁOS A., WACŁAWEK M., OLECHOWSKA M., KOŹLIK, K.: „Air Pollution Project Europe” i jeho realizacja na terenie Gminy Jaworzyna Śląska. Chem. Inż. Ekol., 2000, 7(5), 499-519.
- [2] DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA A., ZIEMBIK Z., WACŁAWEK M., HYŠPLEROVÁ L.: Radiocesium activity in the Polish-Czech border region (in Polish, Czech and English), Edited by Society of Ecological Chemistry and Engineering, Opole 2007. Monograph co-financed INTERREG IIIA. 142 p. ISBN 978-83-917511-6-9.
- [3] DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA A., ZIEMBIK Z., MAJCHERCZYK T., WACŁAWEK M., HYŠPLEROVÁ L.: Akumulace radionuklidů ve vzorcích lišejníků, mechů a půdy, které byly odebrány v oblasti Euroregionů Praděd a Glacensis, Ecol. Chem. Eng. Monograph POWT RCz-RP Opole 2010, 99-104. ISBN 978-83-917511-6-9.
- [4] KOPECKÝ, T. Monitorování obsahu radionuklidů Cs-137 na vybraném území České republiky a Polska. Diplomová práce. Pedagogická fakulta Univerzity Hradec Králové, 2010, 54 s.
- [5] KŁOS A., RAJFUR M., WACŁAWEK M., ŠRÁMEK I., TRNKOVÁ L., RADVAN R., HYŠPLEROVÁ L.: Využití lišejníků, mechů a půdy pro hodnocení znečištění oblastí Euroregionů Praděd a Glacensis, Ecol. Chem. Eng. Monograph POWT RCz-RP, Opole 2010, 75-98. ISBN 978-83-917511-6-9.
- [6] HALAMKOVÁ, K.: Stanovení těžkých kovů metodou AAS ve vzorcích biologických materiálů. Bakalářská práce. Pedagogická fakulta Univerzity Hradec Králové, 2011. 57 s.
- [7] ZIEMBIK Z., DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA A., KŘÍŽ J., HYŠPLEROVÁ L., VYBÍRAL B., WACŁAWEK M.: Investigation of relationships between alkaline metals content in mushroom *Xerocomus badius*. Proc. ECOpole 2012, 6, (3), 520-524.
- [8] DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA A., ZIEMBIK Z., KŘÍŽ J., HYŠPLEROVÁ L., WACŁAWEK M.: Investigation of committed radiation dose rate and relationships between alkaline metals concentrations in mushroom *Xerocomus badius*. Ecological Chemistry and Engineering S. 19, (4), 2012, 649-664.
- [9] HYŠPLEROVÁ, L., KŘÍŽ, J., WACŁAWEK, M., VYBÍRAL, B.: Fyzikální biomonitoring. Inovované učební texty. INTRANET UHK, 2014. 63 s.

- [10] KALOUS, V. a kol.: Metody chemického výzkumu. SNTL/ALFA, Praha, 1987, ISBN 04-617-87.
- [11] ČERNOHORSKÝ T., JANDERA P.: Atomová spektroskopie. Univerzita Pardubice, Pardubice, 1997, ISBN 80-7194-114-X.
- [12] KOMÁREK J.: Atomová absorpční spektrometrie. Masarykova univerzita v Brně, Brno, 2000, ISBN 80-210-2500-X.
- [13] NĚMCOVÁ, I., ČERMÁKOVÁ, L., RYCHLOVSKÝ, P.: Spektrometrické analytické metody I., Karolinum, Praha 1997.
- [14] VÍTÁMVÁS, M., ŠABATOVÁ, V.: Validace metod v analytické laboratoři. Výzkumný ústav stavebních hmot. Brno, 2006.
- [15] <http://www.speciation.net/Database/Instruments/Thermo-Scientific/SOLAAR-M-Series-AA-Spectrometer-;i120>
- [16] Kol.: Pracovní návod pro analyzátor AMA-254. Praha: Altec, s.r.o., 2002.
- [17] Kol.: Integra XL, spektrometr s indukčně vázanou plazmou. Manuál. GBC Scientific Equipment Pty Ltd. Dandenong 1996.
- [18] DOŁHAŃCZUK-ŚRÓDKA A., ZIEMBIK Z., KŘÍŽ J., HYŠPLEROVÁ L., WACŁAWEK M.: Estimation of radioactivity dose rate absorbed with ingested mushrooms and related health risk. Proc. ECOpole 2012, 6, (2), 499-503.
- [19] DEMIRBAS A.: Heavy metal bioaccumulation by mushrooms from artificially fortified soils. Food Chemistry 3: 2001, 3, 293–301.
- [20] http://cheminfo.chemi.muni.cz/chem_sekce/predmety/C7300/AES/ICP-OES.pdf
- [21] VÁVROVÁ, Jaroslava. Atomová absorpční spektrometrie [online]. 2008 [cit. 2012-16-02] Dostupný z WWW: <<http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD/hypertext/JVABL.htm>>.
- [22] Štěpánek, V.: Kontinuální monitorovací systémy emisí uhelné elektrárny. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové, 2014. 50 s