

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

---

Študijný program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Alexandra Slota

ATOMIZÁCIA PRCHAVÝCH ŠPÉCIÍ GERMÁNIA V ATÓMOVEJ  
ABSORPČNEJ SPEKTROMETRII S GENEROVANÍM HYDRIDOV

Atomization of volatile germanium species for hydride generation atomic  
absorption spectrometry

Diplomová práca

Vedúci diplomovej práce: RNDr. Jan Kratzer, Ph.D.

Praha 2024

Táto diplomová práca vznikla na Ústave analytickej chémie AV ČR, v.v.i., jeho detašovanom pracovisku v Prahe – Oddelenie stopovej prvkovej analýzy. Konzultantmi tejto práce boli RNDr. Milan Svoboda, Ph.D., RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D. a RNDr. Tomáš Matoušek, Ph.D. Táto práca bola finančne podporená výskumným zámerom Ústavu analytickej chémie AV ČR, v.v.i. (projekt RVO: 68081715) a Grantovou agentúrou Českej republiky (projekty č. 21-05285S a 23-05974K).

## **Prehlásenie**

Čestne prehlasujem, že som túto záverečnú prácu vypracovala samostatne a že som uviedla všetky použité informačné zdroje a literatúru. Táto práca ani jej podstatná časť nebola predložená ku získaniu iného alebo rovnakého akademického titulu.

Som si vedomá toho, že prípadné využitie výsledkov získaných v tejto práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné iba po písomnom súhlase univerzity.

V Prahe dňa 16.05.2024

Bc. Alexandra Slota

## **Pod'akovanie**

Rada by som sa pod'akovala svojmu školiteľovi RNDr. Jan Kratzerovi, Ph.D. za odborné vedenie, ústretovosť, cenné pripomienky a rady počas celej tvorby tejto diplomovej práce. Ďalej by som sa chcela pod'akovať RNDr. Milan Svobodovi, Ph.D. za trpezlivosť a výpomoc v laboratóriu ako aj začlenenie do systému práce v danom laboratóriu. Taktiež patrí vďaka RNDr. Tomáš Matouškovi, Ph.D. za rady a výpomoc s analýzou špecií počas tvorby tejto práce. Som vďačná všetkým kolegom z oddelenia stopovej prvkovej analýzy za priateľský kolektív a príjemné chvíle strávené spolu.

Chcela by som srdečne pod'akovať doc. Mgr. Pavlu Dvořákovi, PhD. a jeho tímu na PřF MU za pomoc pri LIF meraniach. Taktiež veľmi ďakujem RNDr. Oldřichu Benadovi, CSc. z MBÚ AVČR za odborné vedenie, ochotu a rady experimentoch prevedených pomocou elektrónovej mikroskopie a grafickom spracovaní dát.

Na záver by som sa ešte chcela pod'akovať rodičom, partnerke a kamarátom za podporu počas celého magisterského štúdia.

## Abstrakt

Cieľom tejto diplomovej práce bola optimalizácia podmienok atomizácie prchavých špecií Ge pre atómovú absorpčnú spektrometriu s generovaním hydridov (HG-AAS). Vybrané špecie boli anorganické germárium (iGe) a jeho metylsubstituované formy: monometylgermárium (MMGe) a dimetylgermárium (DMGe). Medzi atomizátory, pre ktoré sa vykonali optimalizácie, patrili difúzny plameň (DF), multiatomizátor (MMQTA), dielektrický bariérový výboj (DBD) so sínusovou moduláciou a lepenými elektródami (REF-SIN) alebo naprašovanými elektródami s rektangulárnou moduláciou zdroja vysokého napätia (SE-SW) a nakoniec žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD).

Za optimálnych podmienok atomizácie bola najvyššia citlivosť, okolo 10 ms/ng, nájdená v DBD atomizátoroch. Výhodou SE-SW konfigurácie, oproti REF-SIN usporiadaniu, je lepší tvar pík a opakovateľnosť meraní. Atomizátory ako DF a MMQTA poskytovali porovnateľnú citlivosť, ktorá bola asi 5-krát nižšia než v DBD. APGD atomizátor bol jediný zo študovaných atomizátorov, v ktorom nebola dosiahnutá porovnateľná citlivosť pre všetky tri špecie Ge. Citlivosť pre obidve metylované špecie bola približne polovičná než pre iGe (3,0 ms/ng).

V rámci štúdie mechanizmu bola vylúhovacími experimentmi preukázaná vysoká miera depozície Ge vo všetkých typoch atomizátorov, okrem DF, dosahujúci 40 – 75 %, čo svedčí o vysokej reaktivite a rýchlom zániku voľných atómov. Atomizácia GeH<sub>4</sub> bola v DBD (SE-SW) a APGD atomizátoroch detailnejšie študovaná pomocou laserom indukovanej fluorescencie (LIF), ktorá umožnila vizualizovať priestorovú distribúciu voľných atómov a kvantifikáciu účinnosti atomizácie. Účinnosť atomizácie dosahovala v APGD 75 %, zatiaľ čo v DBD nepresahuje 5 %. Pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM) a energiovo disperznej röntgenovej spektroskopie (EDS) bola študovaná tvorba depozitov Ge v DF atomizátore. Vznikajúca vrstva nie je homogénna a je pravdepodobne tvorená klastrami elementárneho Ge.

Kľúčové slová:

atómová absorpčná spektrometria, germárium, monometylgermárium, dimetylgermárium, generovanie hydridov, difúzny plameň (DF), multiatomizátor (MMQTA), dielektrický bariérový výboj (DBD), žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD), atomizácia prchavých zlúčenín

## Abstract

The aim of this thesis was to optimize the atomization conditions of volatile Ge species for hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS). The selected species were inorganic germanium (iGe) and its methyl-substituted forms: monomethylgermanium (MMGe) and dimethylgermanium (DMGe). The atomizers for which optimizations were performed included diffusion flame (DF), multi-atomizer (MMQTA), dielectric barrier discharge (DBD) either with sinusoidal modulation of the high voltage source and glued electrodes (REF-SIN) or sputtered electrodes with rectangular high voltage waveform modulation (SE-SW), and finally atmospheric pressure glow discharge (APGD).

Under optimal atomization conditions, the highest sensitivity, around 10 ms/ng, was found in DBD atomizers. The advantage of the SE-SW configuration, compared to the REF-SIN arrangement, is better peak shape and repeatability of the measurements. Atomizers such as DF and MMQTA provided mutually comparable sensitivity, which was about 5 times lower than in DBD. The APGD atomizer was the only atomizer studied in which the sensitivity was not comparable among Ge species. The sensitivity for both methylated species was about half that for iGe (3.0 ms/ng).

As part of the mechanistic study, high Ge deposition rates in all types of atomizers, except DF, were demonstrated by leaching experiments, reaching 40-75%, indicating high reactivity and rapid decay of free atoms. The atomization of GeH<sub>4</sub> in DBD (SE-SW) and APGD atomizers was studied in more detail using laser-induced fluorescence (LIF) to visualize the spatial distribution of free atoms and to quantify the atomization efficiency. The efficiency reached 75% in APGD, while in DBD it does not exceed 5%. The formation of Ge deposits in the DF atomizer was studied using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS). The layer formed is not homogeneous and is probably composed of clusters of elemental Ge.

Key words:

atomic absorption spectrometry, germanium, monomethylgermanium, dimethylgermanium, hydride generation, diffusion flame (DF), multi-atomizer (MMQTA), dielectric barrier discharge (DBD), atmospheric pressure glow discharge (APGD), atomization of volatile compounds

## Zoznam skratiek a symbolov

AAS	atómová absorpčná spektrometria
AFS	atómová fluorescenčná spektrometria
APGD	žiarivý výboj za atmosférického tlaku (atmospheric pressure glow discharge)
CVG	generovanie prchavých zlúčenín
GD	žiarivý výboj (glow discharge)
DBD	dielektrický bariérový výboj (dielectric barrier discharge)
DF	difúzny plameň
DMDCS	dimetyldichlórorgan
DMGe	dimetylgermánium
EcVG	elektrochemické generovanie
EDL	bezelektrodová výbojka
EDS	energiivo disperzná röntgenová spektrometria
EDTA	kyselina etyléndiamínotetraoctová
EHQTA	externe vyhrievaný kremenný atomizátor
ETA	elektrotermická atomizácia
GD	žiarivý výboj (glow discharge)
GF	grafitová pec (graphite furnace)
GLS	separátor fáz plyn-kvapalina (gas-liquid separator)
HCL	výbojka s dutou katódou
HG	generovanie hydridov
HG/FI-GFAAS	generovaní hydridov s dávkovaním do toku s atómovou absorpciou v grafitovej kyvete
HG-LIBS	spektrometria s laserom budenou mikroplazmou s generovaním hydridov
HPLC	vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
iGe	anorganicky viazané germánium
ICP-MS	hmotnostná spektrometria s indukčne viazanou plazmou
ICP-OES	optická emisná spektrometria s indukčne viazanou plazmou
ICP-TOF-MS	hmotnostná spektrometria doby letu s indukčne viazanou plazmou
IS	interný štandard
L-Cys	L-cysteín

LIF	laserom indukovaná fluorescencia
LOD	limit/medza detekcie
LOQ	limit/medza stanoviteľnosti
MMQTA	kremenný multiatomizátor (multiple microflame quartz tube atomizer)
MMGe	monometylgermánium
OES	optická emisná spektrometria
PET	polyetyléntereftalát
QTA	kremenný atomizátor
REF-SIN	planárne (referenčné) DBD s lepenými elektródami
SEM	skenovacia elektrónová mikroskopia
SE	naprašované elektródy (sputtered electrodes)
SPME	mikroextrakcia na pevnej fáze
SW	rektangulárny zdroj (square wave)
TMGe	trimetylgermánium
TRIS	tris(hydroxymethyl)aminometán
VSG	generovanie prchavých špecií



# Obsah

Zoznam skratiek a symbolov.....	7
1 Úvod.....	12
1.1 Ciele práce.....	12
2 Teoretická časť.....	13
2.1 Germánum.....	13
2.1.1 Biologické účinky germánia.....	14
2.2 Atómová absorpčná spektrometria.....	16
2.3 Generovanie prchavých špecií.....	18
2.4 Atomizátory hydridov používané v AAS.....	22
2.4.1 Grafitové kyvety.....	23
2.4.2 Difúzny plameň (DF).....	23
2.4.3 Vyhrievaný kremenný atomizátor (QTA) a multiatomizátor (MMQTA).....	24
2.4.4 Dielektrický bariérový výboj (DBD).....	26
2.4.5 Žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD).....	28
2.5 Generovanie hydridov germánia a metódy ich stanovenia.....	30
3 Experimentálna časť.....	33
3.1 Použité chemikálie.....	33
3.2 Prístrojové vybavenie AAS.....	34
3.3 Generátor hydridov.....	34
3.4 Atomizátory.....	36
3.4.1 Parametre DF.....	36

3.4.2	Parametre MMQTA .....	37
3.4.3	Parametre DBD .....	38
3.4.4	Parametre APGD .....	41
3.5	Kvantifikácia depozitov Ge .....	42
3.6	Laserom indukovaná fluorescencia (LIF).....	43
3.7	Skenovacia elektrónová mikroskopia (SEM) a energiovo disperzná röntgenová spektrometria (EDS).....	45
4	Výsledková časť .....	46
4.1	Optimalizácia HG a stanovenie účinnosti generovania špecií.....	46
4.1.1	Optimálne podmienky generovania prchavých špecií Ge.....	46
4.1.2	Stabilita signálu s L-Cysteínom .....	46
4.1.3	Účinnosť generovania .....	49
4.2	Optimalizácia podmienok v DF .....	51
4.2.1	Vplyv sušidla.....	51
4.3	Optimalizácia podmienok v MMQTA .....	52
4.3.1	Vonkajší prívod vzduchu.....	52
4.3.2	Prietok nosného plynu.....	53
4.3.3	Atomizačná teplota.....	54
4.3.4	Vplyv sušidla.....	55
4.4	Optimalizácia podmienok v DBD .....	56
4.4.1	DBD v usporiadaní REF-SIN .....	56
4.4.1.4	Vplyv sušidla.....	58

4.4.2 DBD v usporiadaní SE-SW .....	59
4.5 Optimalizácia podmienok v APGD .....	63
4.5.1 Vplyv prítomnosti sušidla .....	63
4.5.2 Prietok plazmového plynu .....	64
4.5.3 Optimalizácia hodnoty vysokého napätia .....	65
4.5.4 Porovnanie rôznych kusov APGD atomizátorov .....	66
4.6 Analytické charakteristiky .....	67
4.7 Mechanizmus atomizácie .....	71
4.7.1 Stanovenie deponovanej frakcie Ge.....	71
4.7.2 Distribúcia voľných atómov a stanovenie atomizačnej účinnosti pomocou LIF.....	74
4.7.3 Charakterizácia depozitu Ge pomocou SEM a EDS.....	78
5 Záver.....	81
Citovaná literatúra .....	84

# 1 Úvod

## 1.1 Ciele práce

Cieľom tejto práce bolo optimalizovať podmienky stanovenia troch analyticky významných špecií germánia metódou atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS) s technikou generovania hydridov (HG). Vybrané analyty boli anorganicky viazané ióny germaničité ( $\text{Ge}^{4+}$ ; iGe), ióny monometylgermaničité ( $\text{CH}_3\text{Ge}^{3+}$ ; MMGe) a dimetylgermaničité ( $(\text{CH}_3)_2\text{Ge}^{2+}$ ; DMGe). Cieľom práce bolo optimalizovať podmienky atomizácie príslušných prchavých špecií germánia vznikajúcich v HG, konkrétne hydridu germánia  $\text{GeH}_4$  a jeho dvoch metylsubstituovaných derivátov:  $\text{CH}_3\text{GeH}_3$  a  $(\text{CH}_3)_2\text{GeH}_2$ .

Celkovo sa skúmali štyri rôzne typy atomizátorov prchavých zlúčenín. Išlo o difúzny plameň (DF), vyhrievaný kremenný multiatomizátor (MMQTA), plazmový dielektrický bariérový výboj (DBD) a žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD). DBD atomizátor sa študoval v dvoch konfiguráciách, ktoré sa líšili typom zdroja vysokého napätia a typom použitých elektród. Následne boli typy atomizátorov porovnávané na základe ich citlivosti.

Posledným cieľom tejto práce bolo štúdium mechanizmu atomizácie hydridu anorganického germánia a interakcie voľných atómov germánia s povrchom atomizátorov pomocou rôznych spektrometrických metód. Účinnosť atomizácie a priestorová distribúcia voľných atómov Ge boli získané pomocou laserom indukovanej fluorescencie (LIF). Frakcia usadenín germánia v atomizátoroch súvisiaca s interakciou voľných atómov s vnútorným povrchom atomizátora sa stanovila pomocou hmotnostnej spektrometrickej detekcie s indukčne viazanou plazmou (ICP-MS) stanovením celkového obsahu germánia vo výluhoch atomizátora. Usadená frakcia analytu sa charakterizovala skenovacou elektrónovou mikroskopiou (SEM) a energiovo disperznou röntgenovou spektroskopiou (EDS).

## 2 Teoretická časť

### 2.1 Germánum

Germánum, skrátene Ge, patrí do 14. skupiny a 4. periódy v tabuľke chemických prvkov. Nachádza sa na takzvanej "diagonálnej línii" naprieč p-blokom, ktorá delí prvky kovového charakteru od nekovových. Germánum je klasifikované ako polokov [1]. Germánum (podobne ako kremík) v pevnom stave vykazuje kovalentnú štruktúru typu diamantu, ale má výrazne nižší elektrický odpor ako diamant, čo naznačuje vlastnosti kovu.

Jeho existencia ako prvku s miestom medzi kremíkom a cínom bola predpovedaná v roku 1864 J.A.R. Newlandsom a potom neskôr v roku 1871 D.I. Mendelejevom, ktorý ho špecifikoval ako „ekasilicium“. Následne v roku 1886 prvok objavil K.A. Winkler počas analýzy agryroditu ( $\text{Ag}_8\text{GeS}_6$ ), nového a vzácneho minerálu. Nazval ho „germánum“, z latinského slova *Germania* – Nemecko, na počesť objavu v nemeckom meste Freiberg [2], [3], [4].

Germánum je veľmi krehký prvok bielej až sivastej farby a submetalického lesku. V tabuľke chemických prvkov sa nachádza ako tretí v poradí v 14. skupine s atómovým číslom 32 a relatívnou atómovou hmotnosťou 72,61 [2]. Germánum nie je toxické [5], [3] a vykazuje výbornú tepelnú vodivosť. Označuje sa za polovodič, jeho elektrický odpor závisí od jeho teploty a čistoty. Hustota germánia v kvapalnom stave je väčšia než v pevnom skupenstve [4].

V zemskej kôre je obsah germánia iba 1,8 ppm, vyskytuje sa v rôznych mineráloch (agryrodit, germanit, briarit), ako stopový prvok sa nachádza v uhlí a depozitoch striebra, medi či zinku [4]. Surový polokov je možné získať z prachu zo spalín počas extrakcie zinku z rúd či redukciou  $\text{GeO}_2$  s  $\text{H}_2$  alebo C. Pomocou zónového (pásmového) tavenia sa získava ultračisté germánum, ktoré sa využíva pri výrobe polovodičov, elektroniky alebo v elektrotechnickom priemysle [1]. Typické oxidačné stavy pre germánum sú  $\text{Ge}^{2+}$  a  $\text{Ge}^{4+}$ . Tieto špecie sú najčastejšie zastúpené v zložkách životného prostredia [5].

Zlúčeniny vyskytujúce sa v prírode sú monometylgermánum (MMGe) a dimetylgermánum (DMGe), ktoré vznikajú mikrobiologickou aktivitou v kontinentálnych zónach bohaté na Ge minerály. Následne sa vymývajú do riek a potom do otvoreného mora [6]. Doposiaľ neboli vydané publikácie potvrdzujúce výskyt trimetylgermánia (TMGe) v prírodných vodách [7]. V morskej vode sa tvorí 70 % rozpustených foriem MMGe [8]. Okrem toho bolo niekoľko publikácií, v ktorých sa uvádza, že úroveň koncentrácie germánia vo

vzorkách podzemnej vody sa pohybuje od 10 ng/L do 10 µg/L [9]. Niektoré štúdie podporujú predpoklad, že prítomnosť metylovaných špecií Ge je pravdepodobne oddelená od biogeochemického kolobehu tohto prvku. V morských vodách boli zaznamenané koncentrácie MMGe v rozsahu 20-28 ng/L a DMGe v rozsahu 5-9 ng/L [7].

Priemyselný dopyt po germániu je pomerne nízky, ale zďaleka nie nedôležitý. Využíva sa najmä v katalyzátoroch pri výrobe plastov, napríklad polyetylentereftalátu (PET), vo vláknovej optike, elektronike aj solárnej technike. V optických prístrojoch sa používa GeO<sub>2</sub>. Vďaka jeho vlastnostiam (prídavok Ge zvyšuje index lomu) je obzvlášť užitočný pre širokohlé objektívy, mikroskopiu a pre jadro optických vlákien [4]. PET sa vyrába polymerizáciou monomérov kyseliny tereftalovej a etylénglykolu s použitím katalyzátorov na báze antimónu, titánu alebo germánia [10]. Viac ako 60 % Ge, ktoré sa použilo je recyklované [1], [2].

Germánium je považovaný za technologicky kritický prvok (TCE) [11] a využíva sa v širokej škále elektronických a priemyselných aplikácií. S nárastom používania moderných technológií dochádza k väčšiemu uvoľňovaniu TCE do životného prostredia, čo zvyšuje záujem vedeckej komunity o prírodné procesy spojené s týmito prvkami a ich potenciálny vplyv na živé organizmy, a tým aj na ľudské zdravie [8]. Aktuálne významné medzery v poznatkoch týkajúcich sa technologicky kritických prvkov (TCE), od ich množstva v životnom prostredí a interakciách, po ich možný (eko)toxikologický vplyv, sú predovšetkým výsledkom dvoch faktorov: a) ich zvyčajne extrémne nízke koncentrácie, čo spôsobuje, že ich analytická identifikácia je veľmi zložitá alebo náročná na čas, a b) nedostatok významnej priemyselnej histórie, okrem niektorých biomedicínskych aplikácií, pred ich súčasným rozsiahlym využívaním v dôsledku nárastu nových technologických aplikácií [12].

Vysoký dopyt germánia kvôli jeho polovodičovým vlastnostiam prispel ku zlepšovaniu jeho výroby. Germánium má široké využitie v oblasti elektroniky, ktorá sa posúva k výrobe menších a výkonnejších zariadení [13]. Spotreba germánia v minulosti činila približne 114 ton v roku 1982, svetová výroba bola odhadnutá na 44 ton v 2003 a 50 ton v 2005, neskôr v roku 2012 to stúplo na 128 ton [13]. Zásoby germánia sa nachádzajú v Rusku, Číne a Namíbii [4].

### **2.1.1 Biologické účinky germánia**

Napriek tomu, že germánium nie je esenciálny prvok pre organizmy, dokáže ich stimulovať. Rôzne organické zlúčeniny germánia vykazujú karcenostatický (ničí rakovinové bunky) účinok ako napríklad spirogermánium (dimetylgermaniumoxid) [4]. Propagermanium pôsobí aktivačne na imunitný systém. Akútna toxicita germánia je veľmi nízka [5].

$\beta$ -karboxyetylgermániumsekvioxid (známy aj ako Ge-132) bol pravdepodobne jednou z najvýznamnejších zlúčenín germánia, ktorý preukázal protinádorový účinok, inhibičný účinok na amyloidózu (depozícia amyloidu v orgánoch) a schopnosť modulovať imunitnú odpoveď. Tieto vlastnosti umožňujú jeho využitie ako liečivo proti nádorom a imunitný adjuvans (látka stimulujúca imunitnú odpoveď na súčasne podané antigény) v klinických aplikáciách [14].

Vysoké dávky germánia sú však toxické, dávka sa pohybuje okolo 15-300 g podávaná chronicky a škodí obličkám. Spomínaný dimetylgermaniumoxid vo vyšších dávkach vyvoláva malformáciu plodu. Medzi toxické patria aj hydridy ako  $\text{GeH}_4$  a  $\text{Ge}_2\text{H}_6$  [15]. Prírodné germánium je málo rozpustné vo vode, preto má nízku orálnu toxicitu. Na rozdiel od toho, rozpustné soli germánia sú nefrotoxické. S halogénmi alebo vodíkom tvorí germánium zlúčeniny, ktoré sú dráždivé, ako napríklad už spomínaný hydrid  $\text{GeH}_4$  [4].

Experimentálne dáta u zvierat poukazujú na toxicitu germánia, viazaného v anorganických i v organických zlúčeninách, ktoré sa rýchlo a takmer úplne absorbuje z pľúc a gastrointestinálneho traktu [13]. Pre ľudí je najčastejšiu formou príjmu germánia práve jedlo. Potraviny, ako napríklad cesnak, ženšen, ovos, morské plody a paradajková šťava môžu obsahovať určité množstvo tohto kovu, ktorý sa veľmi dobre vstrebáva [16]. Väčšina jedla pôvodom z Európy obsahuje hladinu germánia menej ako 1 mg/kg, z čoho vyplýva denný príjem 0,4-3,5 mg Ge [6].

V morskej vode boli identifikované dve špecie germánia: monometylgermánium ( $\text{CH}_3\text{Ge}^{3+}$ ) a dimetylgermánium ( $(\text{CH}_3)_2\text{Ge}^{2+}$ ). Obe tieto zlúčeniny sú však nereaktívne [17] a tým pádom o ich toxicite je známe málo. Tieto špecie majú na rozdiel od iGe rovnaký hĺbkový koncentračný profil, teda nezávisle od hĺbky zberu vzorky vo vodách je ich koncentrácia rovnaká [18].

V 70. a 80. rokoch 20. storočia vznikla laboratórna štúdia, ktorej výsledky viedli k odporučeniu užívať anorganické a organické prípravky germánia ako doplnok stravy. Očakávali sa priaznivé účinky na rôzne ochorenia vrátane imunodeficiencie, rakoviny, srdcových ochorení, artritídy a duševných chorôb. Avšak, neskôr boli hlásené prípady zlyhania obličiek u užívateľov týchto doplnkov. Počiatočné príznaky zahŕňali anorexiu, stratu hmotnosti, únavu a svalovú slabosť. Tieto príznaky sa následne zhoršovali a vyústili do poruchy funkcie obličiek a zlyhania, ktoré môže byť smrteľné. V prípade kumulatívnych dávok germánia nad

20 g sa vyskytlo smrteľné zlyhanie obličiek. Aj keď niektorí pacienti prežili, ich obličky sa nedokázali úplne zotaviť do normálneho stavu [19],[20].

## 2.2 Atómová absorpčná spektrometria

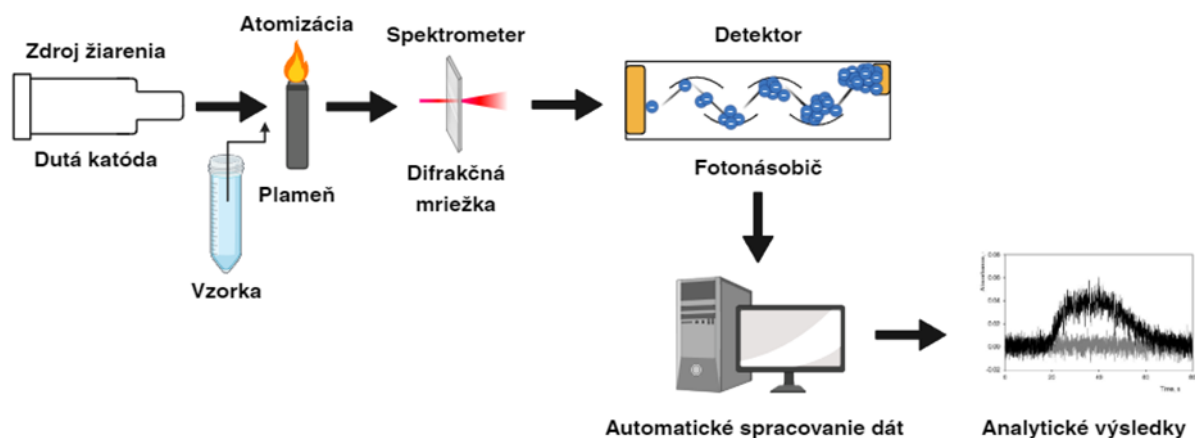
Atómová absorpčná spektrometria (AAS) je jednou z najrozšírenejších metód analýzy prvkov [21]. Základom tejto techniky je meranie špecifického pohlcovania elektromagnetického žiarenia voľnými atómami prvkov.

Pri absorpcii tohto žiarenia dochádza k prechodu atómov do vyšších energetických stavov. V AAS je meranou veličinou absorbancia, ktorá je podľa Lambertovho-Beerovho zákona úmerná koncentrácii stanovovaného prvku. Pre zriedené roztoky platí vzťah:

$$A = -\log\left(\frac{\Phi}{\Phi_0}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot l,$$

kde  $A$  je absorbancia,  $\Phi$  je intenzita žiarenia po prechode absorbovaným prostredím,  $\Phi_0$  je intenzita žiarenia zo zdroja,  $\varepsilon$  je atómový absorpčný koeficient,  $c$  je koncentrácia analytu a  $l$  je dĺžka absorpčného prostredia.

Samotné stanovenie sa uskutočňuje pomocou atómového absorpčného spektrometra, ktorý je vysoko selektívny a citlivý prístroj, skladajúci sa z niekoľkých hlavných častí: zdroja primárneho žiarenia, atomizátora, ktorý produkuje voľné atómy analytu, monochromátora a detektora.

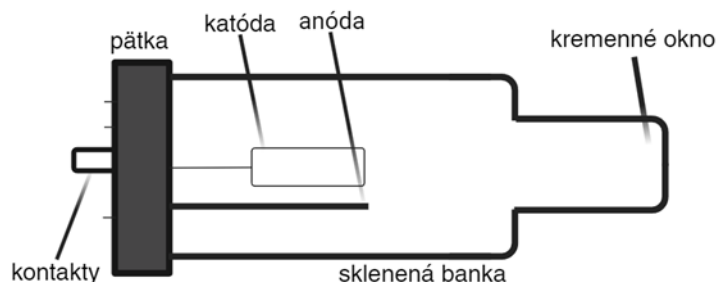


Obrázok č. 1: Schéma plameňovej atómovej absorpčnej spektrometrie, prevzaté [22] a upravené v BioRender.com.

Primárne žiarenie je obvykle generované pomocou výbojky s dutou katódou (hollow cathode lamp - HCL). Katóda je vyrobená z materiálu zhodného s analyzovaným prvkom, jeho zliatiny alebo je pokrytá vrstvou tohto prvku. Tento typ výbojky emituje čiarové spektrum.



Žiarenie z výbojky je absorbované atómami analyzovaného prvku pri konkrétnych vlnových dĺžkach. Anóda, umiestnená v tejto výbojke, je vyrobená z kovu s vysokou teplotou topenia, ako je Zr, Ti alebo Ta, a výbojka je naplnená inertným plynom, ako je argón alebo neón. Ďalšími alternatívami sú bezelektrodové výbojky alebo laditeľné farebné lasery, avšak ich využitie je obmedzené vysokými nákladmi [22].



Obrázok č. 2: Schéma výbojky s dutou katódou, prevzaté [22] a upravené v BioRender.com.

Pri AAS dochádza v atomizátore k atomizácii analyzovaného prvku, čo znamená jeho prevedenie do stavu voľných atómov v základnom stave. Existujú tri hlavné techniky atomizácie v atómovej absorpčnej spektrometrii. Podľa typu používaného atomizátora sa atómová absorpčná spektrometria delí na nasledovné techniky: F-AAS (plameňová AAS), ETA-AAS (elektrotermická atomizácia-AAS) a VSG-AAS (technika generovania prchavých špecií, predtým označovaná ako generovanie hydridov-AAS).

1) Plameňová technika: V tejto metóde sa na atomizáciu používa plameň tvorený zmesou paliva a okysličovadla, najčastejšie acetylén-vzduch alebo acetylén-oxid dusný. Kvapalná vzorka sa do plameňa zavádza pomocou dávkovača (pneumatický zhmľovač), ktorý vytvára aerosól malých kvapiek analytu.

2) Elektrotermická atomizácia: Táto technika zahŕňa dávkovanie veľmi malého objemu vzorku (10-50  $\mu\text{L}$ ) do špeciálnej, veľmi drobnej kyvety, ktorá je odporovo vyhrievaná. Kyvety musia byť vyrobené z vodivého materiálu, najčastejšie elektrografitu, schopného odolať vysokým teplotám a odolného voči chemickému pôsobeniu. Atomizácia prebieha rýchlym zahrievaním kyvety vysokou hodnotou elektrického prúdu.

3) Technika generovania prchavých zlúčenín (VSG): Táto technika zahŕňa reakciu, pri ktorej sa analyt prevedie na prchavú zlúčeninu, často hydrid. Generovanie prchavých zlúčenín je možné dosiahnuť chemickou reakciou, fotochemicky alebo elektrochemicky. Prchavá zlúčenina sa následne oddelí a atomizuje, najčastejšie v kremennom atomizátore. Chemické

generovanie hydridov, je najbežnejším prístupom, ale zároveň je obmedzené na niektoré prvky, ako sú As, Se, Te, Ge, Bi, Sn, Sb a Pb. Použitím redukčného činidla v kyslom prostredí (napríklad  $\text{NaBH}_4 + \text{HCl}$ ) sa generuje plynný hydrid prvku. Analyt sa potom prevádza nosným plynom do atomizátora, kde už pri malom množstve energie dochádza k jeho rozkladu a vzniku voľných atómov analytu [22].

Po atomizácii analytu v atomizátore, monochromátor izoluje najintenzívnejšiu rezonančnú čiaru. Zaznamenáva sa oslabenie pôvodného toku žiarenia alebo absorpcia žiarenia voľnými atómami na danej vlnovej dĺžke. Disperzný systém v AAS má vstupnú a výstupnú štrbinu. Je nevyhnutné vybrať spektrálny interval tak, aby bola intenzita čo najvyššia, a zároveň aby detektor nesnímal žiarenie z neabsorbovaných čiar spektra primárneho zdroja. Hlavnou úlohou monochromátora je separácia vhodného intervalu vlnových dĺžok zo spektra. Veľkosť intervalu sa určuje veľkosťou výstupnej štrbiny monochromátora. Typický spektrálny interval AAS spektrometrov je 0,2 do 2,0 nm [23].

Ďalšou dôležitou súčasťou prístroja je fotonásobič, ktorý slúži na detekciu dopadajúceho žiarenia. Fotonásobič je sklenená banka s vákuom, pričom má vstupné okno vyrobené z kremeňa. Vnútri sa nachádza fotocitlivá katóda, anóda a systém 9 až 13 dynód. Keď fotón narazí na svetlo-citlivú vrstvu, vyvolá uvoľnenie elektrónu, ktorý je potom zrýchlený v elektrickom poli a pritiažený k jednej z dynód. Dopad elektrónu na dynódu vyvolá uvoľnenie niekoľkých sekundárnych elektrónov (maximálne 4), ktoré sú pritiažené k ďalšej dynóde. Tento proces vytvára postupnú lavínu elektrónov, ktorých počet rýchlo narastá s každým dopadom. Fotonásobič má vysokú lineárnu odozvu (5-6 stupňov) a nízku časovú konštantu ( $10^{-8} - 10^{-9}$  s), čo umožňuje rýchle merania v širokom rozsahu intenzít [23].

### **2.3 Generovanie prchavých špecií**

Generovanie prchavých špecií (VSG) je súbor techník a prístupov, ktoré vedú k premene analytu z kvapalnej fázy na prchavú zlúčeninu v plynnej fáze. Je to derivatizačná technika používaná v stopovej prvkovej analýze na účinné zavedenie analytu do spektrometrického detektora. Okrem toho tento postup oddeľuje analyt od matrice, čím znižuje riziko potenciálnych interferencií. Prístupy VSG možno kategorizovať buď vzhľadom na typ reakcie vedúcej k tvorbe prchavej zlúčeniny analytu, alebo vzhľadom na chemickú štruktúru vytvorenej prchavej špecie.

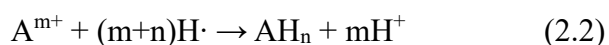
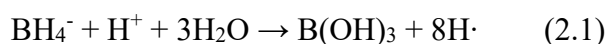
Generovanie prchavých špecií je možné realizovať niekoľkými spôsobmi. Najstarším prístupom je chemické generovanie (CVG); kedy je analyt prevedený chemickou reakciou

(redukciou) na prchavú zlúčeninu, elektrochemické generovanie; kedy sa k redukcii využíva elektrický prúd a fotochemické generovanie; kedy premena na prchavú zlúčeninu je dosiahnutá radikálovou reakciou vyvolanou pôsobením UV žiarenia na vzorku v prítomnosti organických kyselín s nízkou molekulovou hmotnosťou [24],[25],[26],[27].

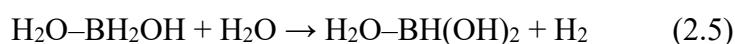
Elektrochemické generovanie (EcVG) využíva elektrický prúd k redukcii analytu, tým pádom nie je potrebná prítomnosť chemického redukčného činidla ( $\text{NaBH}_4$ ), čo sa považuje za výhodu, nakoľko je reagent nestabilná a je potrebné ju pripraviť denne, či uchovávať zmrazenú. Mnohokrát sa považuje tento roztok za zdroj rôznych kontaminácií počas analýzy. Mechanizmus generovania pomocou elektrického prúdu je založený na difúzii analytu z roztoku na povrch katódy a následne k jeho redukcii. Redukovaný analyt vzápätí reaguje s vodíkom, ktorý je produkovaný katódou za vzniku prchavej zlúčeniny. Nakoniec dochádza k uvoľneniu prchavej zlúčeniny z povrchu elektródy [28],[25],[29],[30].

Alternatívou generovania prchavých zlúčenín, ktorá je odolná voči interferenciám, minimalizuje odpad a má takmer nulový negatívny dopad na životné prostredie je UV-fotochemické generovanie (UV-PVG). Tvorba prchavej zlúčeniny sa vyvoláva pomocou UV žiarenia v kyslom prostredí organickej kyseliny, napríklad kyselina octová, mravčia, malónová či propionová. UV žiarenie je zdrojom pre radikálovú reakciu fotolýzy organickej kyseliny, a vďaka tomu sa analyt prevádza na prchavú zlúčeninu. Pri fotochemickom generovaní sa využíva argón ako nosný plyn [31],[26],[32].

Najrozšírenejšiu metódou je však chemické generovanie (CVG). Najbežnejším typom generovaných prchavých zlúčenín sú hydridy, v tomto konkrétnom prípade tento postup označujeme ako generovanie hydridov (HG). Reakciou analytu v kyslom prostredí s redukčným činidlom vzniká hydrid. Najčastejším redukčným činidlom v HG je tetrahydridboritan sodný ( $\text{NaBH}_4$ ), bežne sa na vytvorenie kyslého prostredia využíva kyselina chlorovodíková o rôznych koncentráciách [28]. Roztok  $\text{NaBH}_4$  sa stabilizuje približne 0,3-0,5 % roztokom hydroxidu draselného. Pôvodná verzia mechanizmu redukcie analytu počas hydrolyzy borohydridu sodného je možné opísať súhrnne rovnicami uvedenými nižšie, kde A je analyt a m,n sú stechiometrické koeficienty [33]:



Proces redukcie analytu na hydrid zahŕňa sériu reakcií s medziproduktami vytvorenými počas hydrolyzy NaBH<sub>4</sub>. Tento postup umožňuje uvoľnenie hydridu analytu do plynnej fázy s pomocou plynného vodíka, ktorý vzniká počas procesu. Okrem plynného vodíka sa vytvára aj kyselina boritá prostredníctvom hydrolyzy BH<sub>4</sub><sup>-</sup> vo vodnom roztoku, ako popisujú nasledujúce chemické rovnice (2.3–2.6). Plynný hydrid analytu je následne oddelený od kvapalnej matrice v separátore fáz a prenesený pomocou nosného plynu, väčšinou sa jedná o argón (Ar) alebo dusík (N<sub>2</sub>), do detektora [34].



HG je možné využiť pre stanovenie prvkov tvoriace binárne hydridy ako napríklad arzén, bizmut, germánium, antimón, selén, telúr, cín, indium, olovo či tálium [35],[36],[28]. Hydridové generovanie je účinnou technikou pre stanovovanie analytov v strede a v spodnej časti skupín IV., V. a VI v periodickej tabuľke chemických prvkov [37]. Tvorba prchavého hydridu z kvapalnej formy vzorku má rovnaké výhody ako ostatné techniky VSG, tým pádom umožňuje eliminovať maticiu vzorky, a tým zmiernuje chemické interferencie [27]. Zvyšuje účinnosť zavedení analytu do detektora (v prípade HG sa približuje k 100 %) a následne zvyšuje citlivosť a poskytuje nízke limity detekcie (LOD) [24],[38].

Ako už bolo spomenuté vyššie, generované prchavé zlúčeniny môžu mať rôznu štruktúru. Okrem hydridov a "studených" ortuťových pár (Hg<sup>0</sup>), ďalšie analyticky užitočné prchavé zlúčeniny sú alkylderiváty, cheláty, halidy a oxidy. Niektoré štúdie úspešne popisujú chemické generovanie foriem vzácnych a prechodných prvkov ako striebro [39], zlato [40], zinok [41], indium [37] či kadmium [42],[38]. V niektorých prípadoch sú prchavou formou nanočastice (Ag, Au, Cu, Pd) [27]. V prípade chemického generovania kadmia sa jedná, v závislosti na experimentálnych podmienkach použitých v kroku generovania, o studené pary (Cd<sup>0</sup>) a/alebo hydrid (CdH<sub>2</sub>) [36]. Významnou skupinou zlúčenín, ktoré je možné fotochemickou reakciou previesť na prchavé špecie sú prchavé karbonyly, napríklad Fe, Co, Ni, Ru, Rh, Ir, Mo, W, apod.

Chemická špeciácia prvkov je dnes spoločne so stanovením celkového obsahu prvku dôležitou úlohou v stopovej prvkovej analýze. Jednotlivé špecie rovnakého prvku sa môžu

významne líšiť vo svojich fyzikálne-chemických vlastnostiach a tým pádom i v toxicite, mobilite v životnom prostredí, biodostupnosti, apod. Prevedenie špeciálnej analýzy je kľúčové pre porozumenie biologických cyklov určitých prvkov v prostredí. Generovanie prchavých zlúčenín sa výhodne aplikujú aj v špeciálnej analýze.

V prípade niektorých hydridotvorných prvkov je možné HG využiť pre špeciálnu analýzu oxidačného stavu anorganicky viazaného hydridotvorného prvku. Generovanie hydridov Se a Te je obmedzené na isté typy špecií, preferujúce nižší oxidačný stav. Priamo je teda možné generovať hydridy Se a Te len z roztokov obsahujúcich štvormocný Se a Te. Ich šesťmocné formy nie sú tzv. hydridovo aktívne. Až po prevedení predredukcie z šesťmocnej formy na štvormocnú je možné previesť prvok na hydrid. Stanovením analytu v dvoch alikvotných vzorkách, bez a s predredukciou, je možné stanoviť obsah štvormocnej formy (bez predredukcie) a súčet oboch foriem (s predredukciou). Obsah šesťmocných foriem sa potom určuje z rozdielu oboch stanovení. Niektoré hydridotvorné prvky sa vo vzorkách môžu vyskytovať, okrem svojich anorganicky viazaných foriem, tiež vo forme jednoduchých organických zlúčenín. Niektoré z nich sú hydridovo aktívne a môžu byť prevedené na prchavú zlúčeninu. Väčšinou sa jedná o alkylsubstituované deriváty príslušného hydridu. Hovoríme vtedy o generovaní alkylsubstituovaných hydridov. Stanovenie týchto foriem vo vzorkách býva dôležité napríklad z toxikologického hľadiska [43].

V prípade germánia sa jedná o dve organické špecie, monometylgermánium (MMGe) a dimetylgermánium (DMGe), ktoré boli identifikované v prírodnom prostredí. Je dôležité poznamenať, že MMGe prevláda v morskej vode. Napriek tomu sú informácie o organických zlúčeninách germánia v životnom prostredí stále obmedzené, kvôli ich veľmi nízkym koncentráciám [44]. Anorganické germánium je možné selektívne generovať bez generovania jeho metylovaných špecií [7]. Príklady organických špecií hydridotvorných prvkov, ktoré tvoria prchavé alkylsubstituované hydridy sú uvedené v Tabuľke č. 1. Ortuť bola zaradená do tabuľky, pretože metylortuť môže byť konvertovaná na príslušný hydrid [28].

Tabuľka č. 1: Vybrané hydridovo aktívne špecie s ich odpovedajúcimi hydridmi, prevzaté a upravené z literatúry [28].

Analyt*		Hydrid
arzén	iAs <sup>+III</sup> ; iAs <sup>+V</sup> ; Me deriváty	AsH <sub>3</sub> ; CH <sub>3</sub> AsH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsH, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> As
antimón	iSb <sup>+III</sup> ; iSb <sup>+V</sup> ; Me deriváty Sb <sup>+V</sup>	SbH <sub>3</sub> ; CH <sub>3</sub> SbH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SbH, (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Sb
bizmut	Bi <sup>+III</sup>	BiH <sub>3</sub>
germánium	iGe <sup>+IV</sup> ; Me deriváty	GeH <sub>4</sub> , CH <sub>3</sub> GeH <sub>3</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> GeH <sub>2</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> GeH
selén	Se <sup>+IV</sup>	SeH <sub>2</sub>
telúr	Te <sup>+IV</sup>	TeH <sub>2</sub>
cín	iSn <sup>+II</sup> , iSn <sup>+IV</sup> , Me, Et, t-butyl deriváty	SnH <sub>4</sub> ; Me, Et a t- butyl substituovaný
ortuť	Hg <sup>+II</sup> , MeHg <sup>+</sup>	Hg; CH <sub>3</sub> HgH
olovo	iPb <sup>+II</sup> , iPb <sup>+IV</sup> , Me, Et, t-butyl deriváty	PbH <sub>4</sub> ; CH <sub>3</sub> PbH <sub>3</sub> , (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> PbH <sub>2</sub> , Et a t- butyl substituovaný

\*Me – metyl; Et – etyl; t – terciárny butyl; i – anorganický.

HG a aj ostatné techniky VSG sú veľmi vhodné techniky na zavedenie analytov do všetkých typov atómových spektrometrických detektorov. Generované prchavé zlúčeniny je možné zavádzať do rôznych atomizátorov v atómovej absorpčnej spektrometrii (AAS) i atómovej fluorescenčnej spektrometrii (AFS), do excitačných zdrojov optickej emisnej spektrometrie (OES) či ionizačného zdroja v hmotnostnej spektrometrii (MS) [35]. V prípade dvoch posledných menovaných detektorov je dnes používaným excitačným/ionizačným zdrojom prakticky výhradne indukčne viazaná plazma (ICP).

## 2.4 Atomizátory hydridov používané v AAS

V tejto kapitole sú bližšie opísané štyri typy atomizátorov využívaných pri atomizácii hydridov, a taktiež boli využívané v tejto diplomovej práci. Jedinou výnimkou sú grafitové kyvety, ktoré neboli pre účely diplomovej práce využité, avšak ich počiatky vo VSG sú významné. Kapitoly nižšie bližšie popisujú ich históriu použitia, aplikácie, výhody či nevýhody a využitia v laboratórnej praxi.

### 2.4.1 Grafitové kvety

Pre atomizáciu hydridov v AAS sa od začiatku techniky generovania hydridov bežne využívajú grafitové kvety (graphite furnace, GF). Existujú dva hlavné spôsoby použitia grafitových pecí: in-situ zachytávanie hydridov v peci a on-line atomizácia [45].

Pri metóde in-situ sa využíva grafitová pec pre prekoncentráciu aj atomizáciu analytu. Hydrid z generátoru sa zachytáva vo vyhriatej grafitovej peci pri teplotách obvykle v rozmedzí 300 - 360 °C, dokým sa nevyvinie všetok hydrid z roztoku vzorku. Potom sa analyt atomizuje pri teplotách zvyčajne nad 2 000 °C. Aby sa zabránilo stratám analytu počas prenosu, hydrid by mal byť do grafitovej kvety unášaný prúdom nosného plynu [45]. Metódy in-situ zachytávania, ktoré kombinujú generovanie hydridov s použitím grafitovej kvety, výrazne zvyšujú citlivosť detekcie v porovnaní s tradičnými spôsobmi detekcie generovania hydridov, či už ide o dávkovú alebo kontinuálnu detekciu, pri ultrastopovom stanovení hydridov kovov [46].

Pri metóde on-line atomizácie sa hydrid priamo prenáša z generátora do vyhriatej kvety, ktorá dosahuje obvykle teplotu vyššiu ako 2200 °C. Avšak, citlivosť tejto metódy je všeobecne nižšia v porovnaní s in-situ zachytávaním [45]. Najvýznamnejšou výhodou on-line atomizácie v GF je o niekoľko rádov lepšia tolerancia voči atomizačným interferenciám ako pri externe vyhrievaných kremenných atomizátoroch (EHQTA) [47].

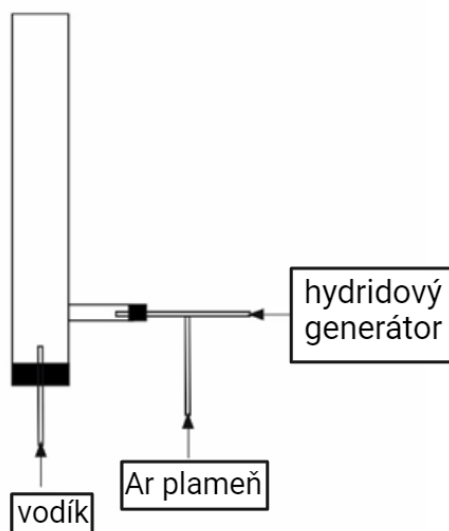
GF však trpí rôznymi nedostatkami, ktoré ovplyvňujú túto metódu. Tieto interferencie môžu byť spôsobené fyzikálnymi faktormi, tvorbou molekulárných zlúčenín v plynnej fáze, ktoré spôsobujú molekulárnu absorpciu, tvorbou termicky stabilných zlúčenín (často karbidov) a interakciami medzi prvkami a plynnými zlúčeninami [48].

### 2.4.2 Difúzny plameň (DF)

V minulosti bol konvenčný vopred zmiešaný plameň (acetylén-vzduch) horiaci na štrbinovom horáku, bežne dodnes využívaný v plameňovej AAS, používaný aj pre atomizáciu hydridov zavedených do plameňa hydridovou technikou. Avšak, vzhľadom na vysoké zriedenie analytu zložkami plameňa, poskytoval nízku citlivosť a vykazoval vysokú nešpecifickú absorpciu. Vysoký šum zhoršoval detekčný limit.

Preto vznikla konštrukcia difúzneho plameňa (DF) pre atomizáciu hydridov. Nakoľko je analyt do atomizátora zavedený už v plynnej fáze a nie vo forme aerosólu, ktorý by musel byť odparený, je potrebné množstvo energie pre atomizáciu menšie. Z toho dôvodu môže byť

plameň menší. Konštrukcia DF je tvorená vertikálnou trubicou z kremenného skla s postranným prívodom plynnej fázy z GLS generátora prchavých špecií. Spodnou časťou trubice je privádzaný vodík z tlakovej nádoby. Na ústí trubice potom horí difúzny plameň, pričom palivom je vodík a okysličovadlom je kyslík difundujúci z okolitej atmosféry. Teplota tohto plameňa je okolo 1300 K a jeho veľkosť závisí na množstve dodávaného vodíka, typicky je výška plameňa 5-10 mm. Zmenšenie plameňa v konštrukcií DF v porovnaní so štrbinovým horákom vedie k významnému zlepšeniu citlivosti a výraznému potlačeniu absorpcie plameňa. Porovnávanie atomizátora voči iným bežne využívaným v AAS je detailnejšie popísané v práci [49] alebo [50]. DF sa považuje za najrobustnejší hydridový atomizátor a má vysokú odolnosť voči atomizačným interferenciám [51]. Jeho citlivosť v AAS je aspoň o jeden rád nižšia v porovnaní s QTA (viz kapitola 2.4.1) kvôli jeho kratšej optickej dĺžke [51]. Používa sa ako najbežnejší hydridový atomizátor v AFS.



Obrázok č. 3: Schéma difúzneho plameňa, prevzaté [52] a upravené v BioRender.com.

### 2.4.3 Vyhrievaný kremenný atomizátor (QTA) a multiatomizátor (MMQTA)

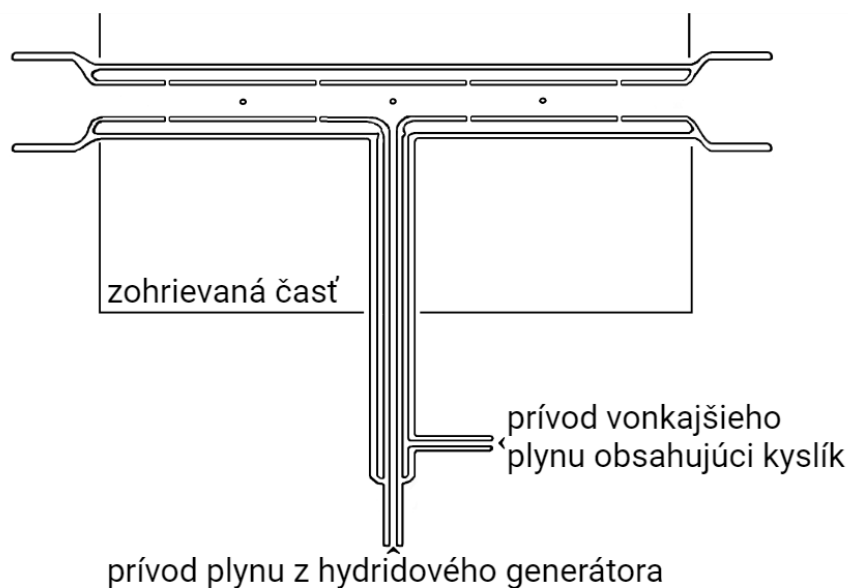
Vyhrievaný kremenný atomizátor (QTA) je najbežnejším atomizátorom hydridov používaný v AAS. Jedná sa o atomizátor z kremenného skla v tvare písmena T. Jeho širšie horizontálne umiestnené rameno (optické rameno) je polohované v optickej ose AAS prístroja a je vyhrievané odporovo v piecke, prípadne plameňom, na atomizačnú teplotu okolo 900 °C. Prívodné rameno je pritavené k optickému ramenu v jeho strede a slúži k zavádzaniu plynnej fázy zo separátora fáz. Tradičný kremenný atomizátor (QTA) často trpí nedostatkami, akými sú nízka odolnosť voči interferenciám spôsobená prchavými látkami, nedostatočná linearita



analytických kalibrácii a zlá opakovateľnosť. Odolnosť QTA voči interferenciám je výrazne nižšia ako u DF, ale vzhľadom na jeho vynikajúcu citlivosť je QTA najčastejšie používaným hydridovým atomizátorom v AAS [49],[34].

Problémy u QTA atomizátora sú spojené s absenciou vodíkových radikálov vo väčšej časti optickej trubice, čo umožňuje vysoko reaktívnym voľným atómom analytu podstúpiť chemické reakcie mimo oblasti radikálov vodíku, a tým dochádza k ich zániku. Multiatomizátor (MMQTA) bol navrhnutý s cieľom vylepšiť vlastnosti QTA, akými sú dosiahnutie lepšieho vyplnenia optickej trubice vodíkovými radikálmi, nakoľko mechanizmus atomizácie molekuly hydridu analytu prebieha práve radikálovým mechanizmom za účasti vodíkových radikálov [49],[34].

MMQTA predstavuje nový prístup k atomizácii v kremenných atomizátoroch. Hlavný rozdiel oproti QTA spočíva v konštrukcii optického ramena MMQTA, ktorý sa skladá z dvoch koncentrických trubíc: vnútornej optickej trubice a vonkajšej trubice. Vnútoraná optická trubica má po svojej dĺžke pravidelne umiestnené malé otvory (zvyčajne 14-16). Výhoda tejto konštrukcie spočíva v riadenom prísune viacerých miniatúrnych prúdov kyslíka či vzduchu do vyhrievanej optickej trubice atomizátora cez tieto otvory. Na vnútornej stene optickej trubice v mieste každého otvoru vznikajú vodíkové radikály v dôsledku reakcie medzi vodíkom privádzaným vnútornou trubicou a kyslíkom privádzaným do priestoru medzi vnútornou a vonkajšou trubicou. Pri vysokých teplotách (800-900 °C) tieto prúdy kyslíka reagujú s vodíkom v atomizátore, a vďaka tomu je väčšia časť vnútorného objemu atomizátora homogénne vyplnená vodíkovými radikálmi, čo zabezpečuje udržiavanie analytu v stave voľných atómov po celej dĺžke optickej trubice [53],[54]. Tento prístup výrazne zlepšuje odolnosť voči atomizačným interferenciám a zaisťuje lepšiu linearitu kalibrácií [51].



Obrázok č. 4: Schéma multiatomizátora, prevzaté [54] a upravené v BioRender.com.

#### 2.4.4 Dielektrický bariérový výboj (DBD)

Dielektrický bariérový výboj (DBD) bol prvý raz predstavený Siemensom v roku 1857 s cieľom generovať ozón [55],[56]. Na začiatku sedemdesiatych rokov 20. storočia sa uskutočnil rozsiahly výskum smerujúci k lepšiemu porozumeniu fyzikálnych a chemických procesov prebiehajúcich v plazme v ozonizátoroch. Tento výskum nielen viedol k zlepšeniu generátorov ozónu, ale aj k rozvoju mnohých ďalších aplikácií založených na dielektrickom bariérovom výboji [56].

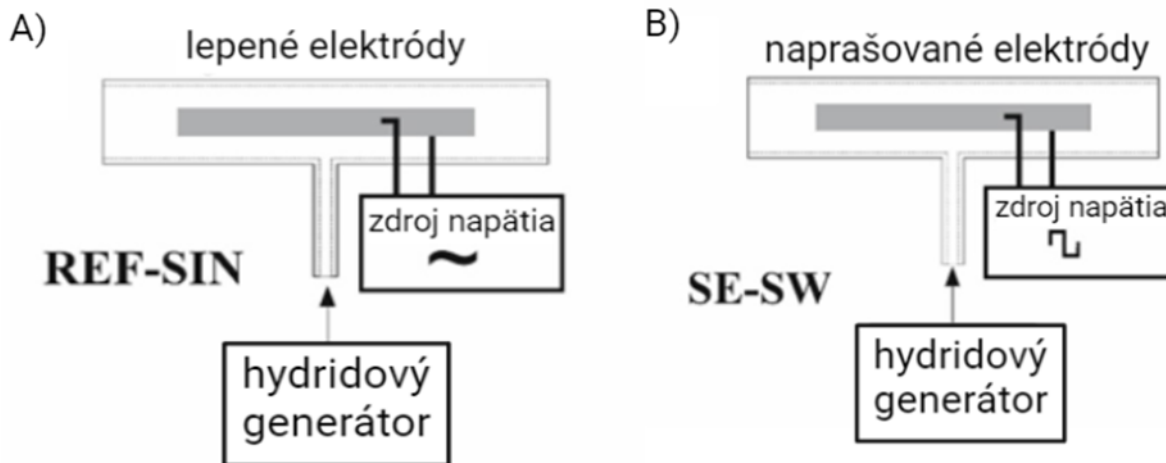
Plazma generovaná v DBD predstavuje jedinečný typ plazmy prevádzkovaný pri atmosférickom tlaku [57]. Táto forma plazmy vzniká medzi dvomi kovovými elektródami, ktoré môžu byť usporiadané buď v dvoch súbežných rovinách pri použití s AAS, alebo cylindricky v spojení s AFS. Vysoké striedavé napätie je vložené medzi tieto elektródy, ktoré sú obklopené dielektrickou vrstvou na ochranu a izoláciu [58],[59]. Kremenné sklo sa často používa ako dielektrikum, ktoré zároveň zabezpečuje oddelenie analytu od kovových elektród, a taktiež chráni elektródy pred poškodením [60].

V analytických aplikáciách je plazma často využívaná na prenos energie do molekúl analytu v plynnej fáze. Tento proces vedie k atomizácii, excitácii alebo dokonca ionizácii analytu, v závislosti od použitého detektora. V minulosti sa na tieto účely v AAS často používal plameň, ale v súčasnosti môže byť DBD plazma konkurencieschopná alebo dokonca schopná

nahradiť plameň, pretože nabité častice, akými sú elektróny a ióny, sú v plazme účinne zahrievané elektrickým poľom [60].

V analytickej chémii sa DBD plazma často využíva v rôznych aplikáciách. Jej energia môže slúžiť na desorpciu analytu z povrchu, kondenzáciu vzoriek alebo na generovanie pár zlúčenín analytu z roztoku. Keďže sa analyt prevedie do plynnej fázy, DBD atomizátor môže slúžiť aj na atomizáciu, excitáciu alebo na mäkkú ionizáciu molekúl analytu. Táto kombinácia desorpcie z povrchu a mäkkej ionizácie, ktorú DBD umožňuje, nachádza široké uplatnenie v hmotnostnej spektrometrii [61]. V hydridovej generácii spolu s detekciou pomocou AAS alebo AFS sa DBD využíva na atomizáciu prchavých zlúčenín, zatiaľ čo v OES slúži navyše aj ako excitačný zdroj [62]. Hlavné výhody DBD plazmy zahŕňajú nízke náklady na prevádzku a výrobu [55],[57] všeobecné využitie, nízku spotrebu energie, nízke prevádzkové teploty a jednoduché ovládanie [60],[63].

DBD atomizátory použité v tejto práci mali usporiadané elektródy v rovine (planárne). Boli študované dva spôsoby nanosenia konfigurácie elektród na kremenné sklo – lepené alebo naprašované. Ďalej boli použité dva rôzne typy zdroja s vysokým striedavým napätím – s moduláciou vysokého napätia funkciami sínus a obdĺžnikovými (rektangulárnymi) pulzmi.

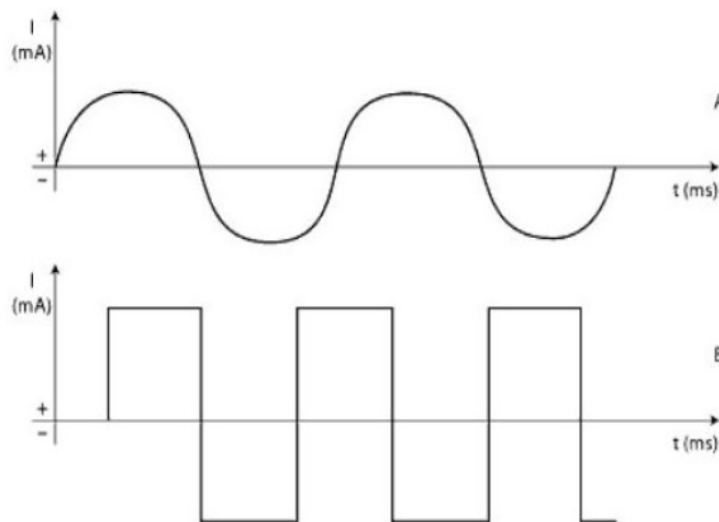


Obrázok č. 5: Popis schémy dielektrického bariérového výboja pre A) lepené elektródy so sínusovým zdrojom napätia a B) naprašované elektródy s rektangulárnym zdrojom napätia. Prevzaté [49] a upravené v BioRender.com.

Pre DBD atomizátor je bežne používaným zdrojom napätia vysoké striedavé napätie so sínusovou moduláciou. Tento sínusový zdroj sa často využíva na napájanie DBD atomizátorov v kombinácii s analytickými technikami, ako sú napríklad AAS, AES alebo AFS. Hlavnou

výhodou sínusového zdroja je jeho relatívne nízka cena a jednoduchá konštrukcia, čo ho robí vhodnou voľbou pre mnohé aplikácie. Avšak, je možné použiť aj iné formy modulácie, najčastejšie obdĺžnikovú (rektangulárnu) moduláciu [64]. Detailnejšie informácie o zdrojoch napätia sú popísané v prácach [65],[66].

Rektangulárny zdroj umožňuje ľahko dosiahnuť dobre definovaný priebeh napätia a prúdu v čase, a má dobrú opakovateľnosť od jednej periódy výboja k druhej. Hlavnou výhodou rektangulárneho zdroja oproti sínusovým zdrojom je generovanie časovo stabilnej plazmy, čo je kľúčovým faktorom pre spoľahlivú prevádzku atomizátora [60],[64].



Obrázok č. 6: Schéma priebehu striedavých prúdov, kde A – sínusový prúd a B – rektangulárny (obdĺžnikový) prúd. Prevzaté z literatúry [67].

#### 2.4.5 Žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD)

Žiarivý výboj (glow discharge, GD) je pomenovaný podľa charakteristickej svetelnej žiary plazmy, ktorá vzniká pri dostatočne vysokom prúde cez výboj. GD je známy z fyziky od začiatku 20. storočia, ale finančne sa dostal z experimentálnej fázy do priemyselného využitia a jeho použitia na rutinnú emisnú spektrochemickú analýzu až v 70. rokoch 20. storočia. V súčasnosti sa používa v mnohých oblastiach, ako je napríklad mikroelektronický priemysel, ochrana životného prostredia, biomedicína a analytická chémia. Typickými aplikáciami sú nanášanie povlakov, zužítkovanie toxických plynov a sterilizácia povrchov [68],[69].

GD je jedným z mnohých typov plynových výbojov. Má charakteristický vzťah medzi prúdom a napätím, a plazma sa zvyčajne vytvára medzi dvoma elektródami v atmosfére inertného plynu. GD sa často prevádzkuje v ušľachtilých plynoch za zníženého tlaku. Nedávno

sa zaviedli aj žiarivé výboje za atmosférického tlaku (APGD). Niektoré štúdie ukazujú, že je možné udržať APGD nielen vo vzácnych plynoch (Ar, He), ale aj v molekulárnych plynoch, v ich zmesiach a dokonca aj vo vzduchu [70],[71],[72]. Existuje štúdia popisujúca žiarivý výboj aj v neóne [73].

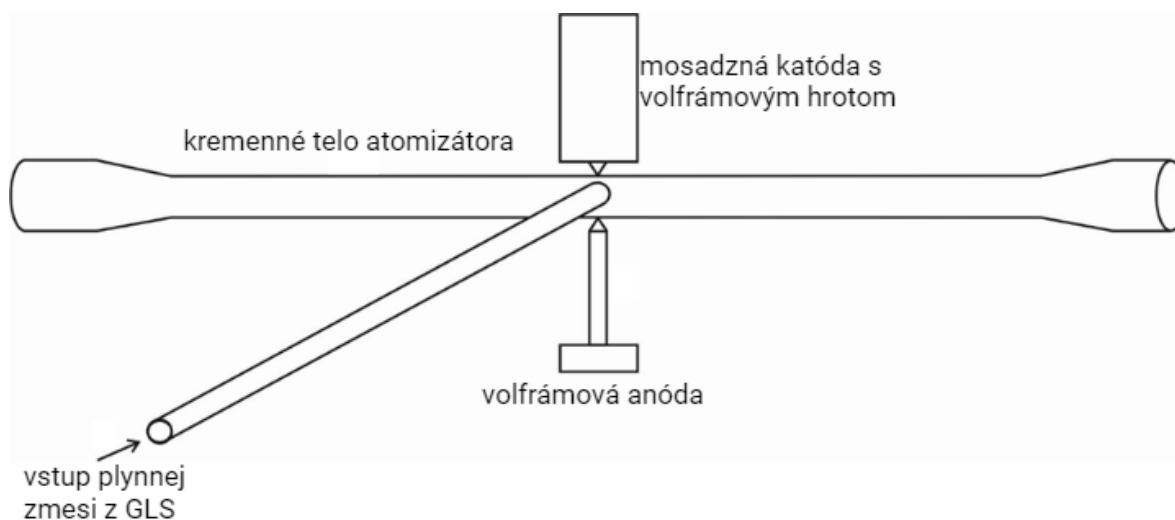
Priestorový vzhľad APGD výboja je charakteristicky rozptýlený, bez streamerov (typ prechodného elektrického výboja) a teplota ich plynu môže byť znížená na teplotu blízku izbovej. Žiarivé výboje pod atmosférickým tlakom sú typicky generované pri frekvenciách od jednosmerného prúdu, sieťovej frekvencie, zvukových frekvencií (1-100 kHz), rádiových frekvencií (rf) a mikrovlnných frekvencií. Z praktického hľadiska sú rf APGD atraktívne pre ich nízke prierazné napätie [74].

Žiarivý výboj za atmosférického tlaku sa vyznačuje schopnosťou excitovať voľné atómy, a tento zdroj mikroplazmy sa obvykle vytvára pri kontakte s kvapalným roztokom vzorky obsahujúcej rozpustené analyty, pričom slúži ako jedna z elektród (LE-APGD z angl. liquid electrode APGD). Avšak, pre prvky s vysokými excitačnými potenciálmi je emisia (OES) neuspokojivo nízka a limit detekcie sa pohybuje na úrovni rádovo v mg/L. APGD je často spájaný s technikou HG, ako napríklad excitačný zdroj pre optickú emisnú spektrometriu na stanovenie Bi [75], Hg, As a Se [76],[72],[77]. Pri spojení APGD s HG sa medzi volfrámovým hrotom a titánovou anódou vytvorí difúzny a stabilný žiarivý výboj. Poskytuje dobrú toleranciu voči prebytku spolugenerovaného vodíka a poskytuje citlivú metódu na stanovenie hydridotvorných analytov, napríklad arzénu (s LOD = 0,25 mg/L), avšak s nízkym výkonom [78].

Hoci sa od roku 1933, keď bola publikovaná prvá práca o APGD [79], uskutočnilo veľa výskumov v tejto oblasti, stále je potrebné vyriešiť niektoré problémy, kým sa APGD plazma bude môcť prakticky a ekonomicky využívať v priemysle. Jeden z problémov je APGD výboj realizovaný v 5 mm alebo dlhšej vzduchovej medzere, pretože pri experimentoch sa zistilo, že vo vzduchovej medzere dlhšej ako 5 mm možno vytvoriť len iskrivý výboj, a nie žiarivý [80]. Pre stabilizáciu homogénneho výboja pri atmosférickom tlaku s 50 Hz napájaním v akomkoľvek plyne bola v roku 1993 vytvorená štúdia, kedy sa vložением jemnej kovovej sieťky medzi kovovú elektródu a dielektrickú vrstvu pozoroval iba jeden homogénny výboj v celej výbojovej medzere počas jednej polovice periódy napätia [81].

Atomizátor na báze APGD výboja použitý v tejto diplomovej práci bol vyvinutý na Oddelení stopovej prvkovej analýzy a je odvodený z kremennej trubice podobnej konštrukcii

QTA. V tomto usporiadaní sa hydrid analytu zavádzal cez vstupné rameno kolmo na plazmu a elektródy. Cez vstupné rameno bol vkladajú prúd vzácneho nosného plynu (Ar, He). Na spodnej i vrchnej strane optického ramena atomizátora boli vytvorené dva symetrické otvory, na ktoré boli položené volfrámové elektródy, mosadzná katóda s volfrámovým hrotom zvrchu a anóda zospodu. Na elektródy bolo zo zdroja jednosmerného prúdu vkladané napätie do maximálnej hodnoty 12 V, ktoré bolo ďalej transformované a vo výsledku naberalo hodnoty rádovo v stovkách voltov. Vznikajúci homogénny výboj bol teda medzi hrotni elektród v trubici atomizátora. Iné konštrukcie atomizátorov APGD je možné nájsť v štúdiách [76].



Obrázok č. 7: Schéma APGD atomizátora vychádzajúca z konštrukcie kremenného QTA. V mieste pripojenia prívodného ramena do optického sa nachádzajú otvory pre elektródy.

## 2.5 Generovanie hydridov germánia a metódy ich stanovenia

Pre stanovenie germánia v biologických alebo environmentálnych vzorkách sa využívajú rôzne spektrometrické metódy ako ICP-MS, AAS, ICP-OES, AFS či spektrofotometria s fenylfluóronom [13]. Vzhľadom na tendenciu tvoriť veľmi stabilné oxidy, germánium vykazuje relatívne nízku citlivosť pri stanovení metódou HG-AAS [82].

Redukcia germánia v roztoku na prchavý hydrid tetrahydridoboritanom sodným a následná detekcia plynného  $\text{GeH}_4$  pomocou AAS, teda za použitia HG-AAS, bola prvýkrát dosiahnutá v práci s relatívne vysokou hranicou detekcie (približne  $0,5 \mu\text{g Ge}$ ) pomocou štandardnej F-AAS [83]. Kombináciou HG techniky s atomizáciou/excitáciou budenou výbojom jednosmerným zdrojom napätia s atómovým emisným detektorom dosiahli detekčný limit  $0,4 \text{ ng Ge}$  [84].

Analýza environmentálnych vzoriek Ge in-situ zachytávaním hydridu germánia v grafitových kyvetách (princíp viz Kapitola 2.4.1) s AAS detekciou poskytuje limity detekcie 3 – 5 ng [85],[86]. Vyššie limity detekcie (18 pg v 1 ml vzorky) je možné dosiahnuť v automatizovanej procedúre s permanentným modifikátorom [87].

Väčšina publikácií stanovuje stopové množstvá Ge generovaním prechavých zlúčenín v kombinácii s kryogénnou pascou (HG-CT). Pre špeciálnu analýzu táto technika umožňuje stanovenie i metylovaných špecií germánia (MMGe a DMGe), kedy sa generované metylované hydridy zachytávajú do pasce v tvare písmena U chladenou tekutým dusíkom a následne sa uvoľnili a separovali postupným zohrievaním [44],[88],[89]. Absolútne LOD pre špecie činili 0,08 pg pre iGe, 0,1 pg pre MMGe a 0,09 pg pre DMGe, až po 0,1 pg pre TMGe s použitím ICP-MS detekcie [44].

Účinnú atomizáciu generovaných a separovaných hydridov germánia však nemožno dosiahnuť bežnými jednoduchými a komerčne dostupnými atomizátormi s kremennou trubicou (QT) pre AAS. Preto sa v dávnejších štúdiách využíval netradičný spôsob online atomizácie v grafitových kyvetách, s využitím atomizačnej teploty 2400 až 2700 °C, poskytujúci limity detekcií pod 1 ng/L pre iGe, MMGe, DMGe a TMGe [88],[82]. Táto metóda sa vo veľkej miere využívala pre analýzu dažďovej, riečnej a morskej vody [90],[91],[92]. Automatizácia tejto metódy pre analýzu morskej, jazernej a pitnej vody v publikácii [93], poskytlo LOD 0,07 ng/L pre iGe a DMGe, pre MMGe 0,35 ng/L. Pomocou HG-CT s ICP-MS/MS boli v štúdií [7] stanovené limity detekcií pre všetky tri špecie germánia a to 0,015 ng/L pre iGe, 0,005 ng/L pre MMGe a 0,003 ng/L pre DMGe.

Postup, ktorý sa v súčasnosti javí ako základ väčšiny moderných geochemických štúdií Ge v životnom prostredí, publikovali v roku 1996 [94]. Do pôvodného prístupu HG-CT-ICP-MS zahrnuli kvantifikáciu iGe izotopovým riedením. Vzorky boli obohatené štandardom o izotop  $^{70}\text{Ge}$  a sledoval sa pomer izotopov Ge 70/74. Treba však poznamenať, že tento postup riedenia izotopov kvantifikuje len iGe, a nie metylované špecie. Na separáciu iGe od jeho metylovaných špecií a matrice využili v štúdií [95],[96] spojenie HG-CT s multikolektorovou ICP-MS detekciou na analýzu izotopového zloženia Ge v prírodných, morských a termálnych vodách.

Mikroextrakcia na pevnej fáze (SPME) s HG bola použitá na detekciu stopových množstiev germánia prostredníctvom ICP-TOF-MS. Dosiahnuté limity detekcie pre chlorid a hydrid germánia boli v rozsahu od 20 do 92 pg/mL. Použitie SPME na generovanie chloridov

v spojení s detekciou ICP-TOF-MS významne zvýšilo citlivosť 20-násobne oproti generovaniu hydridov germánia [97].

Netypická kombinácia spektroskopie s laserom budenou mikroplazmou (LIBS) s generovaním hydridov bola aplikovaná na stanovenie germánia vo vodnom prostredí [98]. Výsledky danej štúdie potvrdzujú, že metóda HG-LIBS je vhodná na kvantitatívnu analýzu toxických prvkov a umožňuje ich kontinuálne monitorovanie v reálnom čase vo vodnom prostredí. Dosiahnutý detekčný limit činil 0,2 mg/L Ge.

Germánium sa vo veľmi nízkych množstvách vyskytuje v zinkových rudách. S ohľadom na jeho negatívne vplyvy na elektrodepozíciu je dôležité monitorovať jeho koncentráciu v zinkových elektrolytických roztokoch. Pre citlivú, presnú, selektívnu a automatizovanú analýzu germánia v týchto vzorkách, v štúdií [99] popisujú metódu ICP-OES s detekčným limitom 1 ng/mL až 3 ng/mL.

Aj cez nízku akútnu toxicitu germánia, je potrebné vyvíjať rôzne spôsoby ako detegovať germánium v ľudskom organizme. Zistilo sa, že koncentrácia germánia v moči môže byť spoľahlivo určená pomocou generovania hydridov v režimu prietokovej injekčnej analýzy (HG/FI) s detekciou pomocou GF-AAS, po dôkladnom spracovaní vzorky moču a regulácii pH. Limit detekcie germánia v moči bol 0,25 mg/L. U mužov (štúdium vykonané v Belgicku) sa zistilo, že koncentrácia germánia v moči bola pod limitom detekcie [16].

Anorganické germánium je možné stanoviť aj pomocou iontovo-výmennej HPLC s UV detekciou. V štúdií [14] bola odozva plochy píku priamo úmerná koncentrácii v rozsahu 0,05 – 5 mg/mL pre anorganické Ge a pre Ge-132 ( $\beta$ -karboxyetylgermániumsekvioxid, spomínaný v kapitole 2.1.1) v rozsahu 0,1–100 mg/mL.

Obecne je možné na základe literárnej rešerše prevedenej v tejto kapitole konštatovať, že spojenie HG kroku s ICP-MS detekciou poskytuje pre Ge detekčné limity porovnateľné s dosiahnutými rovnakou technikou pre ďalšie hydridotvorné prvky. V prípade spojenia HG s AAS detekciou pri použití bežných atomizátorov ako napríklad QTA ale aj GF, sú dosahované rádovo horšie detekčné limity než pre ostatné hydridotvorné prvky. Množstvo literatúry, ktorá sa zaoberá stanovením Ge pomocou HG-AAS je zároveň výrazne obmedzenejšie v porovnaní s inými analytmi tvoriacimi prchavé hydridy. Z toho dôvodu bolo cieľom tejto práce optimalizovať podmienky atomizácie hydridu Ge a jeho metylovaných špecií.



## 3 Experimentálna časť

### 3.1 Použité chemikálie

Roztoky a riedenia boli pripravené s použitím deionizovanej vody ( $< 0,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ , Ultrapur, Watrex, USA).

Tlmivý roztok TRIS-HCl bol pripravený použitím Trizma® hydrochloridu (Sigma Aldrich, Nemecko) s pH upraveným na hodnotu 6,5 pomocou NaOH (p.a., Penta s.r.o., ČR). Do tohto roztoku bol pridaný dihydrát disodnej soli kyseliny etyléndiamintetraoctovej (EDTA) od spoločnosti Lachema, Česká republika, k dosiahnutiu koncentrácie 0,005 mol/L.

Redukčným činidlom bol roztok  $\text{NaBH}_4$  (Sigma Aldrich, Nemecko) v 0,1 % (m/v) KOH (Lach-Ner, Česká republika), ktorý sa po príprave prefiltraval a skladoval zmrazený.

Pracovné štandardy pre špecie germánia s koncentráciou zvyčajne 1 mg/L sa pripravovali každý deň z roztokov s koncentráciou 1 000 mg/L riedením s roztokom 0,25 mol/L TRIS-HCl. Komerčný štandard iGe (1 000 mg/L, Astasol®) bol zakúpený od spoločnosti Analytika, Česká republika. Roztoky MMGe a DMGe boli pripravené v laboratóriu hydrolyzou a riedením  $(\text{CH}_3)\text{GeCl}_3$ , resp.  $(\text{CH}_3)_2\text{GeCl}_2$ , oba zakúpené od spoločnosti Alfa Aesar, Veľká Británia. Do štandardov MMGe a DMGe bol pridaný monohydrát L-Cysteínhydrochloridu (pre biochémiu, Merck, Nemecko), skrátene označovaný ako L-Cys, v koncentrácii 1 % (m/v), na zvýšenie ich premeny na prchavé látky.

Pevné pelety NaOH od spoločnosti Penta, Česká republika, sa využili ako náplň pre sušiacu patrónu zodpovednú za proces sušenia plynnej fáze. V niektorých prípadoch sa ako náplň použili aj perly NaOH (s priemerom  $\geq 2$  mm od spoločnosti Lach-Ner, Česká republika) alebo sa testovala sušiaci patróna s membránou Nafion™ (model trubice MD-110-12P, dĺžka 12", priemer 0,11", Perma Pure, USA). V rámci analýzy sa vykonal experiment, kedy bude špecificky uvedené, že vnútorný povrch DBD atomizátora bol povrchovo upravený (pasivovaný) pomocou 5% roztoku dimetyldichlórsilanu (DMDCS) v toluéne (roztok Sylon CT vyrábaný spoločnosťou Supelco). Na čistenie hydridových atomizátorov pred ich prvým použitím alebo na účely experimentov lúhovania, sa použila zmes kyseliny fluorovodíkovej (38%, Spolchemie, Česká republika) a kyseliny dusičnej (65%, Lach-Ner, Česká republika) v pomere 3:7 (v/v).

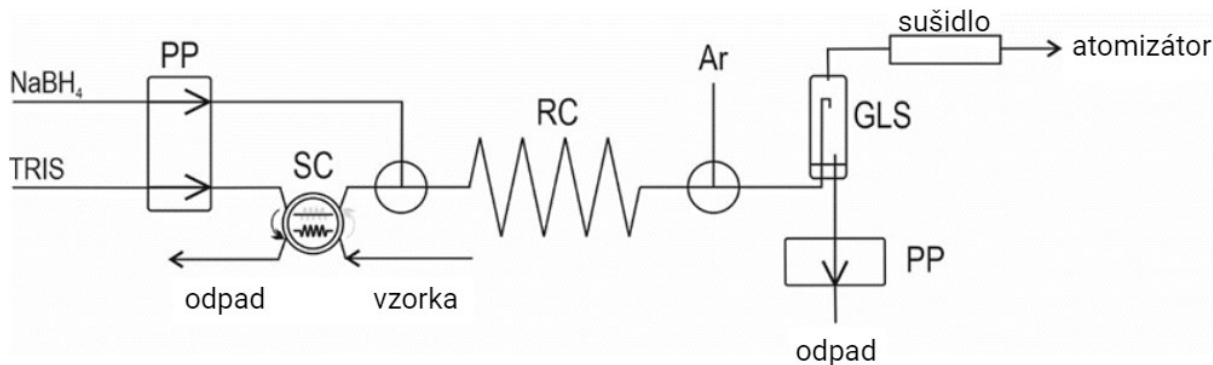
Použité plyny Ar (99,996 %), He (99,998 %), N<sub>2</sub> (99,99 %,) a H<sub>2</sub> (99,9 %) boli zakúpené od spoločnosti SIAD Czech s.r.o. (Česká republika). Pri experimentoch s MMQTA bol na prácu použitý vzduch dodávaný kompresorom.

### **3.2 Prístrojové vybavenie AAS**

V tejto diplomovej práci bol použitý atómový absorpčný spektrometer SavantAA (GBC, Austrália) bez korekcie pozadia. Výbojka s dutou katódou pre Ge (Photron Ltd., Austrália) bola nastavená na analytickú čiaru s vlnovou dĺžkou 265,2 nm so šírkou spektrálneho intervalu 0,5 nm a prúdom lampy 5 mA. Merania boli realizované v móde prietokovej injekčnej analýzy. Generátor hydridov bol v prevádzke nepretržite (kontinuálne), zatiaľ čo štandardy špecií Ge boli manuálne zavádzané do toku reakčného média (TRIS-HCl pufru) 5 sekúnd po začiatku zaznamenávania signálu. Na vyhodnotenie plochy píku bol použitý softvér GBC SavantAA verzie 3.02b1. Priemerné hodnoty boli určené z najmenej 5 opakovaných meraní; chybové úsečky na grafoch predstavujú štandardnú odchýlku.

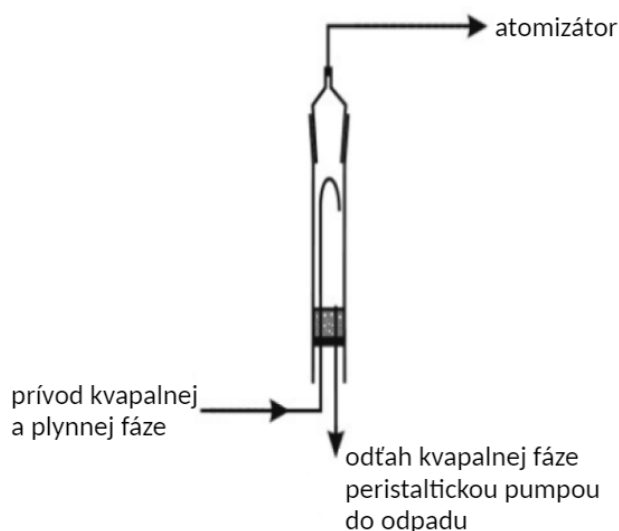
### **3.3 Generátor hydridov**

V práci bol použitý systém na generovanie hydridov v režimu prietokovej injekčnej analýzy (dávkovanie do prúdu) vlastnej výroby založený na peristaltickom čerpadle (Ismatec, Švajčiarsko), analogický systému opísanému v citáciách [65],[66],[52] a na Obrázku 8. Štandardy špecií Ge sa vstrekovali manuálne pomocou šesťcestného injekčného ventilu (V-451, IDEX Health & Science, USA) so slučkou s objemom 0,5 mL do prietoku reakčného média TRIS pufru (TRIS-HCl, 1,0 mL/min) pred zmiešaním s redukčným činidlom borohydridom sodným (NaBH<sub>4</sub>, 1,0 mL/min). Dĺžka reakčnej cievky, umožňujúca dostatočný priestor pre reakciu médií, bola 15 cm a jej vnútorný priemer bol 1 mm.



Obrázok č. 8: Schéma aparatury hydridového generátora. PP – peristaltická pumpa, SC – šesťcestný dávkovací ventil, RC – reakčná cievka, GLS – separátor fáz plyn-kvapalina. Prevzaté [52] a upravené v BioRender.com.

Reakčná zmes bola spojená s prúdom nosného plynu Ar regulovaného hmotnostným regulátorom prietoku (Omega Engineering, USA) a smerovala do separátora plyn - kvapalina (GLS) s núteným odťahom kvapaliny znázorneným detailne na Obrázku 9. Vnútorý objem GLS separátora bol 5 mL. Kvapalný odpad bol odvádzaný rovnakým peristaltickým čerpadlom zo spodnej časti separátora. Plynná fáza, vedúca z GLS do atomizátora prúdom nosného plynu Ar, obsahovala okrem prchavých špecií Ge aj vodík ako vedľajší produkt rozkladu  $\text{NaBH}_4$  a určité množstvo aerosólov a vodných pár, ktoré vznikali s prchavými špecií analytu. Experimentálne sa zistilo, že množstvo spoluvytváraného  $\text{H}_2$  bolo 8 mL/min.



Obrázok č. 9: Schéma separátora fáz plyn-kvapalina. Prevzaté [100] a upravené v BioRender.com.

Za GLS bola umiestnená sušiaci patróna (sušidlo) z polypropylénovej kazety (dĺžka 100 mm, priemer 15 mm) naplnená pevnými peletami NaOH, aby sa zabránilo vniknutiu aerosólu a kvapiek do atomizátora. Testovali sa aj iné typy sušidiel plynnej fázy, ktoré boli

založené buď na pevných perlách NaOH, alebo na membráne Nafion<sup>TM</sup> (s prietokom sušiacého plynu 1,0 L/min Ar). V prípade, že sa nepoužilo žiadne sušidlo, tak je to uvedené u daného experimentu. Optimálne podmienky generovania pre všetky tri špecie Ge sú zhrnuté v kapitole 4.1.1 v Tabuľke č. 3.

### 3.4 Atomizátory

Táto kapitola bližšie popisuje parametre použitých atomizátorov pre atomizáciu prchavých špecií germánia.

#### 3.4.1 Parametre DF

Atomizátor sa skladal z vertikálnej kremennej nosnej trubice s priemerom 6 mm. Trubica bola napájaná zo spodnej časti prúdom vodíku, ktorý slúžil ako palivo pre difúzny plameň. Plynná fáza z hydridového generátora, obsahujúca Ge hydrid alebo jeho metylované analógy (MMGe, DMGe), nosný plyn Ar (označovaný ako Ar<sub>HG</sub>) a spolugenerovaný vodík z rozkladu NaBH<sub>4</sub>, bola dodávaná do bočného vstupného ramena tejto trubice.

Navyše, do bočného vstupného ramena difúzneho plameňa bol zavedený ďalší pomocný tok Ar cez T-konektor, ďalej v texte označovaný ako Ar<sub>atomizátor</sub>, na podporu difúzneho plameňa horiaceho na vrchnej časti trubice. Pozorovacia výška, definovaná ako vzdialenosť od vrcholu nosnej trubice po okraj optického lúča spektrometra, bola nastavená na 1 mm pre všetky experimenty.



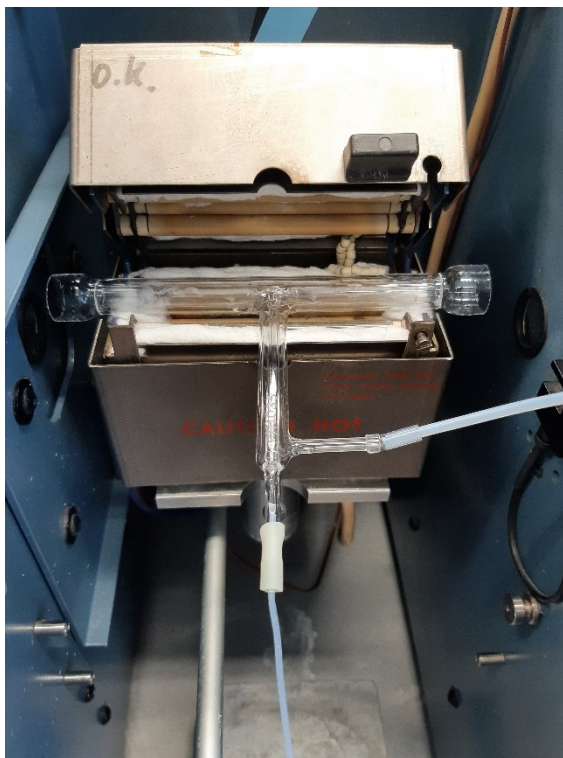
Obrázok č. 10: Difúzny plameň s aktívnym plameňom.

Atomizátor bol pred prvým použitím alebo podľa potreby (v prípade vzniku depozitu) dôkladne vyčistený. Atomizátor bol obrátený hore dnom, obalený pomocou Parafilmu a horná časť jeho nosnej trubice (dlhá približne 20 mm) bola naplnená zmesou koncentrovaného  $\text{HNO}_3$  a HF (v pomere 7:3) po dobu 10 minút. Potom bol atomizátor prepláchnutý deionizovanou vodou, vyschnutý prúdom argónu pri laboratórnej teplote alebo prúdom vzduchu v digestore, ideálne cez noc.

### 3.4.2 Parametre MMQTA

Geometria atomizátora v tvare písmena T zahŕňa horizontálne a vertikálne rameno, ako bolo opísané v predchádzajúcich štúdiách [54],[65],[101],[102]. Horizontálne rameno má dĺžku 160 mm a pozostáva z dvoch koncentrických trubíc. Vnútornej trubica s priemerom 6 mm má 14 rovnomerne rozmiestnených otvorov s priemerom 0,2 - 0,6 mm. Vertikálne rameno, slúžiace pre prívod plynnej fázy z GLS, má dĺžku 100 mm a priemer 2 mm. Vzduch je privádzaný do priestoru medzi trubicami horizontálneho ramena pomocou regulátora hmotnostného prietoku (Omega Engineering, USA). Na ohrev strednej časti optického ramena (približne 120 mm) na teplotu 900 °C sa používa odporovo vyhrievaná piecka (Perkin Elmer, USA), ktorá je riadená teplotným regulátorom vyvinutým na Oddelení stopovej prvkovej analýzy zložením z

regulátora (Omron, Česká republika) a polovodičového relé (SSR) (Cosmo Electronic Corporation, Taiwan).



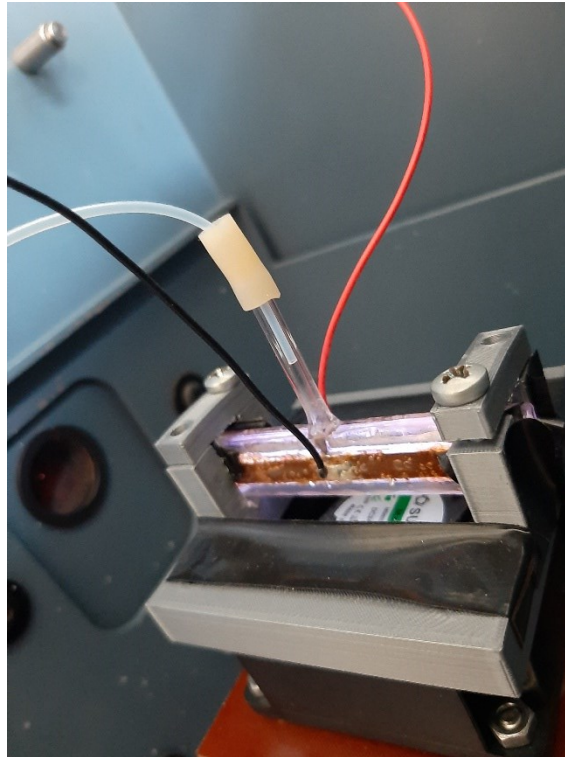
Obrázok č. 11: Multiatomizátor v odporovo vyhrievanej peckve.

Pred prvým použitím alebo pri poklese citlivosti sa MMQTA čistil zmesou koncentrovaného  $\text{HNO}_3$  a HF (v pomere 7:3) po dobu 10 minút podobne ako v prípade DF. Potom bol niekoľkokrát prepláchnutý deionizovanou vodou a ponechaný vyschnúť.

### 3.4.3 Parametre DBD

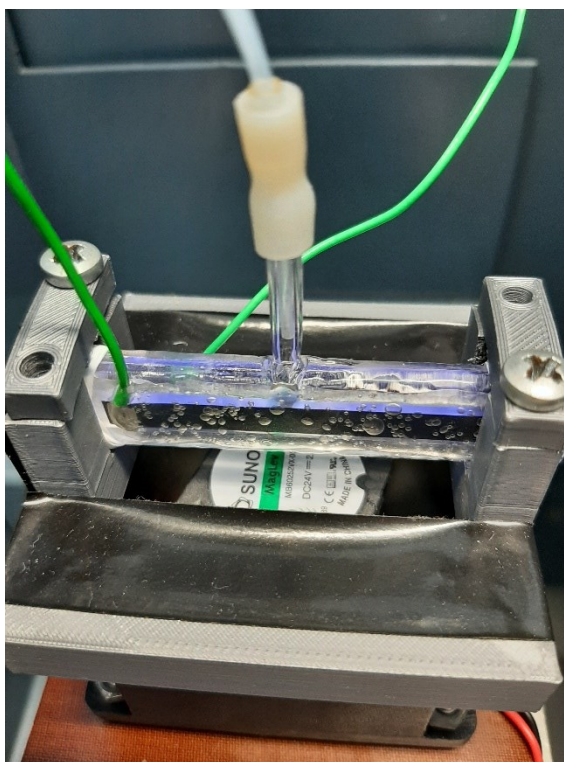
Boli použité dve varianty kremenného atomizátora DBD s planárnou konfiguráciou elektród, ktoré boli detailne popísané v predchádzajúcich prácach [65],[66],[103]. Oba mali identickú kremennú celu v tvare písmena T, pozostávajúca z horizontálneho ramena s vnútorným obdĺžnikovým prierezom o rozmeroch  $7 \times 3$  mm a dĺžkou 75 mm. Toto rameno bolo zarovnané s optickou osou spektrometra AAS. Jeho horizontálne a vertikálne steny mali hrúbku 3 mm a 1 mm. Kremenná trubica s dĺžkou 20 mm, vnútorným priemerom 2 mm a vonkajším priemerom 4 mm, bola pritavená cez stred hornej steny optického ramena a slúžila ako vstupné rameno atomizátora, do ktorého bola privádzaná plynná zmes z GLS. Jediný rozdiel medzi týmito variantami spočíval v spôsobe upevnenia elektród, buď pomocou lepidla alebo metódou naprašovania.

Prvá konfigurácia DBD atomizátora, v práci bude označovaná ako REF, zahrňovala dve medené elektródy (rozmery 50 mm x 5 mm x 0,15 mm), prilepené na stred stien optického ramena.



Obrázok č. 12: DBD atomizátor v konfigurácii s lepenými elektródami so sínusovou moduláciou zdroja vysokého napätia (REF-SIN). Na fotografii je možné pozorovať výboj plazmy.

Druhé usporiadanie, označované ako SE, charakterizuje elektródy vyrobené s použitím techniky naprašovania. Tieto elektródy boli vytvorené aplikáciou 20 nm podkladovej vrstvy Cr na povrch kremeňa, a nasledovala ju 200 nm vrstva Cu. Rozmery elektród (50 mm x 5 mm) sa zhodovali s tými použitými v prípade REF konštrukcie.



Obrázok č. 13: DBD atomizátor s naprašovanými elektrodami s rektangulárnou moduláciou vysokonapäťového zdroja (SE-SW) a výboj DBD plazmy.

Na vonkajšom povrchu oboch konštrukcií sa použila ochranná vrstva viacúčelového gumového povlaku od spoločnosti Plasti Dip International, USA, ako izolácia a na zabránenie možným parazitným povrchovým výbojom na vonkajšej strane DBD. Obe DBD konštrukcie boli umiestnené v nosnom ráme vyrobenom na Oddelení stopovej prvkovej analýzy pomocou 3D tlače z kyseliny polymliečnej (PLA). Na spodnej časti nosného rámu bol pripravený aktívny ventilátor, ktorý zabezpečoval chladenie vzduchom.

Elektródy DBD boli spojené s vysokonapäťovými (high voltage, HV) zdrojmi pracujúcimi pri budiacej frekvencii 28 kHz, ktoré používali sinusovú (SIN) alebo rektangulárnu (SW) moduláciu výstupného napätia, spomínané v kapitole 2.4.4.

DBD atomizátor s nalepenými elektródami (REF) bol pripojený k HV zdroju so sínusovou moduláciou (SIN). Táto konfigurácia je ďalej označovaná ako REF-SIN, aby sa zachovala konzistencia s predchádzajúcimi štúdiami [65],[66]. Druhý skúmaný DBD atomizátor s naprašovanými elektródami (SE) bol napájaný zdrojom HV s rektangulárnou moduláciou (SW). Toto usporiadanie je ďalej označované ako SE-SW.

Atomizátory boli čistené bez ohľadu na konštrukciu elektród pred prvým použitím, alebo ak bol pozorovaný významný pokles citlivosti. Výstup horizontálneho ramena DBD bol

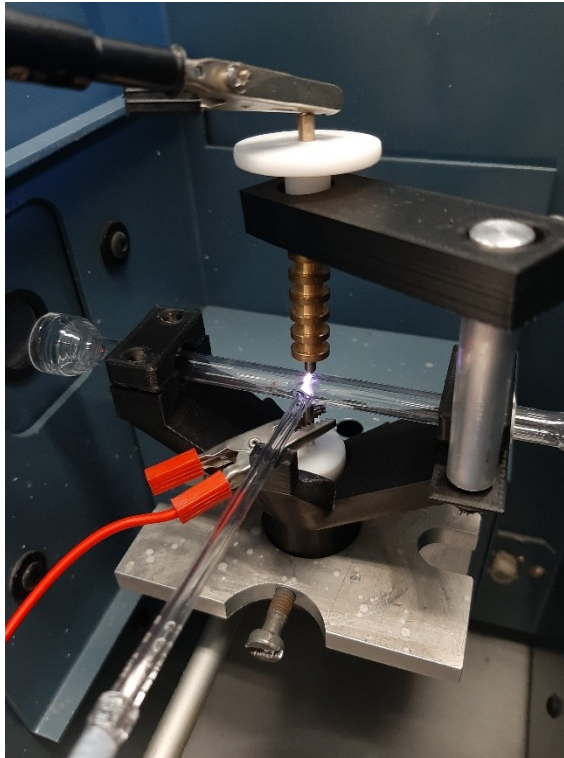


uzavretý pomocou Parafilmu a vnútorný objem kremenného tela DBD bol naplnený zmesou koncentrovanej kyseliny dusičnej a fluorovodíkovej v pomere 7:3 po dobu 10 minút. Potom bola DBD niekoľkokrát prepláchnutá deionizovanou vodou a ponechaná vyschnúť.

#### 3.4.4 Parametre APGD

Systém v tvare písmena T, podobný geometrii QTA atomizátora, je zložený z optického a prírodného ramena. Optické rameno je nastavené do osi spektrometra. Vonkajší priemer jeho rozšírených koncov dosahuje 18 mm, pričom vnútorný priemer je 16 mm. Stredová časť má dĺžku 160 mm s vnútorným priemerom 6 mm. Prívodné rameno, slúžiace ako vstup pre plyn, má dĺžku 90 mm a priemer 2 mm. Hydrid analytu je zavádzaný do plazmy v optickom ramene cez prírodné rameno pomocou kontrolovaného prietoku nosného plynu s využitím regulátora hmotnostného prietoku (Omega Engineering, USA). Pred vstupom do atomizátora je s použitím T-konektoru pridávaný pomocný prúd argónu, ďalej v práci označovaný ako  $Ar_{\text{atomizátor}}$ , pre optimálnu funkciu plazmy.

Na spodnej a vrchnej strane optického ramena atomizátora sú umiestnené dva otvory s priemerom 2 mm, na ktorých sú umiestnené hrotové volfrámové elektródy – hrotom proti sebe. Na elektródy bolo vkladané napätie pomocou zdroja, ktorý bol skonštruovaný na Oddelení stopovej prvkovej analýzy. Optimalizácia plazmy bola dosiahnutá úpravou napätia v primárnom obvode napájacieho transformátora. Hodnoty vstupného napätia sa pohybovali od 4 V do 12 V, ktoré boli pomocou transformátora prevedené na jednotky stoviek voltov až jednotiek kilovoltov. Presné hodnoty prúdu a napätia v sekundárnom obvode transformátora, ktorý napájal elektródy APGD atomizátora, budú stanovené v spolupráci s laboratóriom na Prírodovedeckej fakulte Masarykovej univerzity v Brne.



Obrázok č. 14: APGD atomizátor s výbojom medzi volfrámovými elektródami.

Atomizátor bol čistený pred prvým použitím alebo v prípade, že bola zaznamenaná významná strata citlivosti. Výstupný otvor horizontálneho ramena APGD bol rovnako ako otvory pre hrotové elektródy tesne uzavretý pomocou Parafilmu a vnútorný objem kremenného tela APGD bol vyplnený zmesou koncentrovanej kyseliny dusičnej a fluorovodíkovej v pomere 7:3 počas 10 minút. Následne bolo APGD opakovane prepláchnuté deionizovanou vodou a nechalo sa vysušiť.

### 3.5 Kvantifikácia depozitov Ge

Pred použitím boli všetky štyri typy atomizátorov vyčistené ich naplnením v zmesi koncentrovanej kyseliny dusičnej ( $\text{HNO}_3$ ) a kyseliny fluorovodíkovej (HF) v pomere 7:3 počas 10 minút. Tento proces lúhovania sa opakoval a druhý výluh bol, po následnom zriedení deionizovanou vodou, použitý ako kontrola neprítomnosti germánia vo výluhu. Potom boli atomizátory opatrne opláchnuté deionizovanou vodou a nechali sa vysušiť.

Bol prevedený definovaný počet meraní ( $n = 50$ ) štandardného roztoku anorganického germánia s koncentráciou  $1 \mu\text{g/mL}$  pre rôzne typy atomizátorov - DF, MMQTA, DBD (usporiadanie SE-SW aj REF-SIN) a APGD - pri optimálnych podmienkach generovania a atomizácie. V prípade APGD sa definovaný počet meraní zvýšil na 60 až 70 meraní.

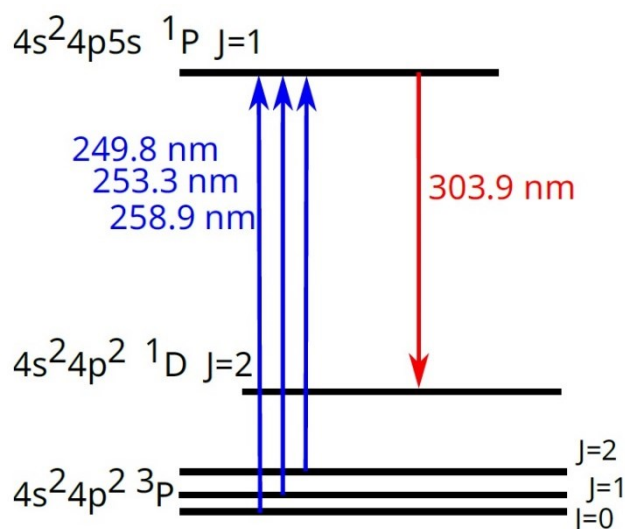
Následne boli vnútorné povrchy atomizátorov dvakrát vylúhované počas 10 minút pomocou zmesi HNO<sub>3</sub> a HF v pomere 7:3. Prvý a druhý výluh bol zhromaždený oddelene. Výluhy boli zriedené deionizovanou vodou a ich obsah germánia bol stanovený pomocou ICP-MS/MS hmotnostného spektrometra Agilent Technologies 8900 ICP-MS/MS, ktorý pracoval v módu reakčnej cely s prítomnosťou kyslíka. Na detekciu sa využil hmotnostný posun izotopov germánia m/z 72>88. Signály boli korigované na drift pomocou vnútorného štandardu yttria monitorovaného pri m/z 89>105. Použité experimentálne podmienky sú uvedené v Tabuľke č. 2.

Tabuľka č. 2: Nastavenie ICP-MS/MS.

Výkon RF generátoru (W)	1550
Hĺbka vzorkovania (mm)	8
Nosný plyn (L/min)	0,60
Prídavný plyn (L/min)	0,53
Rýchlosť otáčok pumpy	0,10 rpm (0,3 mL/min)
Teplota hmlovej komory (°C)	2
Interný štandard	2 ng/mL Y, 10 ng/mL Rh v 2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Parametre reakčnej cely</b>	
Prietok plynu O <sub>2</sub>	40 %
Energetická diskriminácia	-7 V

### 3.6 Laserom indukovaná fluorescencia (LIF)

Merania priestorového rozloženia a absolútnej koncentrácie voľných atómov Ge v DBD a APGD atomizátoroch sa uskutočnili pomocou laserom indukovanej fluorescencie (LIF) na spolupracujúcom pracovisku, ktorým bol Ústav fyziky a technológie plazmy Prírodovedeckej fakulty Masarykovej univerzity v Brne. Excitáciu atómov Ge zo základného tripletového stavu a následné meranie fluorescencného žiarenia schematicky znázorňuje energetický diagram (Grotrian) uvedený na Obrázku 15.



Obrázok č. 15: Schéma Grotrianu pre meranie Ge na OPO laseru.

Na merania LIF sa použil pulzný pikosekundový laserový systém od firmy Ekspla, ktorý dokáže produkovať žiarenie s vlnovou dĺžkou od 193 do 2 300 nm. Zdrojom žiarenia v systéme je Nd:YAG laser PL2231-50-TRAIN, ktorý slúži ako čerpací laser a má pevnú vlnovú dĺžku 1064 nm. Žiarenie z tohto lasera sa zosilní a jeho frekvencia sa strojnásobí, čo odpovedá žiareniu o vlnovej dĺžke 355 nm, ktoré vstupuje do OPO prvku laserového systému (optický parametrický oscilátor). Fotóny UV žiarenia (355 nm) sa tu môžu v dôsledku nelineárnych optických javov rozložiť na páry nových fotónov s dlhšími vlnovými dĺžkami. Dôležité je, že vlnovú dĺžku vzniknutých fotónov možno riadiť, najmä vhodným otáčaním kryštálu, v ktorom sa vytvárajú. Takto možno získať koherentné monochromatické žiarenie s laditeľnou vlnovou dĺžkou. Keďže použitý OPO poskytuje iba vlnové dĺžky nad 410 nm, za optickým parametrickým oscilátorom sú umiestnené ďalšie prvky nelineárnej optiky, ktoré umožňujú zdvojením alebo zmiešavaním frekvencií konverzovať laserové žiarenie na kratšie vlnové dĺžky, až do 193 nm. Na detekciu fluorescenčného žiarenia sa použila ICCD kamera PI MAX II. Podobný systém bol podrobnejšie opísaný v publikácii [104].

Merania s LIF detekciou sa vždy vykonávali so synchronizáciou laserového žiarenia a doby výboja v DBD alebo APGD atomizátoroch.

Tabuľka č. 3: Zvolené podmienky generovania a atomizácie iGe v DBD a APGD pre LIF analýzu.

<b>Podmienky</b>	<b>Parameter</b>
<b>SE-SW</b>	
prietok argónu (mL/min)	100
koncentrácia iGe ( $\mu\text{g/mL}$ )	2
prítomnosť spolugenerovaného vodíka (mL/min)	8
<b>APGD</b>	
celkový prietok argónu (mL/min)	500
koncentrácia iGe (ng/mL)	500

### **3.7 Skenovacia elektrónová mikroskopia (SEM) a energiovo disperzná röntgenová spektrometria (EDS)**

Na skúmanie vnútornej morfológie povrchu DF atomizátora s depozitmi anorganického germánia sa použila skenovacia elektrónová mikroskopia (SEM) a energiovo disperzná röntgenová mikroanalýza (EDS). Merania boli prevedené na spolupracujúcom pracovisku Mikrobiologického ústavu AVČR, v jeho Laboratóriu charakterizácie molekulárnej štruktúry.

Časť 1 cm od horného konca difúzneho plameňa bola odrezaná a rozdelené na dve časti. Vnútorne steny týchto dvoch častí boli nalepené koloidným striebrom na štandardné hliníkové držiaky vzorky. Jedna polovica vzorky bola pouhliškovaná 5 nm vrstvou a druhá polovica 3 nm vrstvou platiny pomocou vysokorozlišovacieho turbo-pumpovaného naprašovacieho zariadenia Q150T (Quorum Technologies Ltd, Ringmer, UK). Analýza SEM a EDS sa vykonala na skenovanom elektrónovom mikroskope FEI Nova NanoSEM 450 (FEI, Brno, Česká republika), ktorý bol vybavený detektorom Ametek® EDAX Octane Plus SDD a systémom analýzy EDS TEAM™ (AMETEK B. V.; Tilburg, Holandsko). Bližšie informácie o metóde je možné získať v článku [105].

## 4 Výsledková časť

### 4.1 Optimalizácia HG a stanovenie účinnosti generovania špecií

#### 4.1.1 Optimálne podmienky generovania prchavých špecií Ge

Táto diplomová práca nadväzuje na experimenty publikované autormi z iných laboratórií aj v laboratóriu riešiteľky tejto práce. V porovnávacej štúdií [106] boli detailnejšie popísané rozdiely účinkov kyseliny chlorovodíkovej, vínnej, citrónovej, šťaveľovej, octovej a sulfosalicylovej na tvorbu hydridu germánia v stopových množstvách v systéme HG-ICP-AES.

Krok HG pre stopovú analýzu špecií iGe, MMGe, DMGe s ICP-MS detekciou bol optimalizovaný v článkoch [7],[107], ktorá vznikla v rovnakom laboratóriu (Oddelenie stopovej prvkovej analýzy, AV ČR) ako táto diplomová práca a finálne niektoré experimentálne podmienky generovania boli re-optimalizované pre AAS s atomizátorom typu DF v štúdií [52], v ktorej je autorka tejto práce spoluautorkou. Experimenty uvedené v tejto kapitole sú však prevedené spoluautormi štúdie a nájdené optimálne hodnoty zhrňuje Tabuľka č. 4. Jediným dôležitým parametrom v kroku HG, ktorý nebol v predchádzajúcich článkoch detailnejšie študovaný, je vplyv L-Cys na signál metylovaných špecií Ge, a preto mu bola autorkou venovaná pozornosť v tejto práci (viz kapitola 4.1.2).

Tabuľka č. 4: Zvolené optimálne parametre pre generovanie hydridov.

Parameter	iGe	MMGe	DMGe
Koncentrácia pufru TRIS-HCl (mol/L)		0,25	
Koncentrácia EDTA (mol/L)		0,005	
Koncentrácia NaBH <sub>4</sub> (%)		3	
Koncentrácia KOH (%)		0,1	
Dĺžka reakčnej cievky (cm)		15	
Prídavok L-Cys	NIE	ÁNO	ÁNO

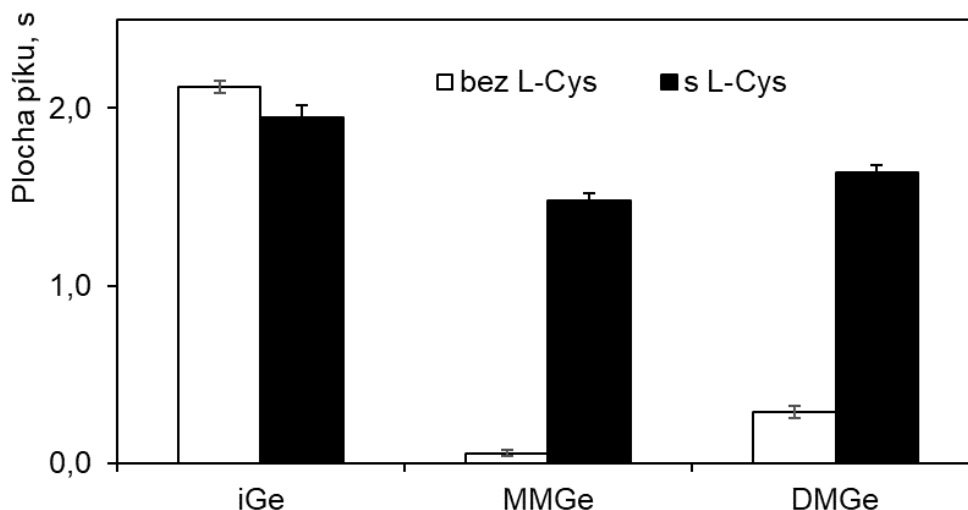
#### 4.1.2 Stabilita signálu s L-Cysteínom

Bolo zistené, že prídavok L-Cysteínu do roztoku štandardov/vzoriek môže zvýšiť analytický signál v HG-AAS pre niektoré látky a potlačiť interferencie s matricou [93]. V štúdií [108] bol L-Cysteín použitý na zvýšenie signálu Ge pri HG-AFS. Metóda bola aplikovaná na

stanovenie germánia v siedmich geologických referenčných vzorkách, pričom analytické výsledky sa dobre zhodovali s certifikovanými hodnotami. Predpokladá sa, že L-Cysteín zvyšuje účinnosť HG tým, že vytvára boranové komplexy s borohydridom [109].

Použitie L-Cys bolo už v minulosti diskutované s cieľom zvýšiť účinnosť generovania germánia [7]. Analýzou špecií germánia v reálnych vzorkách pomocou HG-CT-ICP-MS [107], bola tá istá vzorka analyzovaná dvoma spôsobmi: prvým bol stanovenie iGe bez prítomnosti L-Cys, zatiaľ čo druhým bolo kvantifikovanie MMGe a DMGe za prítomnosti L-Cys. Dôvody použitia L-Cys pri stanovení MMGe a DMGe a zároveň stanovenia iGe bez prítomnosti L-Cys neboli v literatúre diskutované.

V dôsledku toho boli uskutočnené dve série experimentov s cieľom preskúmať, ako prídavok L-Cys ovplyvňuje odozvu jednotlivých foriem germánia a taktiež zistiť stabilitu odozvy špecií Ge v prítomnosti L-Cys v čase. V prvom experimente boli pripravené štandardy iGe, MMGe a DMGe s a bez prídavku L-Cys analyzované 30 minút po príprave. Prídavok L-Cys v roztoku štandardu vždy predstavoval koncentráciu 1 % L-Cys v roztoku. Prítomnosť L-Cys je nevyhnutná pre generáciu metyl-substituovaných hydridov germánia, ako je možné vidieť z Obrázku 15, keďže signál MMGe a DMGe v neprítomnosti L-Cys predstavuje len 4 %, resp. 17 % signálu voči jeho prítomnosti. Naopak, prítomnosť L-Cys spôsobuje mierny pokles signálu o 9 % v prípade iGe.

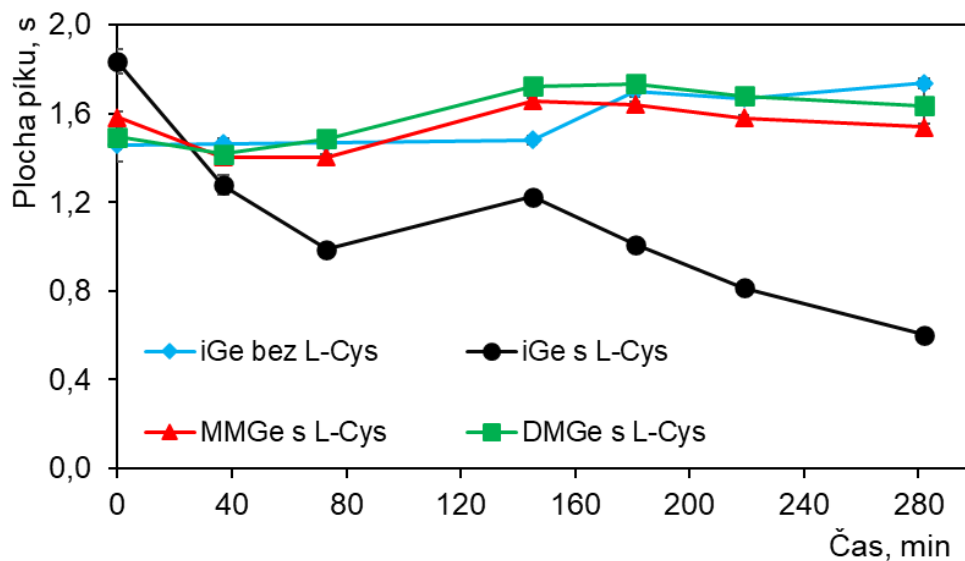


Obrázok č. 16: Efekt prídavku L-Cys (čierny stĺpec) a bez prítomnosti L-Cys (biely stĺpec) na signál všetkých troch špecií Ge. Koncentrácia všetkých štandardov Ge špecií bola 2  $\mu\text{g/mL}$ , prietok  $\text{Ar}_{\text{HG}}$  – 100 mL/min, DF atomizátor: prietok  $\text{Ar}_{\text{plameň}}$  – 100 mL/min, prietok  $\text{H}_2$  – 200 mL/min, pozorovacia výška – 1 mm.

Prítomnosť L-Cys negatívne ovplyvňuje stabilitu signálu iGe v čase, čo vedie k postupnému poklesu jeho signálu počas dňa, pričom po 5 hodinách od prípravy dosahuje len 30 % pôvodnej hodnoty. Naopak, odozva pracovných štandardov MMGe a DMGe s pridaným L-Cys bola konštantná počas najdlhšieho skúmaného obdobia až 5 hodín. Časová stabilita odozvy štandardov špecií Ge je graficky zobrazená na Obrázku 16.

Na základe týchto pozorovaní sa do štandardov iGe nepridával L-Cys, zatiaľ čo do štandardov MMGe a DMGe sa L-Cys vždy pridával. V týchto podmienkach mohli byť pracovné štandardy germánia použité počas celého dňa, keďže boli pripravené každé ráno pred samotným meraním.





Obrázok č. 17: Efekt prítomnosti/neprítomnosti L-Cys na stabilitu signálu špecií Ge počas 5 hodín od zhotovenia roztokov. Koncentrácia všetkých špecií činila 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , prietok  $\text{Ar}_{\text{HG}}$  – 100  $\text{mL}/\text{min}$ , DF atomizátor: prietok  $\text{Ar}_{\text{plameň}}$  – 100  $\text{mL}/\text{min}$ , prietok  $\text{H}_2$  – 200  $\text{mL}/\text{min}$ , pozorovacia výška – 1 mm.

#### 4.1.3 Účinnosť generovania

Po optimalizácii generovania hydridov sa vykonala séria experimentov zameraných na stanovenie účinnosti generovania pre všetky tri špecie pomocou ICP-MS. V štúdií [7] bolo popísané, že pri štandardizácii pomocou ICP-MS/MS bez mineralizácie je citlivosť pre MMGe o 4 % vyššia a pre DMGe o 19 % nižšia oproti výsledkom po mineralizácii MMGe a DMGe. Aj keď je ICP-MS považovaný za detektor, ktorý nie je závislý na chemickej forme, je zrejmé, že v tomto prípade chemická forma Ge hrá dôležitú úlohu.

Hydridový generátor bol pripojený k ICP-MS Agilent 7700x pomocou 12 cm dlhou PTFE trubicou (s vnútorným priemerom 2,15 mm) cez kremenné príslušenstvo na zavádzanie vysokej matrice (HMI). Nosná kvapalina (2 %  $\text{HNO}_3$ ) zmiešaná s vnútorným štandardom (IS) obsahujúcim 10 ppb Y v 2 %  $\text{HNO}_3$  sa nebulizovala počas VSG pomocou nebulizátora MicroMist, aby sa zabezpečili robustnejšie podmienky mokrej plazmy a sledovala sa stabilita plazmy. Merania boli vykonané v štandardnom móde bez kolíznej cely. Kanál pre prívod vzorky nosnej kvapaliny bol nastavený na kontinuálny tok. Známe prietoky štandardov jednotlivých špecií Ge boli striedavo vstreknuté buď do hydridového generátora alebo do nebulizátora, čo umožnilo priame porovnanie citlivostí dosiahnutých pri nebulizácii kvapaliny a pri využití HG kroku za rovnakých podmienok v plazme, a tým pádom pri znalosti účinnosti

nebulizácie odhadnúť účinnosť generovania jednotlivých špecií. Obdobné štúdie sú bližšie popísané v článkoch [110],[111],[112].

Účinnosť nebulizácie sa zmerala pomocou metódy úbytku hmotnosti. Merala sa hmotnosť štandardu Ge na analytických váhach počas kontinuálneho zmlžovania a návratu odpadovej kvapaliny do centrifugačnej skúmavky počas VSG po dobu 1 hodiny. Stanovená účinnosť zmlžovania za daných experimentálnych podmienok činila 4,9 %.

V režimu zmlžovania je možné vypočítať hodnotu citlivosti ako signál analytu vzťahnutý na hmotu analytu prítomnú v štandarde, čo je najbežnejší spôsob vyjadrenia. V takom prípade je citlivosť stanovenia daného prvku pomocou ICP-MS s vnášaním kvapalného štandardu zmlžovaním výrazne horšia než stanovenie rovnakého analytu technikou HG-ICP-MS. Pri znalosti hodnoty účinnosti zmlžovania, za daných experimentálnych podmienok, je možné hodnotu citlivosti ešte vyjadriť ako signál analytu vzťahnutý na hmotu zmlženého analytu transportovaného do ICP-MS detektoru. Tento menej bežný spôsob vyjadrenia bol zvolený pre prezentáciu nameraných hodnôt v Tabuľke č. 5. V takomto prípade výpočtu citlivosti by potom naopak hodnoty citlivostí v režimu zmlžovania a HG, v kombinácii s rovnakým ICP-MS detektorom prevádzkovaným za totožných experimentálnych podmienok, mali byť porovnateľné.

Z nameraných dát, prehľadne spracovaných v Tabuľke č. 5, je možné konštatovať, že pre iGe a MMGe je účinnosť generovania okolo 100 %. V prípade DMGe vychádza zdanlivá účinnosť generovania 161 %, čo je spôsobené nižšou účinnosťou ionizácie pri zmlžovaní štandardu DMGe v ICP-MS. O DMGe sa predpokladá, že ionizačný mechanizmus tejto špecie je iný než u iGe a MMGe, a zároveň iný než u DMGe hydridu. Za predpokladu rovnakej citlivosti stanovení DMGe zmlžovaním ako v prípade iGe by účinnosť HG činila približne 122 %. V Tabuľke č. 5 sú uvedené hodnoty citlivostí pozorované pri vnášaní analytu zmlžením a generovaním, kedy je pozorovaná podobná citlivosť u iGe a MMGe, ale rozdielna pre DMGe.

Tabuľka č. 5: Citlivosti všetkých troch špecií Ge. NB – účinnosť nebulizácie v ICP-MS, HG – účinnosť generovania v hydridovom generátore.

	NB citlivosť* (10 <sup>5</sup> CPS/ng Ge)	HG citlivosť (10 <sup>5</sup> CPS/ng Ge)	účinnosť HG ( %)
iGe	6,02	6,58	109
MMGe	6,12	5,89	96
DMGe	4,55	7,32	161
DMGe**	6,02	7,32	122

\*vypočítané ako signál analytu vzťahnutý na hmotu zmlženého analytu

\*\*vzťahnuté k citlivostiam nebulizácie iGe

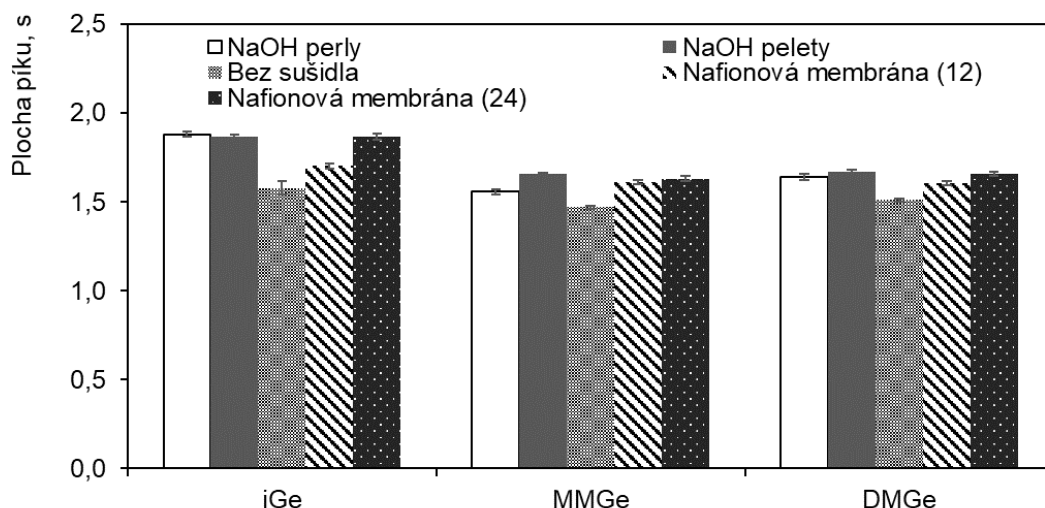
## 4.2 Optimalizácia podmienok v DF

Podmienky atomizácie GeH<sub>4</sub> v DF, tj. prietoky vodíka a argónu, boli optimalizované spoluautormi práce [52]. Pre ostatné prchavé špecie sa predpokladajú rovnaké optimálne experimentálne podmienky.

V tejto diplomovej práci sa optimalizoval a prešetroval vplyv sušidla plynnej fáze na signál špecií Ge. Jedná sa o jedinú výnimku, kedy boli optimalizácie prevedené pre každú špeciu germánia.

### 4.2.1 Vplyv sušidla

Boli testované rôzne typy sušidiel ako perly či pelety NaOH a Nafionová membrána. Skúmal sa signál pre všetky špecie germánia, iGe, MMGe a DMGe, v prítomnosti a absencii sušidla. Tie sa pohybovali, pri porovnaní so signálom v prítomnosti sušidla realizovaného NaOH peletami, v rozmedzí  $\pm 10$  % signálu tejto referenčnej hodnoty, jak je zrejmé z grafu na Obrázku 18. Z týchto výsledkov vyplýva, že pri žiadnom z testovaných typov sušidiel nedochádza k zadržiavaniu vzniknutých prchavých foriem germánia v materiálu sušidla.



Obrázok č. 18: Vplyv sušidla na signál špecií germánia. Koncentrácia všetkých špecií činila 2  $\mu\text{g/mL}$ . Nafionová membrána 12 a 24 sa líšia dĺžkou trubice v jednotkách palcov. Prietok  $\text{Ar}_{\text{HG}}$  – 100 mL/min, DF atomizátor: prietok  $\text{Ar}_{\text{plameň}}$  – 100 mL/min, prietok  $\text{H}_2$  – 200 mL/min, pozorovacia výška – 1 mm.

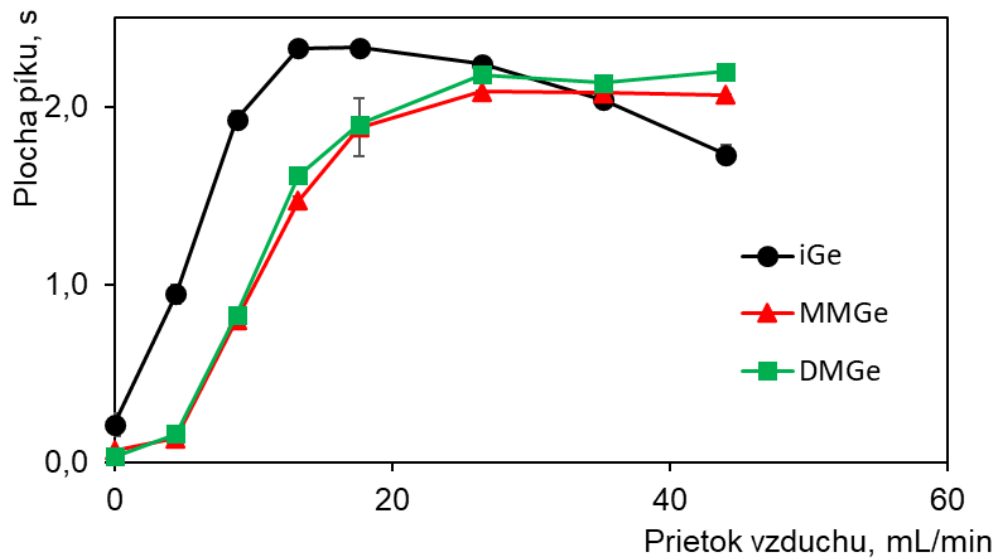
### 4.3 Optimalizácia podmienok v MMQTA

Parametrami, ktoré boli optimalizované v MMQTA atomizátore, boli prietoky vonkajšieho vzduchu a nosného plynu Ar, teplota atomizácie a vplyv sušidla. Pozorované trendy boli analogické pre všetky tri skúmané špecie germánia.

#### 4.3.1 Vonkajší prívod vzduchu

Zavedenie vonkajšieho vzduchu má výrazný vplyv na zlepšenie citlivosti všetkých špecií germánia (Obrázok 19). Ak vonkajší vzduch chýba, signál špecií Ge je takmer zanedbateľný. Avšak s postupným zvyšovaním prietoku vonkajšieho vzduchu na 15 mL/min pre iGe a 20 mL/min pre MMGe a DMGe, sa signál výrazne zvyšuje. Pri vyšších rýchlostiach prívodu vzduchu môže dosiahnuť plató alebo mierne klesnúť, najmä v prípade iGe. Ako optimálna rýchlosť prietoku bola zvolená hodnota 25 mL/min vonkajšieho vzduchu, ktorá predstavuje kompromisnú hodnotu pre všetky tri špecie germánia.

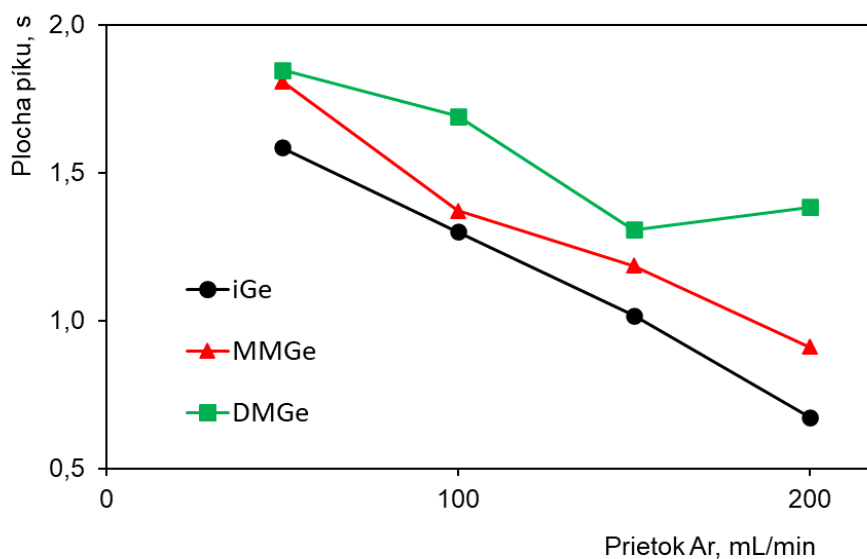
Vplyv prídavku vonkajšieho vzduchu na signál analytu je značne závislý na stanovovanom hydridotvornom prvku. V prípade Pb, Bi a Sb je vplyv zanedbateľný [65], čo prídavok optimálneho prietoku vzduchu výrazne zvyšuje signál nielen pre Ge, ako už bolo zistené v tejto práci, ale aj As[113],[114], Sn[115],[116], Se[113],[102],[65], a Te[65] ako bolo popísané v predchádzajúcich prácach.



Obrázok č. 19: Závislosť signálu troch špecií Ge ( $c = 2 \mu\text{g/mL}$ ) na prietoku vzduchu do MMQTA. Teplota atomizácie –  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ , prietok Ar –  $100 \text{ mL/min}$ .

#### 4.3.2 Prietok nosného plynu

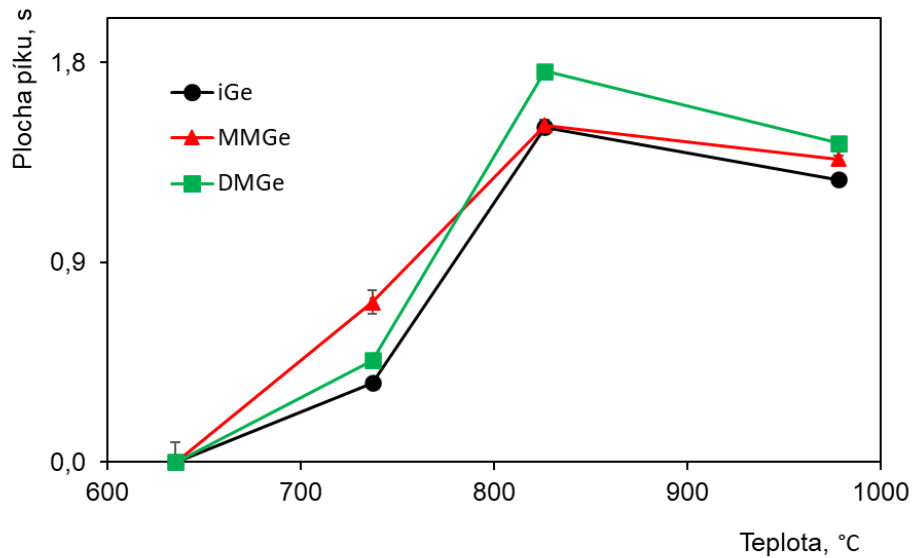
Na Obrázku 20 je znázornený vplyv rýchlosti prietoku nosného plynu na signál, ktorý klesá so zvyšujúcim sa prietokom Ar od  $50$  do  $200 \text{ mL/min}$ . Pri najvyššom prietoku dosahuje signál iGe a MMGe približne  $50 \%$  a signál DMGe približne  $75 \%$  maximálneho signálu. Prietoková rýchlosť  $100 \text{ mL/min}$  Ar bola zvolená ako optimálna, pretože predstavuje kompromis medzi citlivosťou a tvarom píku.



Obrázok č. 20: Závislosť signálu troch špecií Ge ( $c = 2 \mu\text{g/mL}$ ) na prietoku argónu. Teplota atomizácie – 900 °C, prietok vzduchu – 25 mL/min.

### 4.3.3 Atomizačná teplota

Špécie germánia nie je možné atomizovať pri teplote MMQTA 600 °C alebo nižšej. Signál Ge prudko narastá so zvyšujúcou sa teplotou atomizácie až do 800 °C, pričom medzi 830 až 1 000 °C dosahuje plató alebo mierne klesá v dôsledku expanzie plynu, ako je zrejmé z grafu na Obrázku 21. Ako optimálna bola zvolená teplota atomizácie 900 °C pre všetky tri špécie Ge.

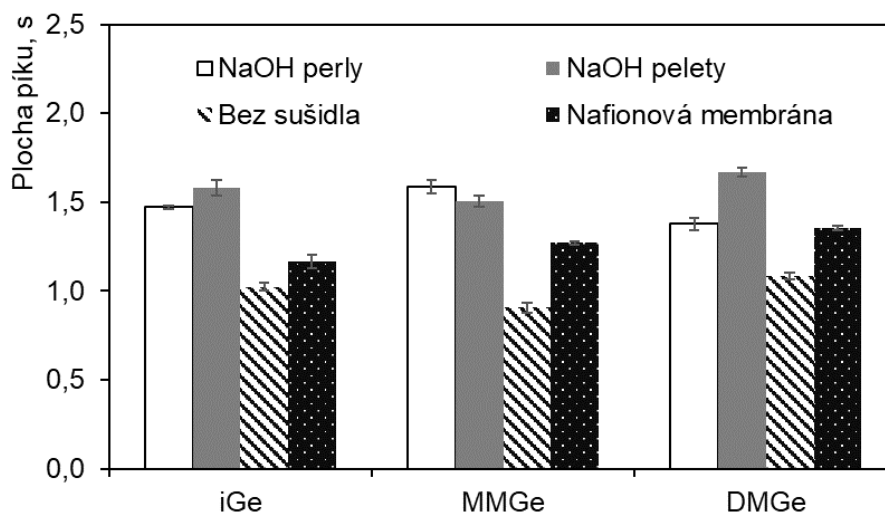


Obrázok č. 21: Závislosť signálu troch špecií Ge ( $c = 2 \mu\text{g/mL}$ ) na teplota atomizácii. Prietok Ar – 100 mL/min, prietok vzduchu – 25 mL/min.

#### 4.3.4 Vplyv sušidla

Signál špecií germánia sa v MMQTA zvyšuje pri použití sušidiel (Obrázok 22), čo predstavuje zaujímavý jav. Tento proces nie je častý pri iných prvkoch tvoriacich hydridy a atomizátoroch založených na QTA/MMQTA, nakoľko sa očakáva, že horúce prostredie atomizátora ľahko zvládne odpariť sprejové kvapky, ktoré sa vytvoria v hydridovom generátore a sú transportované do atomizátora.

Sušidlo na báze NaOH peliet sa vyhodnotilo ako najúčinnnejšie, nasledované sušidlom na báze NaOH perál, pričom sa pozorovalo znižovanie signálov o približne 20 % až 40 % pri použití Nafionovej membrány a v prípade neprítomnosti sušidla. Na ďalšie merania bola za optimum zvolená patróna naplnená NaOH peletami.



Obrázok č. 22: Efekt sušidiel na signál špecií Ge ( $c = 2 \mu\text{g/mL}$ ). Teplota atomizácie –  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ , prietok Ar –  $100 \text{ mL/min}$ , prietok vzduchu –  $25 \text{ mL/min}$ .

## 4.4 Optimalizácia podmienok v DBD

### 4.4.1 DBD v usporiadaní REF-SIN

Pre optimalizačné experimenty v DBD s lepenými elektródami a sínusovo modulovaným zdrojom vysokého napätia, tj. v konfigurácii REF-SIN, sa za modelový analyt zvolil iba iGe. Jedinou výnimkou boli experimenty so sušidlami a pri kontrole voľby plazmového plynu, pri ktorých sa využili štandardy všetkých troch špecií Ge. Bližšie informácie ohľadom výsledkov dosiahnutých v tejto konfigurácii je možné získať v publikácii [52], nakoľko merania neboli prevedené autorkou tejto diplomovej práce.

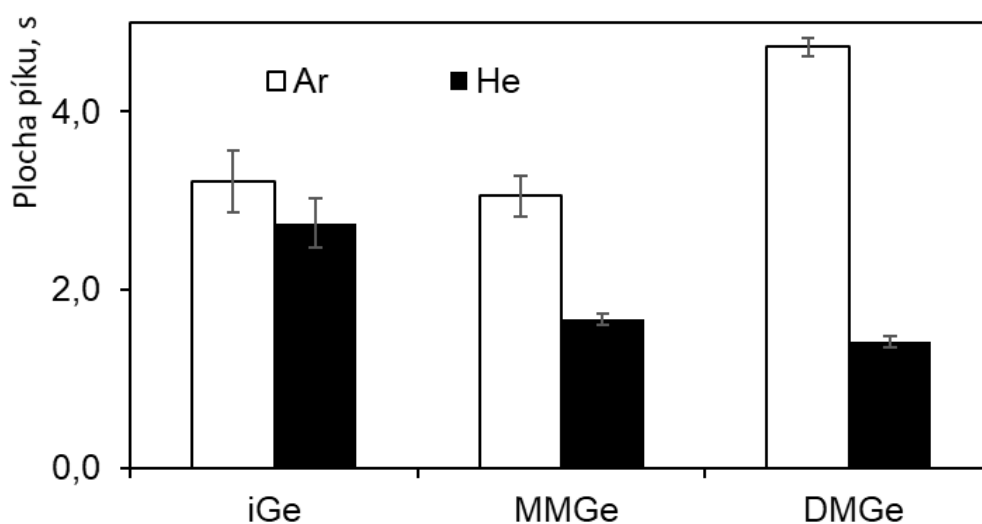
#### 4.4.1.1 Plazmový plyn

Konfigurácia REF-SIN môže byť prevádzkovaná v rôznych typoch plazmových plynov, vrátane argónu, hélia, dusíka a vodíka. Najlepšia odozva sa pozorovala pri použití argónu a vodíka, pričom odozva vo výboji s vodíkom mala horšiu opakovateľnosť v porovnaní s argónom. Signál vo výboji s héliom bol približne o tretinu nižší než vo výboji s argónom, zatiaľ čo signál vo výboji s dusíkom bol takmer zanedbateľný. Preto bol argón vybraný ako najlepší plazmový plyn [52].

V tejto diplomovej práci sa v konfigurácii REF-SIN porovnali dva nosné plyny, Ar a He, pričom bol študovaný ich vplyv na signál troch špecií Ge. Signál v Ar ako plazmovom



plyne poskytoval porovnateľné hodnoty v prípade iGe a MMGe, pričom DMGe vykazoval oproti iGe nárast o 47 %. Pri zámene nosného plynu z argóna na hélium, bolo pozorované klesanie signálov pre všetky špécie, čo bolo očakávané podľa prvotných meraní [52]. V porovnaní voči signálu v argóne, signály pre špécie klesli o 15 % pre iGe, 45 % pre MMGe a 70 % pre DMGe.



Obrázok č. 23: Porovnanie plochy signálov pre všetky tri špécie Ge ( $c = 2 \mu\text{g/mL}$ ) v konfigurácii DBD REF-SIN, zdroj vysokého napätia – 30 kV, prietok Ar/He – 100 mL/min.

#### 4.4.1.2 Prietok nosného plynu

Výboj je pomerne nestabilný pri prietoku 50 mL/min Ar alebo nižšom. V dôsledku toho sa odozva štandardu Ge skúmala v rozsahu od 100 do 600 mL/min Ar. Prietok Ar do DBD bol v týchto experimentoch rozdelený na dva prúdy. Prietok 100 mL/min Ar sa pridával cez hydridový generátor, zatiaľ čo zvyšok (0 – 500 mL/min Ar) sa dodával cez polypropylénový T-konektor za GLS. Toto usporiadanie zabezpečuje kompatibilitu hydridového generátora s prietokom Ar. Odozva iGe klesá so zvyšujúcim sa prietokom Ar v dôsledku zriedenia voľných atómov analytu plazmovým plynom. Prietok 100 mL/min Ar bol zvolený ako optimálny pre ďalšie experimenty [52].

#### 4.4.1.3 Vplyv napätia

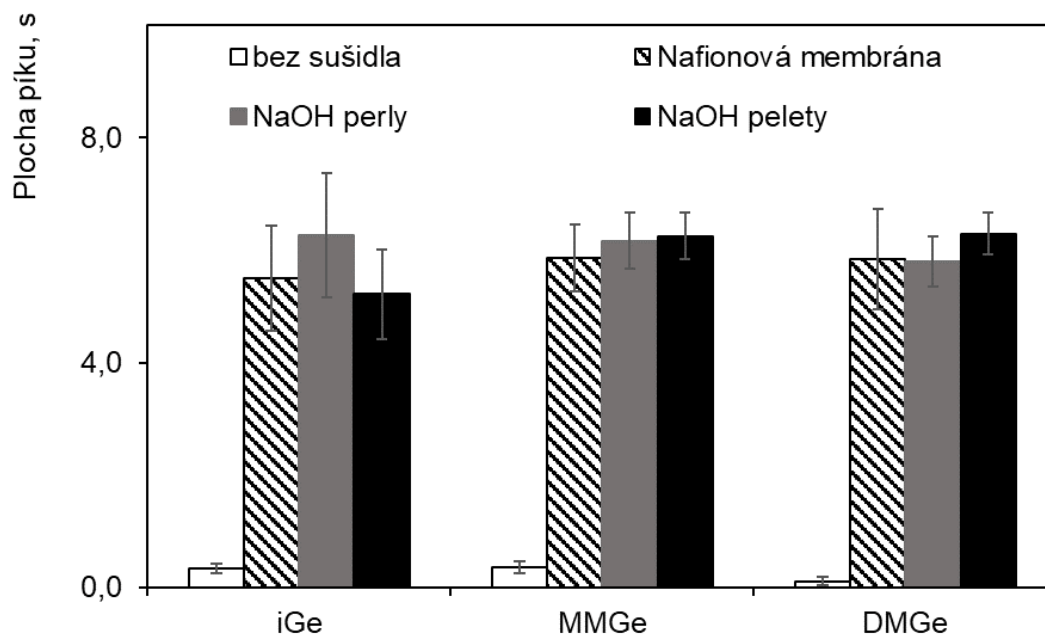
Bol študovaný vplyv nastavenia vysokého napätia dodávaného zo zdroja napätia so sínusovou moduláciou na signál iGe. Hodnoty napätia sa pohybovali od 8,5 kV, pri ktorých

bolo možné udržať výboj, až po najvyššiu skúmanú hodnotu 35 kV. Signál germánia sa postupne zvyšoval v rozsahu od 8,5 do 25 kV a následne dosiahol plató. Pre usporiadanie REF-SIN sa ukázalo ako optimálne nastavenie prietoku argónu 100 mL/min pri napätí 30 kV. Tieto parametre boli následne použité na skúmanie vplyvu prítomného sušidla pre všetky tri špecie germánia [52].

#### 4.4.1.4 Vplyv sušidla

Využitie sušidla má významný dopad na odozvu germánia. Aj keď je výboj možné udržať bez použitia sušidla a vizuálne vyzerá rovnako ako v prítomnosti sušidla, odozva všetkých špecií germánia bola v neprítomnosti sušidla zanedbateľná. Zdá sa, že povaha sušidla, či už sú to perly/pelety NaOH alebo membrána Nafion, nemajú vplyv, pretože všetky zlepšujú signál špecií germánia rovnakým spôsobom [52].

Ak signály merané s patrónou a peletami NaOH predstavujú 100 % hodnotu, signál v prítomnosti ostatných sušidiel sa pohybuje v intervale  $\pm 10\%$  od tejto referenčnej hodnoty. Iba v prípade špecie iGe a sušidla s náplňou NaOH periel je signál vyšší o 20 % než pri použití NaOH pelet. Za optimálne sušidlo sa zvolila patróna naplnená peletami NaOH pre jednoduchšie plnenie patróny a porovnateľný signál oproti perlám NaOH.



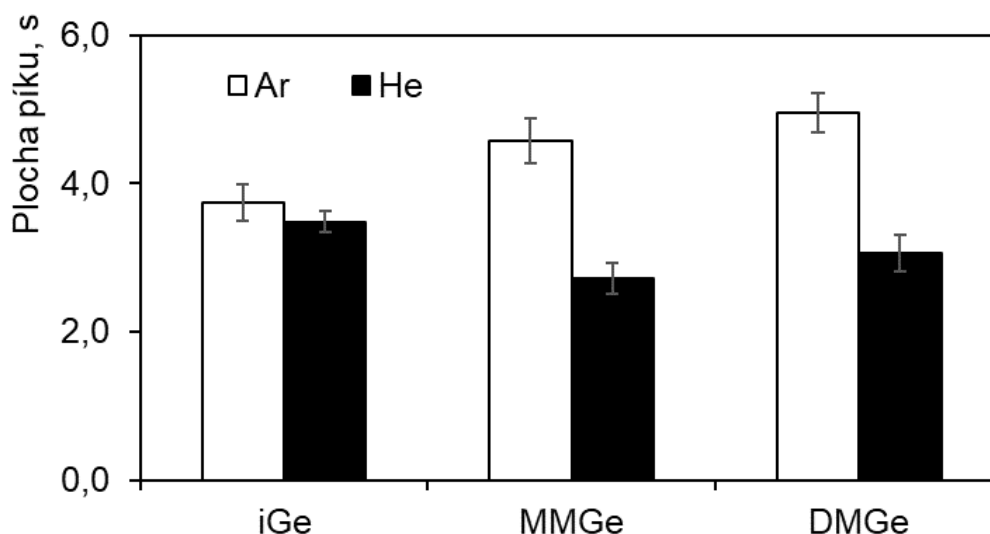
Obrázok č. 24: Vplyv rôznych typov sušidla na signál pre všetky špecie germánia o koncentrácii 1  $\mu\text{g/mL}$ , pričom boli vysoké napätie – 30 kV a prietok Ar – 100 mL/min.

#### 4.4.2 DBD v usporiadaní SE-SW

Vplyv rôznych parametrov na odozvu všetkých troch špecií Ge sa skúmal v usporiadaní DBD atomizátora s naprašovanými elektródami a rektangulárnym zdrojom vysokého napätia (SE-SW). Optimalizované parametre boli typ plazmového plynu, prietok nosného plynu a vysokého napätie zdroja.

##### 4.4.2.1 Výbojový plyn

Vplyv plazmového plynu bol obmedzený len na Ar a He, pretože plazmu nie je možné udržať vo vodíku alebo dusíku, na rozdiel od konfigurácie REF-SIN, o ktorej sa hovorí vyššie v kapitole 4.4.1.1. Vyššie signály sa vždy pozorovali v Ar, pričom odozva v He bola na úrovni 60 % odozvy v Ar pre MMGe a DMGe a 90 % pre iGe. Tieto pozorovania sú v dobrej zhode s pozorovaniami, ktoré sa uskutočnili predtým v atomizátore REF-SIN[52]. Ako plazmový plyn pre ďalšie experimenty bol preto zvolený argón.

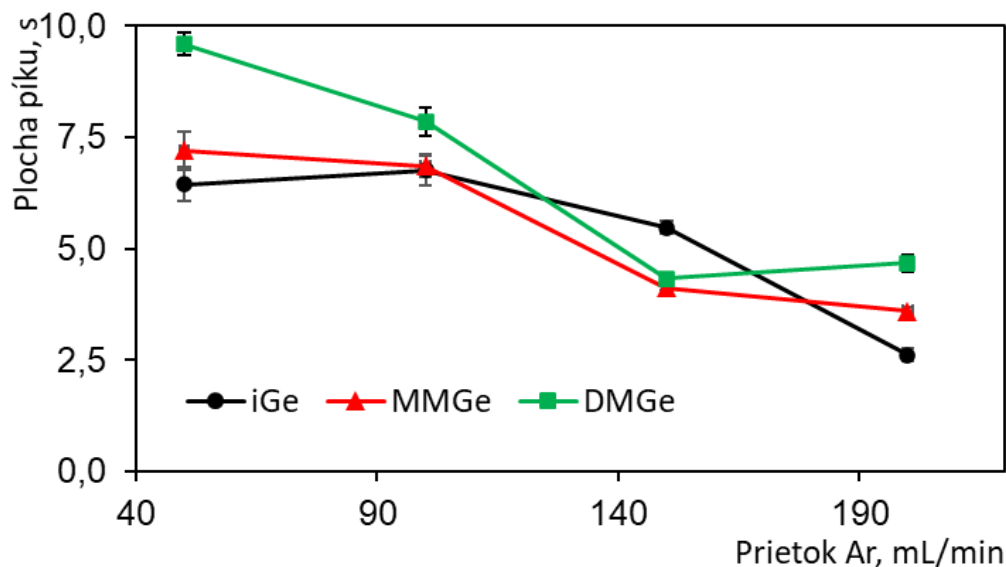


Obrázok č. 25: Porovnanie signálov v Ar a He pre špecie Ge o koncentrácii 1  $\mu\text{g/mL}$ . Vysoké napätie – 6,5 kV, prietok Ar/He – 100 mL/min.

##### 4.4.2.2 Prietok nosného plynu

Individuálne sa optimalizoval prietok Ar pre každú špeciu. Signál iGe a MMGe dosahuje stabilné hodnoty medzi 50 a 100 mL/min Ar, avšak pri vyšších rýchlostiach prúdenia plynu tento signál klesá, ako to vyplýva z grafu na Obrázku 26. Signál DMGe mierne klesá, asi

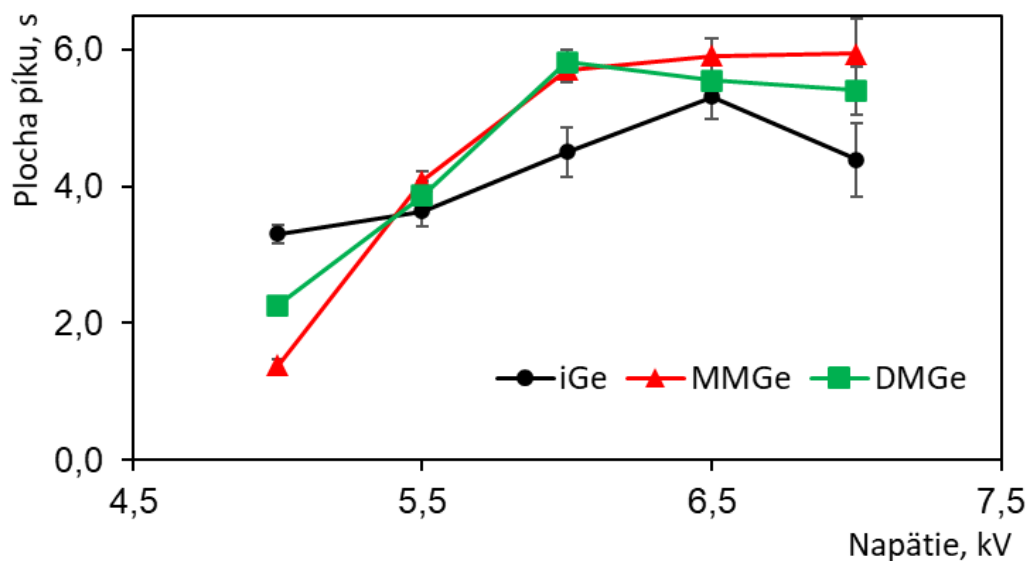
o 20 %, medzi 50 a 100 mL/min Ar s následným strmším poklesom. Prietok Ar 200 mL/min vedie k tomu, že signál všetkých druhov germánia dosiahne približne 40-50 % ich maximálneho signálu. Prietok Ar 100 mL/min bol zvolený ako optimálny pre všetky tri špecie, vzhľadom na citlivosť a tvar píku. Táto hodnota je rovnaká ako pri konfigurácii REF-SIN.



Obrázok č. 26: Závislosť signálu špecií germánia na prietoku Ar. Koncentrácie špecií činili 1 µg/mL a vysoké napätie – 7 kV.

#### 4.4.2.3 Optimalizácia hodnoty vysokého napätia

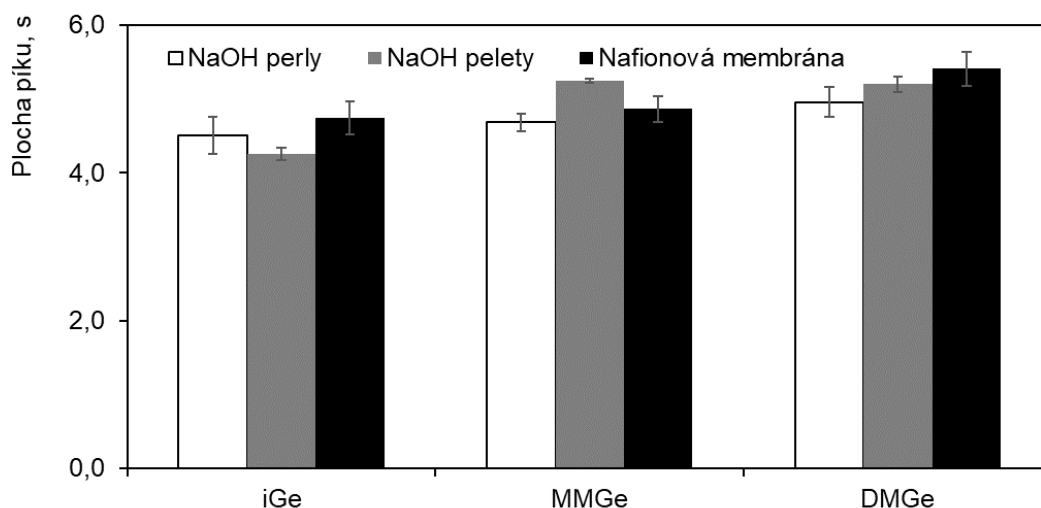
Použitím modulácie SW (square wave) na zdroji napájania je možné udržať výboj v DBD medzi 5,0 a 7,0 kV. Signál sa postupne zvyšuje pre všetky tri špecie germánia s rastúcim napätím od 5,0 do 6,0 kV, ako je zrejmé z grafu uvedeného na Obrázku 27. Signál MMGe a DMGe dosahuje stabilné hodnoty medzi 6,0 a 7,0 kV, zatiaľ čo maximálna odozva pre iGe sa dosahuje pri 6,5 kV, potom nasleduje mierne zníženie signálu. Pre všetky špecie germánia sa ako optimálna hodnota zvolilo napätie 6,5 kV.



Obrázok č. 27: Závislosť signálu špecií germánia na napätí zdroja. Koncentrácie štandardov všetkých špecií činili 1  $\mu\text{g/mL}$  a prietok Ar do systému – 100 mL/min.

#### 4.4.2.4 Vplyv sušidla

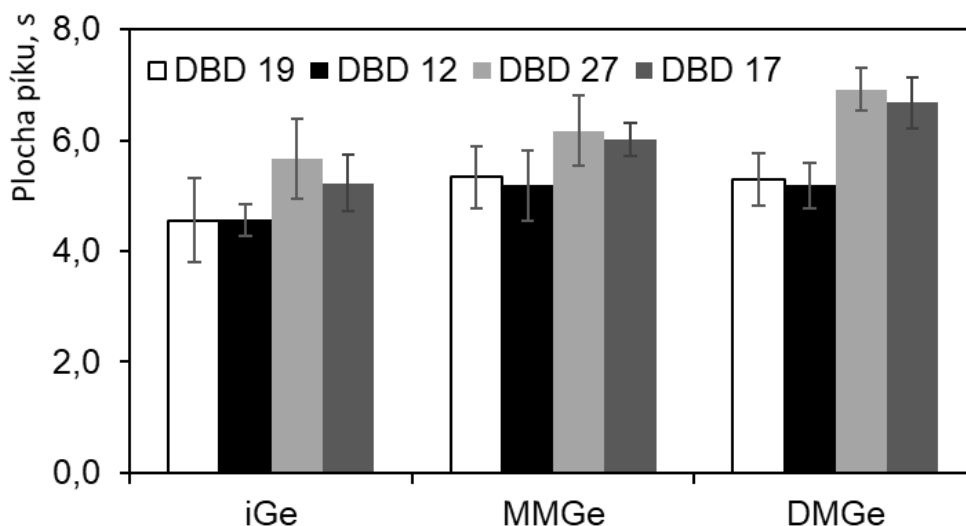
Vzhľadom na skutočnosť, že Ar výboj nemôže v DBD fungovať bez prítomnosti sušidla v usporiadaní SE-SW, boli porovnávané iba signály rôznych špecií germánia v prítomnosti sušidiel na báze NaOH (pelety, perly) a Nafionovej membrány. Podobne ako pri usporiadaní REF-SIN, nebol zistený žiadny výrazný rozdiel vo výsledkoch odozvy jednotlivých druhov germánia pri použití rôznych sušidiel (Obrázok 28). Signály, získané pri použití peliet NaOH ako referentného sušidla, vykazovali pri ostatných sušidlách hodnoty v rozmedzí  $\pm 12\%$  v porovnaní s týmito referenčnými hodnotami. Pre ďalšie experimenty bola vybraná patróna s náplňou na báze peliet NaOH ako optimum.



Obrázok č. 28: Porovnanie odozvy signálov Ge špecií pre rôzne typy sušidiel pri koncentrácii 1  $\mu\text{g/mL}$ , vysoké napätie – 6,5 kV, prietok Ar/He – 100 mL/min.

#### 4.4.2.4 Porovnanie DBD SE-SW atomizátorov

S úmyslom preukázať konzistenciu výsledkov medzi rôznymi atomizátormi rovnakej konštrukcie bola odozva všetkých špecií Ge zaznamenaná v štyroch odlišných atomizátoroch rovnakej konštrukcie v ten istý deň, pričom sa využili rovnaké optimálne podmienky atomizácie (6,5 kV, 100 mL/min Ar, sušidlo s náplňou NaOH peliet). Tieto výsledky sú graficky znázornené na Obrázku 29. Z toho vyplýva, že rozdiel v citlivosti medzi jednotlivými atomizátormi sa pohybuje približne na úrovni 25 %. Podobný rozdiel bol pozorovaný aj pri iných hydridotvorných prvkoch, a to nielen pri DBD, ale aj pri QTA.



Obrázok č. 29: Porovnanie odozvy signálov pre všetky tri špecie Ge v štyroch DBD atomizátoroch v konfigurácii SE-SW pri optimálnych podmienkach vysokého napätia – 6,5 kV a prietoku Ar – 100 mL/min. Koncentrácie špecií činili 1  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 4.4.2.5 Pasivácia povrchu

Použitie modifikácie vnútorného povrchu optického ramena DBD pasiváciou (silanizáciou) reaktívnych OH skupín s použitím dimetyldichlorsilánu (DMDCS) mala podľa predchádzajúcich štúdií zásadný pozitívny vplyv na odozvu signálu Bi v DBD [117]. Vplyv modifikácie DMDCS na odozvu signálu bol preskúmaný pre všetky tri špecie Ge. Použitie pasivácie DMDCS viedlo k zvýšeniu signálu o 30 - 40 %, konkrétne o 30 % pre iGe, 32 % pre MMGe a dokonca 44 % pre DMGe. Povrchová modifikácia sa však v tejto štúdii viac než na toto porovnávacie meranie nepoužívala.

### 4.5 Optimalizácia podmienok v APGD

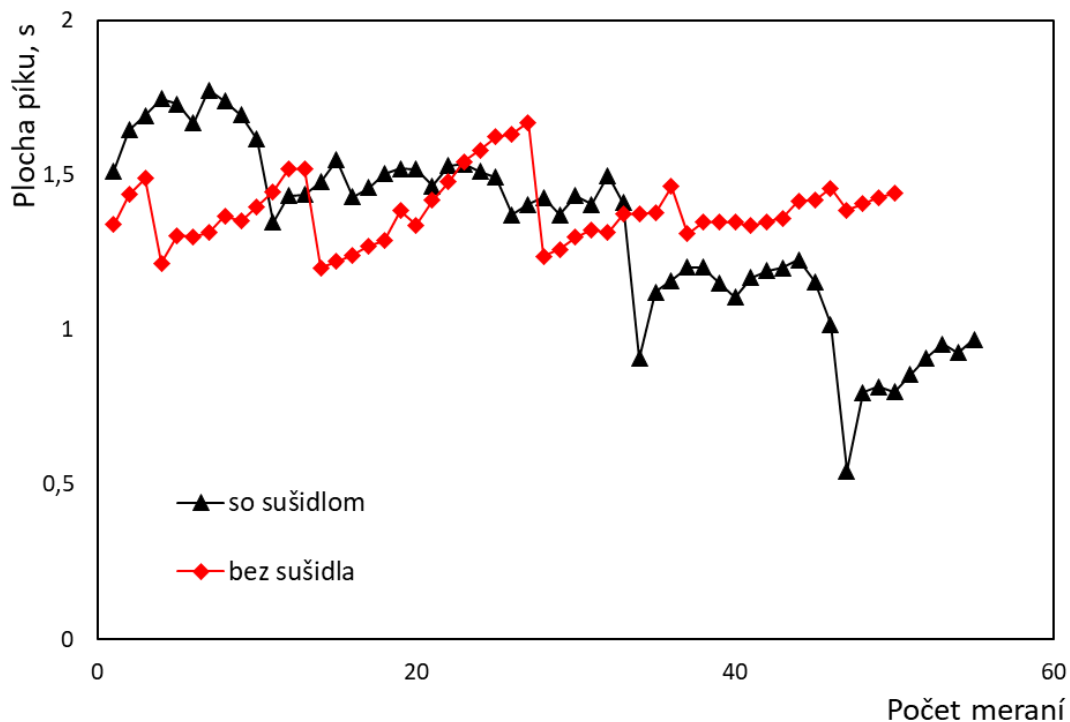
V usporiadaní APGD atomizátora boli skúmané rôzne parametre iba pre anorganickú formu germánia (ak nebolo špecifikované inak). Optimalizované parametre boli vplyv prítomnosti sušidla, prietok nosného plynu a hodnota napätia vysokonapäťového zdroja.

#### 4.5.1 Vplyv prítomnosti sušidla

Doterajšie experimenty prevedené v DF, MMQTA a obidvoch typoch DBD atomizátorov boli realizované za prítomnosti sušidla - sušiacej patróny s NaOH peletami. Preto aj pilotné experimenty v APGD atomizátore boli prevedené s použitím tohto sušidla. Po neskorších optimalizáciách bolo zaznamenané, že plazma horí bez výrazných ťažkostí aj bez

použitia sušidla. Z prevedených experimentov vyplýva, že stabilita signálu v prítomnosti sušidla je horšia než bez neho. Táto domnienka bola overená a následne potvrdená experimentálne. V nižšie uvedenom grafe na Obrázku 30 je zaznamenaný priebeh signálu v čase, po dobu meraní 50 replikátov a to jak v prítomnosti, tak v neprítomnosti sušidla. Signál Ge poklesol v prítomnosti sušidla o 52 % od začiatku merania až do jeho konca. V prípade neprítomnosti sušidla signál Ge nevykazoval žiadny trend.

Pre obidve konfigurácie, či už v prítomnosti sušidla, alebo i jeho neprítomnosti, bola citlivosť meraní porovnateľná – 3 ms/ng. V obidvoch prípadoch boli po prevedení 50 meraní vo vnútri APGD jasne pozorovateľné depozity Ge, pričom množstvo depozitu v neprítomnosti sušidla sa zdalo byť mierne menšie. Fotografie depozitov a ich kvantifikácie sú uvedené v kapitole 4.7.1. Ďalšie experimenty v APGD atomizátore prebiehali bez použitia sušidla.



Obrázok č. 30: Porovnanie zmeny signálov v priebehu viacerých meraní pre iGe o koncentrácii 1 µg/mL. Optimálnymi podmienkami pre tieto merania boli zdroj napätia 12V, prietok Ar<sub>HG</sub> – 100 mL/min a prietok Ar<sub>atomizátor</sub> – 100 mL/min.

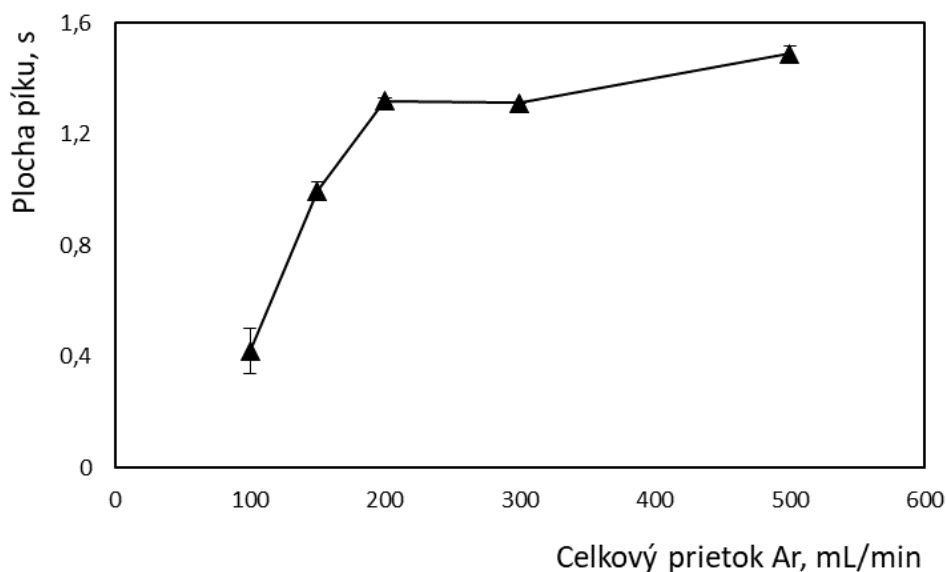
#### 4.5.2 Prietok plazmového plynu

Pred samotným meraním prietoku a jeho vplyvu na signál Ge sa vykonal experiment na určenie optimálneho výbojového plynu. APGD plazma je schopná horieť za prítomnosti



rôznych plynov ako už bolo spomínané v kapitole vyššie (kapitola 2.4.4). Síce v konfigurácii a zapojení v tejto diplomovej práci bol výboj pozorovaný v héliu aj argóne, signál bol ale detegovaný iba v Ar. Naďalej sa teda pracovalo s Ar a optimalizoval sa jeho prietok do generátora ( $Ar_{HG}$ ) a do APGD cez T-konektor umiestnený medzi výstup z GLS a vstup do prívodného ramena APGD ( $Ar_{atomizátor}$ ). Pre jednotnosť oproti ostatným meraniam s inými typmi atomizátorov sa za prietok Ar do generátora ( $Ar_{HG}$ ) zvolil 100 mL/min Ar. Následne sa optimalizoval prietok pomocného Ar cez T-konektor ( $Ar_{atomizátor}$ ).

Pri zvyšovaní celkového prietoku Ar (súčet prietokov  $Ar_{HG}$  a  $Ar_{atomizátor}$ ) od hodnoty 100 mL/min (tj. Ar prúdil iba cez generátor a hodnota prietoku  $Ar_{atomizátor}$  bola nulová) do 200 mL/min bol pozorovaný nárast signálu, ako je zrejmé z grafu na Obrázku 31. Pri ďalšom zvyšovaní bolo dosiahnuté plató. Na Obrázku 31 je uvedená závislosť signálu na celkovom prietoku Ar, vrátane Ar púšťaného cez generátor a za generátor. Za optimálnu hodnotu sa teda zvolil celkový prietok Ar 500 mL/min, ktorý vznikol kombináciou prietokov 100 mL/min Ar do generátora a 400 mL/min Ar cez T-konektor za GLS separátorom.

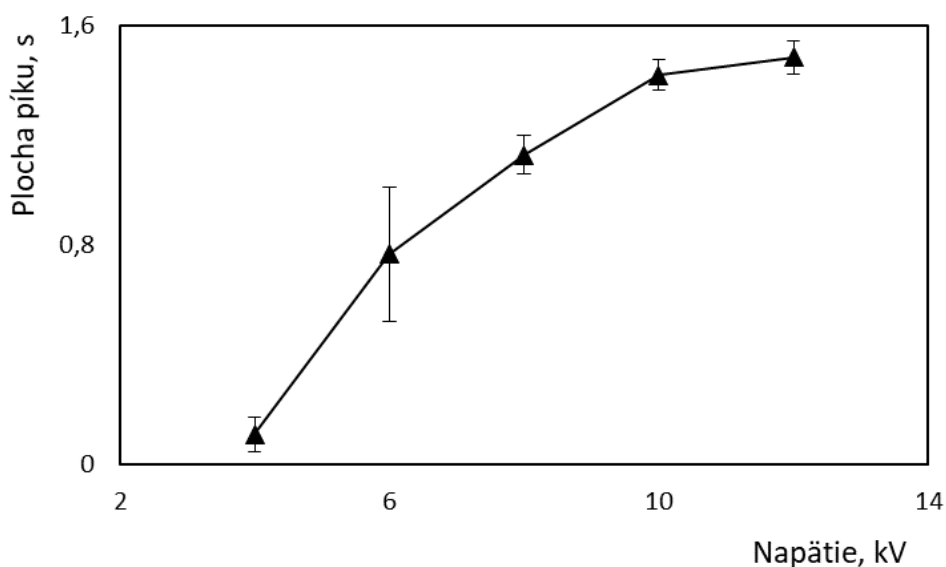


Obrázok č. 31: Vplyv prietoku argónu na signál Ge o koncentrácii 1  $\mu\text{g/mL}$ , zdroj napätia – 12 V.

#### 4.5.3 Optimalizácia hodnoty vysokého napätia

Optimalizovalo sa vkladané napätia pomocou vysokonapäťového zdroja na volfrámové elektródy. Pri nastavení zdroja pod hodnotu 4 V výboj nevznikal. Pri zvyšovaní výkonu zdroja sa výboj stabilizoval a dosiahol najvyšší signál pri najvyššej nastavenej hodnote zdroja, ako vyplýva z grafu na Obrázku 32. Výboj APGD plazmy vykazoval fialovú farbu, zriedkavo

modrú pravdepodobne z dôvodu difúzie kyslíka do výboja z okolitej atmosféry okolo otvorov pre elektródu. Stabilita výboja taktiež závisela na presnom nastavení dvoch hrotových elektród voči sebe. Akákoľvek odchýlka od nastavenia optimálnej geometrie elektród spôsobovala zvýšenie nestability plazmy v čase a zhoršovala šum signálu Ge. Za optimálnu hodnotu sa teda zvolila najvyššia možná hodnota nastavenia vysokonapäťového zdroja, tj. 12 V. Do budúca bude ešte prevedená presná charakteristika prúdových a napäťových charakteristík používaného zdroja APGD atomizátora. Diagnostika bude prevedená na spolupracujúcom pracovisku PŘF MU v Brne.



Obrázok č. 32: Závislosť signálu anorganickej špecie Ge o koncentrácii 1 µg/mL na zmenu napätia vo vysokonapäťovom zdroji. Prietok Ar<sub>HG</sub> – 100 mL/min a prietok Ar<sub>atomizátor</sub> – 100 mL/min.

#### 4.5.4 Porovnanie rôznych kusov APGD atomizátorov

Bola porovnávaná citlivosť meraní dosiahnutá v troch rôznych kusoch APGD atomizátorov rovnakej konštrukcie. Séria desiatich meraní bola prevedená na každom z uvedených atomizátorov pri optimálnych podmienkach celkového prietoku argónu 500 mL/min a napätia 12 V. Koncentrácia štandardu iGe pre všetky merania bola 1 µg/mL. Výsledky sú uvedené v Tabuľke č. 6.

Atomizátory číslo 13 a 15 boli čerstvo umyté v zmesi HNO<sub>3</sub>:HF, avšak APGD číslo 10 nebolo vyčistené pred meraním, ale jednalo sa o kus atomizátora, ktorý bol používaný pre meranie so špeciou iGe v rámci optimalizácií uvedených v predchádzajúcich kapitolách. Na základe dosiahnutých výsledkov je možné konštatovať, že rozdiely v citlivosti medzi

jednotlivými kusmi APGD atomizátorov (25 %) sú porovnateľné s tými predtým pozorovanými pre Ge v DBD atomizátoroch (kapitola 4.4.2.4).

Tabuľka č. 6: Citlivosti signálov Ge pre tri APGD atomizátory použité pre analýzu.

APGD	citlivosť (ms/ng)	RSD %
10	$3,0 \pm 0,1$	2,8
13	$2,3 \pm 0,2$	8,8
15	$2,7 \pm 0,1$	4,4

## 4.6 Analytické charakteristiky

Na úvod tejto kapitoly sú v Tabuľke č. 7 zhrnuté optimálne podmienky atomizácie germánia vo všetkých typoch hydridových atomizátorov používaných v tejto diplomovej práci.

Pre všetky typy atomizátorov optimalizovaných v tejto diplomovej práci boli získané kalibračné závislosti za optimálnych podmienok charakterizovaných v Tabuľke č. 7. Z hodnôt smerníc ich lineárnych častí boli určené hodnoty citlivosti stanovení špecií Ge. Hodnoty citlivostí boli vypočítané taktiež v rôznych dňoch z prevedených optimalizácií, pričom citlivosť pre danú špeciú a atomizátor bola stanovená vždy za optimálnych podmienok meraní uvedených v Tabuľke č. 7. Takto nameraných hodnôt citlivostí v rôznych dňoch (minimálne  $n = 5$ ) sú štatisticky spracované a prehľadne uvedené v Tabuľke č. 8.

Tabuľka č. 7: Zhrnutie optimálnych parametrov pre štyri typy atomizátorov: DF, MMQTA, DBD v obidvoch konfiguráciách a APGD.

<b>Atomizátor</b>	<b>Parameter</b>
<b>DF</b>	
Ar <sub>HG</sub> (mL/min)	100
Ar <sub>atomizátor</sub> (mL/min)	100
Prietok H <sub>2</sub> do plameňa (mL/min)	200
Pozorovacia výška (mm)	1
prítomnosť sušidla (NaOH pelety)	ÁNO
<b>MMQTA</b>	
Atomizačná teplota (°C)	900
Prietok Ar (mL/min)	100
Prietok vonkajšieho vzduchu (mL/min)	25
prítomnosť sušidla (NaOH pelety)	ÁNO
<b>REF-SIN</b>	
Vysoké napätie (kV)	30
Prietok Ar (mL/min)	100
prítomnosť sušidla (NaOH pelety)	ÁNO
<b>SE-SW</b>	
Vysoké napätie (kV)	6,5
Prietok Ar (mL/min)	100
prítomnosť sušidla (NaOH pelety)	ÁNO
<b>APGD</b>	
Vysoké napätie (V)	12
Ar <sub>HG</sub> (mL/min)	100
Ar <sub>atomizátor</sub> (mL/min)	400
prítomnosť sušidla (NaOH pelety)	NIE

Najvyššia citlivosť pre špecie Ge bola získaná meraním v konfigurácii DBD REF-SIN. Oproti sínusovej modulácii bola v SE-SW konfigurácii dosiahnutá citlivosť približne o 15 % nižšia než u REF-SIN, avšak merané píky boli viac symetrické. S pomedzi všetkých atomizátorov použitých v diplomovej práci bol difúzny plameň atomizátorom s najnižšou citlivosťou, ktorá bola asi 1,5-krát nižšia než hodnota pozorovaná v MMQTA. Citlivosť

dosahovaná v MMQTA bola porovnateľná s tou pozorovanou v APGD atomizátore. Všetky hodnoty sú uvedené v Tabuľke č. 8.

Tabuľka č. 8: Citlivosť stanovení Ge špecií pomocou HG-AAS s využitím rôznych typov hydridových atomizátorov.

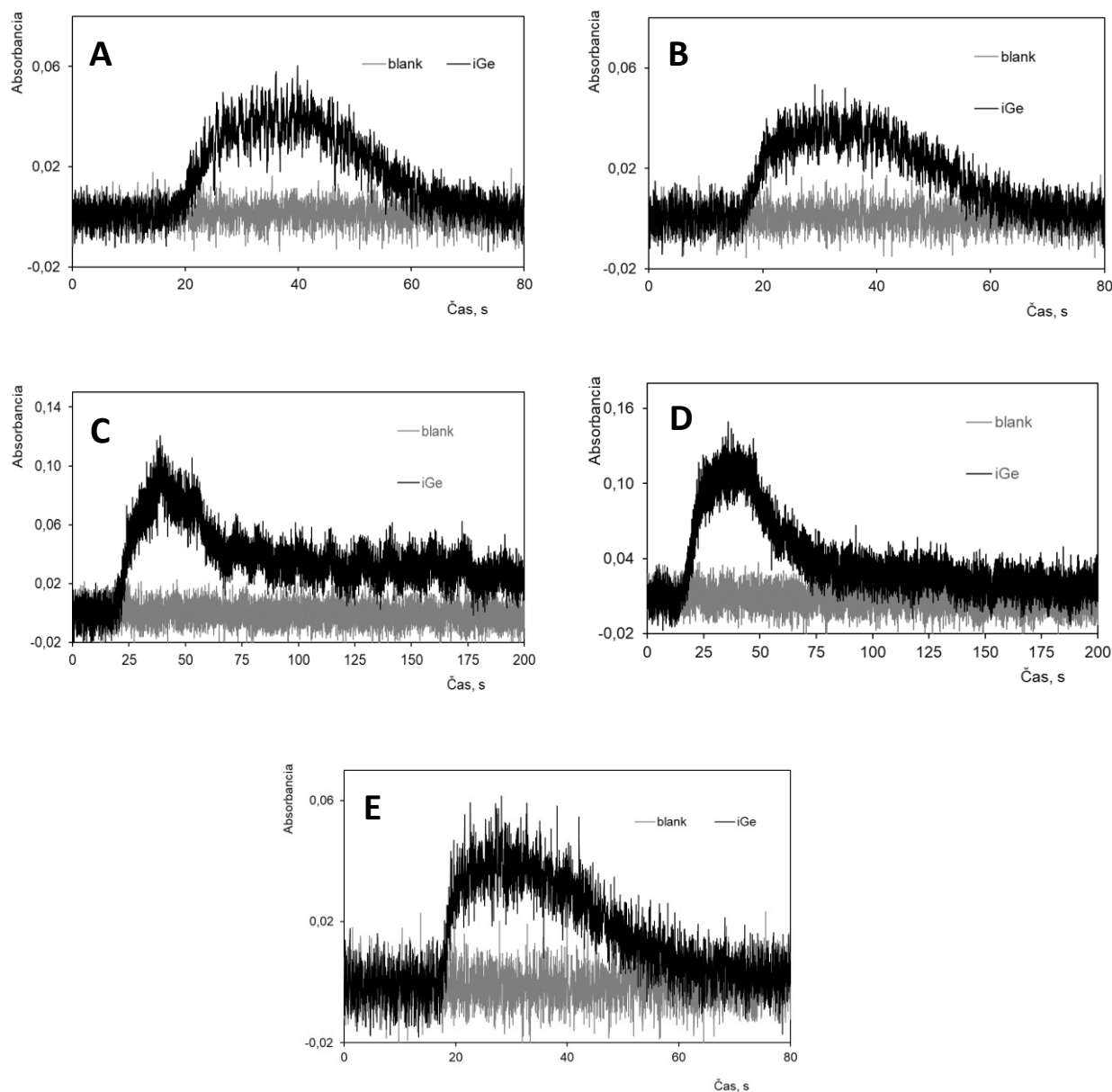
	<b>iGe</b> citlivosť (ms/ng)	<b>MMGe</b> citlivosť (ms/ng)	<b>DMGe</b> citlivosť (ms/ng)
<b>DF</b>	1,7 ± 0,5	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,2
<b>MMQTA</b>	2,8 ± 0,7	2,7 ± 0,5	3,1 ± 0,6
<b>REF-SIN</b>	11,0 ± 1,9	11,2 ± 1,9	13,7 ± 1,1
<b>SE-SW</b>	9,5 ± 1,1	10,5 ± 0,9	10,2 ± 0,7
<b>APGD</b>	3,1 ± 0,3	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2

Pri porovnávaní oboch usporiadaní atomizátorov DBD, REF-SIN a SE-SW, by malo byť uprednostnené druhé usporiadanie. Hoci citlivosť v usporiadaní SE-SW je trochu nižšia v porovnaní s usporiadaním REF-SIN, tvary píkov a opakovateľnosť plôch píkov sú v usporiadaní SE-SW výrazne lepšie. Výrazné chvostovanie píkov bolo pozorované v usporiadaní REF-SIN pre všetky tri špecie Ge, s najhoršími výsledkami pre iGe. Naopak, v usporiadaní SE-SW sa žiadny chvost píku nevyskytol. Porovnanie signálov iGe v oboch usporiadaniach DBD atomizátora je uvedené na Obrázku 33. Aj keď citlivosť dosiahnutá v DBD atomizátoroch je najvyššia zo všetkých testovaných atomizátorov v tejto štúdii, stále je o niekoľko rádov nižšia ako citlivosť pozorovaná v DBD atomizátoroch pre ostatné hydridotvorné prvky dosahujúce 400-600 ms/ng pre As [114],[103], Sb [118], a Se [102],[65],[119], okolo 300 ms/ng pre Te [65],[120],[66] a výrazne nižšie hodnoty (140 - 270 ms/ng) pre Bi [65],[117],[66],[121]. Ešte nižšie citlivosti boli publikované pre Pb [65],[66],[122] a Sn [115]. Citlivosť pre iGe zistená v tejto práci v DBD za optimalizovaných podmienok je stále päťkrát nižšia ako v prípade Pb a Sn a dokonca 50-krát ako v prípade analytov ako As, Sb, Se alebo Te.

Rovnako ako u DF, DBD či MMQTA, aj u APGD sa predpokladalo, že všetky tri špecie sa budú chovať rovnako, a tým pádom poskytovať porovnateľné citlivosti špecií. Citlivosti pozorované v APGD atomizáre sú porovnateľné s citlivosťami pre MMQTA, avšak iba v prípade iGe. Pre metylované špecie bola hodnota citlivostí o polovicu menšia. Tento rozdiel môže byť spôsobený iným mechanizmom atomizácie prechavých hydridov MMGe a DMGe,

alebo malou šírkou plazmového výboja, ktorý neposkytuje dostatočnú plochu pre atomizáciu v kremennej trubici APGD.

Na obrázku 33 sú uvedené signály anorganického Ge, vo všetkých štyroch typoch atomizátorov, ktoré boli v práci použité, pričom metylované špecie Ge poskytovali identický tvar píku v atomizátoroch, čo naznačuje skutočnosť, že mechanizmus špecií atomizácie sa medzi sebou výrazne nelíši.



Obrázok č. 33: Signály štandardov 1 µg/mL iGe v HG-AAS s použitím rôznych typov hydridových atomizátorov: difúzny plameň (A) a multiatomizátor (B), pre DBD s REF-SIN konfiguráciou (C) a DBD s SE-SW konfiguráciou (D), žiarivý výboj za atmosférického tlaku APGD (E). Optimálne podmienky meraní pre atomizátory sú zhrnuté v Tabuľke č. 7.

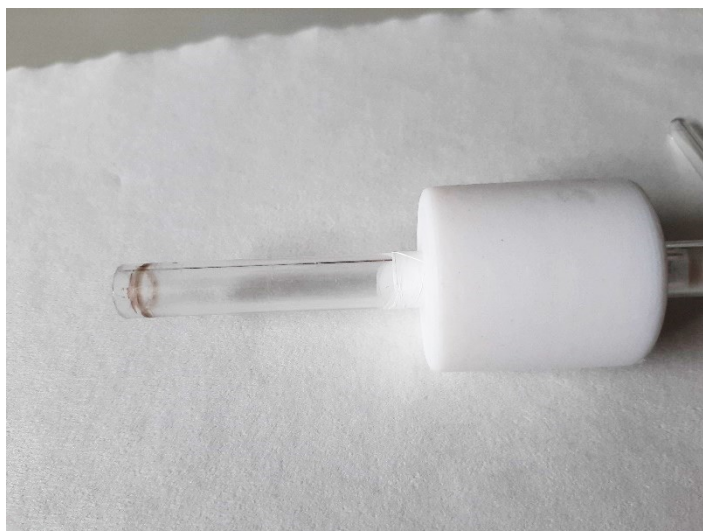
## 4.7 Mechanizmus atomizácie

Pre pochopenie mechanizmu atomizácie v atomizátoroch použitých v tejto diplomovej práci boli vykonané meranie s využitím rôznych spektrometrických techník. Experimenty boli prevedené iba s iGe ako modelovou špeciou, vo všetkých prípadoch sa teda jednalo o štúdium atomizácie  $\text{GeH}_4$ . Metódou výluhu bola stanovená frakcia Ge deponovaná po atomizácii vo všetkých študovaných typoch atomizátorov. Depozity Ge boli charakterizované morfológicky pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM) a röntgenovej štruktúrnej analýzy (EDS), avšak iba v prípade depozitov z DF atomizátora. Ďalej boli prevedené experimenty s LIF detekciou, ktoré viedli k stanoveniu účinnosti atomizácie hydridu Ge a zisteniu priestorovej distribúcie voľných atómov Ge v atomizátore. Tieto experimenty však boli prevedené iba s DBD atomizátorom v konfigurácii SE-SW a APGD atomizátorom. V blízkej budúcnosti sa bude s týmito štúdiami mechanizmu pokračovať.

### 4.7.1 Stanovenie deponovanej frakcie Ge

Experimenty vedúce ku kvantifikácii usadeného množstva Ge boli vykonané vo všetkých skúmaných atomizátoroch a ich experimentálne prevedenie je podrobne opísané v kapitole 3.5. Stručne povedané, použili sa kusy atomizátorov, ktoré sa používajú už dlhší čas a u ktorých bolo overené, že poskytujú stabilnú odozvu (citlivosť) v dlhšom časovom horizonte. Tieto kusy sa vyčistili, aby sa zabezpečilo, že sú bez usadenín z predchádzajúcich meraní, a potom sa v nich vykonal stanovený počet meraní ( $n = 50$ ). Atomizátory sa potom vylúhovali a obsah Ge vo výluhu sa stanovil pomocou ICP-MS/MS. Výsledky sú zhrnuté v Tabuľke č. 9.

V prípade DF a APGD boli po experimentoch v atomizátoroch jasne pozorovateľné zóny usadeného analytu sivočiernej farby, viz Obrázky 34 a 35. Atomizátor APGD sa skúmal v prítomnosti, a taktiež aj bez použitia sušidla (obrázok 35). V oboch prípadoch sa vytvorili usadeniny Ge. Do vnútorného priestoru optického ramena DBD atomizátora je ťažko vidieť, preto tam usadeniny neboli viditeľné pri pozorovaní voľným okom. V optickom ramene MMQTA, hoci je ľahko prístupné, tiež neboli viditeľné žiadne usadeniny.

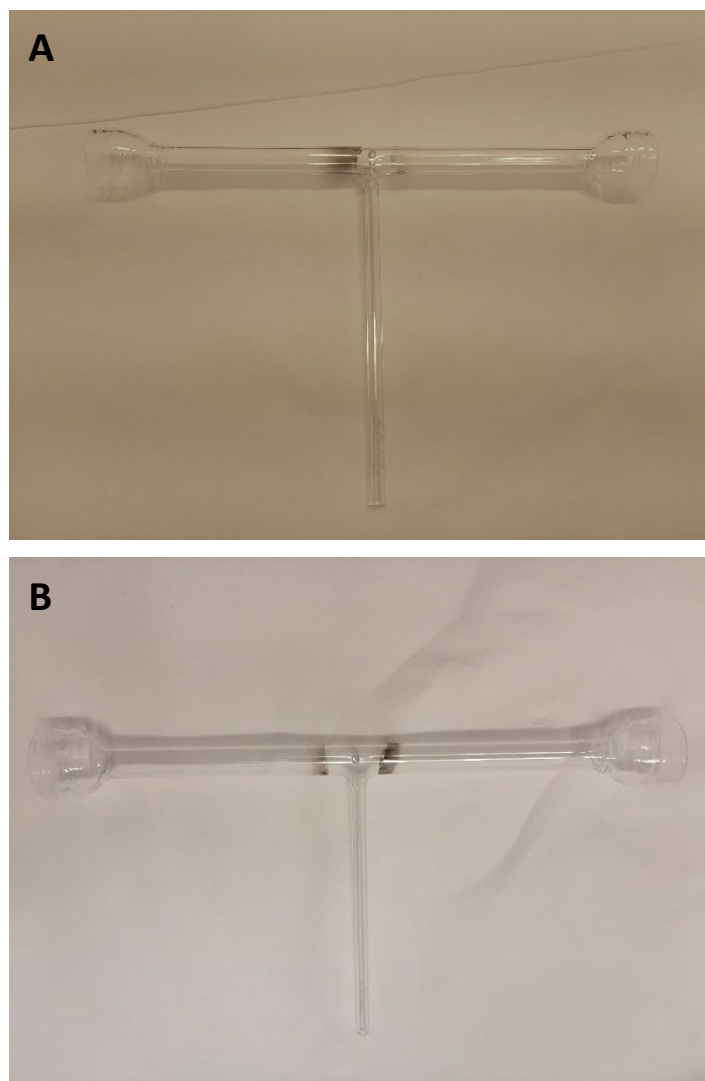


Obrázok č. 34: DF atomizátor s depozitom Ge tvoriaci prstenec v hornej časti trubice.

Hoci samotná zóna plameňa nie je v DF obklopená žiadnymi stenami, pred plameňom sa vytvárajú usadeniny, ktoré tvoria úzky tmavý prstenec v hornej časti trubice (Obrázok 34), ktorý je zahrievaný plameňom približne 3 mm od hornej časti nosnej trubice, čo je viditeľné aj voľným okom. Podiel germánia usadeného v tejto časti DF sa odhadol na menej ako 10 %.

Podobne ako v DF, aj v APGD atomizátore bolo pozorované usadzovanie Ge frakcie vo forme ostro ohraničených zón. Plazmový výboj generovaný medzi dvoma elektródami, obklopený stenami kremenného atomizátora, vytvára v porovnaní s DF uzavretejší priestor. Zóny usadenín Ge sa vytvárajú v tesnej blízkosti otvorov v elektródach v oblasti približne 3 mm od plazmového výboja. V závislosti od pozície volfrámovej katódy a horiaceho plazmového výboja sa usadeniny tvoria na jednej dominantnejšej strane alebo symetricky na oboch stranách. Na Obrázku 35 sú zobrazené dve fotografie z dvoch identických meraní s rozdielom prítomnosti a neprítomnosti sušiackej patróny za hydridovým generátorom. Vplyv sušidla na signál Ge v AAS je opísaný v časti 4.5.1. Polohu depozitov môže ovplyvniť aj vysoký prietok Ar, ktorý unáša voľné atómy Ge. Bez ohľadu na prítomnosť alebo neprítomnosť sušidla sa množstvo Ge usadeného v atomizátore APGD pohybuje približne okolo 50 %.





Obrázok č. 35: Rovnaký APGD atomizátor s rôznymi oblasťami depositovaného zrkadla vrstvy Ge na stenách kremennej trubice. Rozdiel medzi fotografiami : prítomnosť sušidla (A) pri analýze a absencia (B).

Podiel germánia usadeného po atomizácii  $\text{GeH}_4$  v usporiadaní atomizátorov MMQTA a SE-SW sa odhadol na približne 80 %, čo naznačuje rýchly zánik voľných atómov Ge reakciami s vnútorným povrchom atomizátorov. V prípade REF-SIN je to približne 40 % podielu Ge usadeného v atomizátore (Tabuľka č. 9).

S výnimkou DF, kde je množstvo usadeného analytu logicky menšie vzhľadom na geometrické usporiadanie atomizátora, možno konštatovať, že všetky ostatné skúmané atomizátory vykazujú mieru depositov vo vyšších desiatkach percent. V prípade MMQTA nie sú usadeniny viditeľné voľným okom, čo možno vysvetliť tým, že sú rozložené na väčšej ploche vnútorného povrchu v dôsledku vysokej teploty optického ramena.

Tabuľka č. 9: Množstvo depozitov Ge v atomizátoroch stanovené pomocou ICP-MS/MS.

	Vylúhovaná frakcia (%)
<b>DF</b>	8
<b>MMQTA</b>	62
<b>REF-SIN</b>	39
<b>SE-SW</b>	76
<b>APGD</b>	53*
<b>APGD</b>	51**

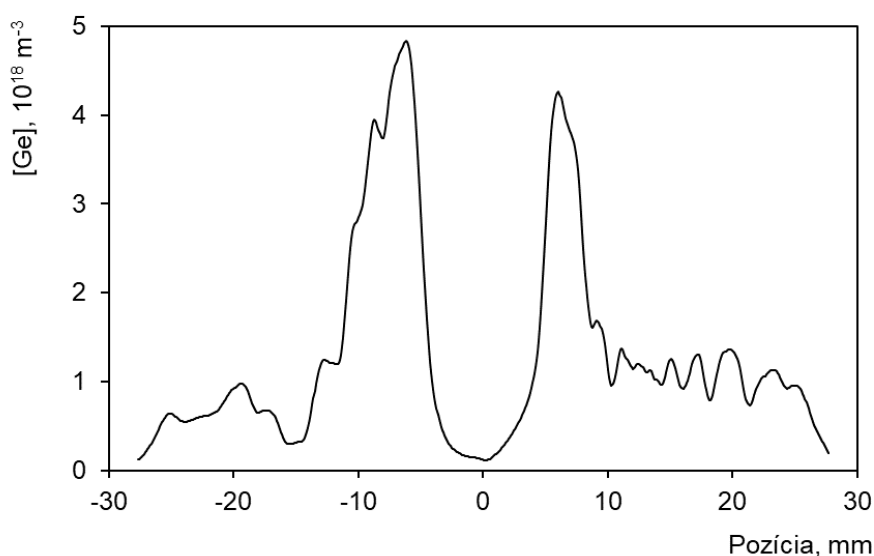
\*so sušidlom    \*\*bez sušidla

#### 4.7.2 Distribúcia voľných atómov a stanovenie atomizačnej účinnosti pomocou LIF

Na stanovenie absolútnej koncentrácie voľných atómov germánia vytvorených v atomizátore a zároveň štúdiom ich priestorového rozloženia v optickom ramene sa použila technika laserom indukovanej fluorescencie (LIF), ktorej experimentálne usporiadanie je opísané v kapitole 3.6. HG-LIF metódu využili v práci [123] na stanovenie obsahu Ge v referenčných vzorkách vody, vzorkách popolu a doplnkových kapsulách. Dokazujú, že HG-LIF je možné merať Ge v rôznych matriciach vzoriek v environmentálne relevantných koncentráciách s detekčným limitom 0,1 ng/mL pre Ge. Na rozdiel od štúdie [123], v ktorej sa detekčná technika LIF používala na rutinné stanovenie, v tejto práci sa používa na diagnostické účely.

Merania sa uskutočnili za optimálnych podmienok generovania (Tabuľka č. 4) a atomizácie (Tabuľka č. 7). Rozloženie voľných atómov a ich absolútna koncentrácia v DBD atomizátore v konfigurácii SE-SW je znázornená na Obrázku 36. Výsledky podobného experimentu vykonaného v atomizátore APGD sú uvedené na Obrázku 37. Súradnice zobrazené na osi x zodpovedajú rozmerom optického ramena, pričom súradnica 0 mm na oboch obrázkoch zodpovedá stredu optického ramena, jeho spojeniu s prírodným ramenom. Pri znalosti účinnosti generovania  $\text{GeH}_4$  z  $\text{iGe}$ , ktorej odpovedá 100 % (viz kapitola 4.1.3, Tabuľka č. 5), koncentrácie štandardu  $\text{iGe}$  a jeho dávkovaný objem, je možné vypočítať teoretickú hodnotu koncentrácie voľných atómov Ge očakávanú v atomizátore a porovnať ju s experimentálne nameranou hodnotou. Je potrebné zdôrazniť, že pri výpočte teoretickej koncentrácie voľných atómov Ge v plynnej fáze je nutné zohľadniť celkový prietok plynu vrátane  $\text{H}_2$  vznikajúceho počas HG kroku, ako aj tepelnú expanziu plynnej fázy v závislosti od použitých podmienok

atomizácie. Na účely výpočtu sa použili teploty atomizácie v atomizátoroch DBD a APGD 550 K a 1200 K [76],[124].

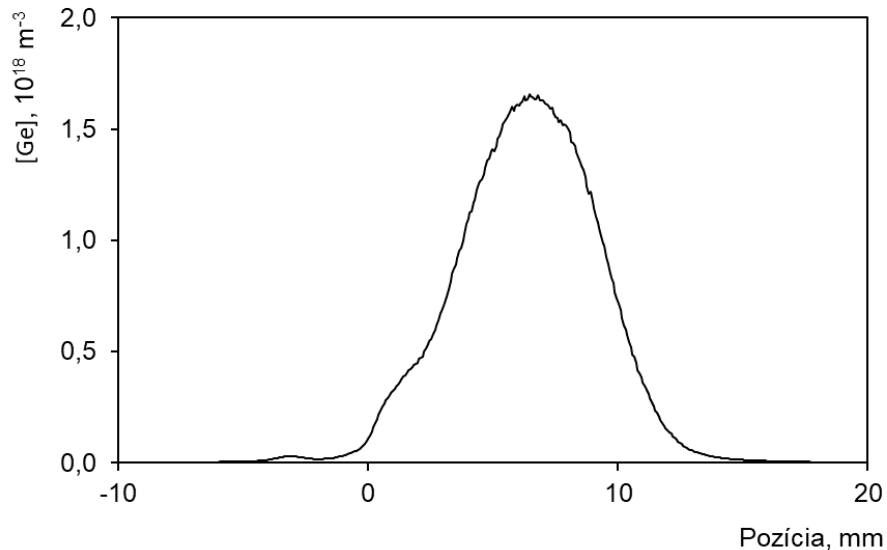


Obrázok č. 36: Koncentrácia voľných atómov Ge a ich priestorové rozloženie v optickom ramene DBD SE-SW atomizátora. Prietok Ar – 100 mL/min, koncentrácia iGe – 2 µg/mL, prítomnosť vodíka z generovania – 8 mL/min.

Za experimentálnych podmienok použitých v experimente HG-LIF s DBD atomizátorom v konfigurácii SE-SW (Obrázok 36) by teoretická koncentrácia voľných atómov v ideálnom prípade, za predpokladu úplnej atomizácie GeH<sub>4</sub> a bez zániku vzniknutých voľných atómov Ge, bola  $8,3 \times 10^{19} \text{ m}^{-3}$ . V prípade ideálneho správania sa voľných atómov by táto koncentrácia mala dosiahnuť v celom objeme DBD plazmy, tj. pozdĺž elektród medzi súradnicami osi x -25 a +25 mm. Údaje LIF však ukazujú asi 5 % tejto hodnoty s maximom približne pri -7 mm a +7 mm. Toto pozorovanie svedčí o rýchлом zániku atómov Ge a je v priamom rozpore s pozorovaniami HG-LIF v porovnaní s inými hydridotvornými prvkami, akými sú Se alebo Te [120]. Obdobne nízku účinnosť atomizácie ( $23 \pm 7 \%$ ) a podobné rozloženie voľných atómov analytu pri optimálnych podmienkach pozorovali pre PbH<sub>4</sub> v článku [122].

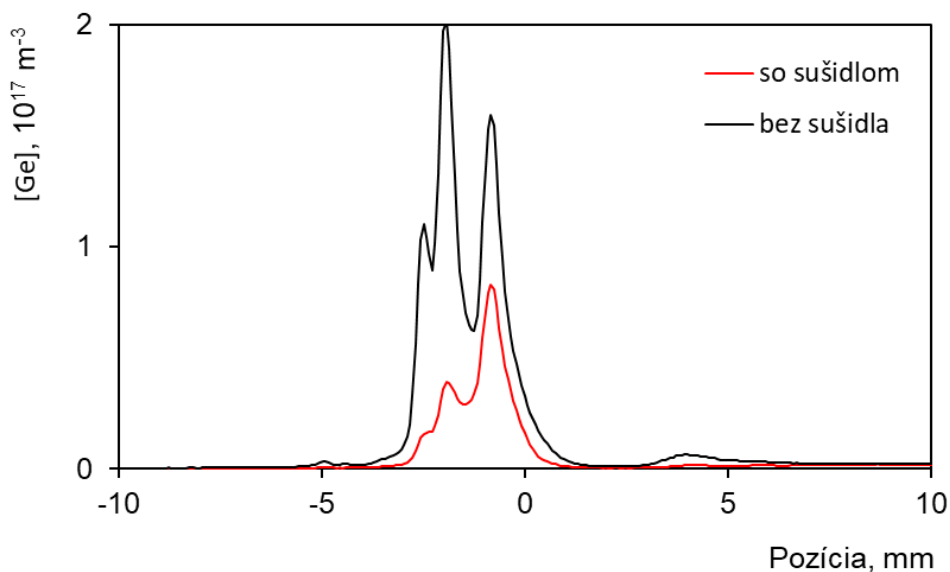
Analogický experiment s detekciou LIF bol vykonaný aj pre atomizátor APGD (Obrázok 37). Za predpokladu úplnej atomizácie GeH<sub>4</sub> a bez zániku vzniknutých voľných atómov, by sa za daných experimentálnych podmienok očakávala koncentrácia voľných atómov Ge, ktorá by pri teplote výboja 1000 – 1200 K dosiahla hodnotu 2,0 až  $2,4 \times 10^{18} \text{ m}^{-3}$ . Namerané hodnoty dosahujú približne 75 % tejto teoreticky očakávanej hodnoty v maxime, čo naznačuje

účinnú atomizáciu  $\text{GeH}_4$  v APGD atomizátore. Tento výsledok je dôležitý a poukazuje na veľký potenciál APGD ako atomizátora pre prchavé špecie Ge. Oblasť plazmy je v APGD krátka, a preto nie je veľmi kompatibilná s detekciou AAS. Doba života voľných atómov Ge nie je mimo oblasti výboja veľmi dlhá. Napriek tomu má zmysel ďalej študovať APGD atomizátor pre Ge ako analyt.



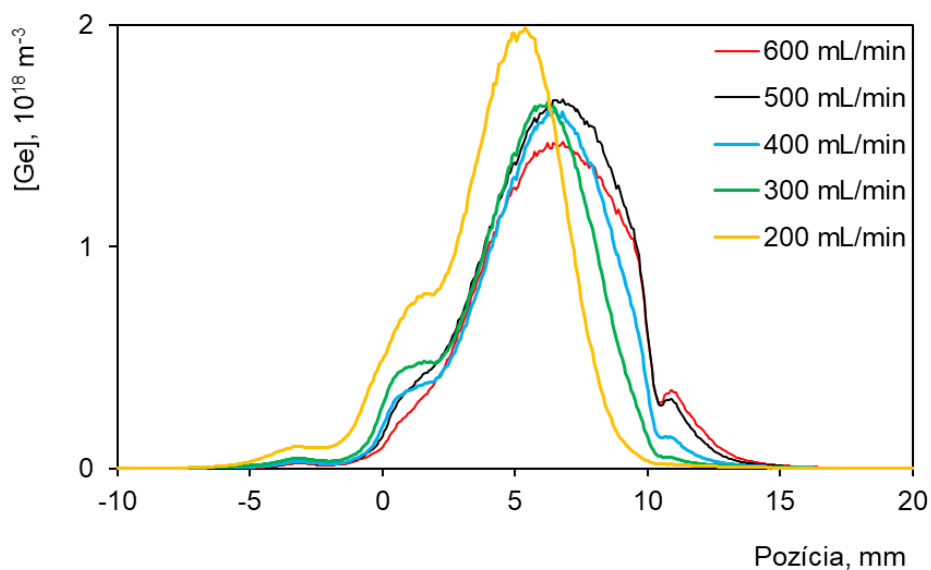
Obrázok č. 37: Koncentrácia voľných atómov Ge a ich priestorové rozloženie v optickom ramene APGD atomizátora. Celkový prietok Ar – 500 mL/min, koncentrácia iGe – 500 ng/mL.

Hoci sú merania HG-LIF náročnejšie a prácnejšie, okrem uvedených experimentov sa vykonali aj ďalšie experimenty na porovnanie presnosti výsledkov získaných pomocou HG-AAS. Išlo o štúdiu vplyvu sušidla na signál v APGD atomizátore (Obrázok 38). Pozorovania vykonané pomocou HG-LIF sú v súlade s výsledkami pozorovanými pomocou HG-AAS a diskutovanými v kapitole 4.5.1. Výhodnejšie je vykonávať merania s APGD atomizátorom v neprítomnosti sušidla.



Obrázok č. 38: Koncentrácia voľných atómov Ge a ich priestorová distribúcia v optickom ramene APGD pre dve série meraní: bez sušiackej patróny (čierna) a so sušiacou patrónou (červená) v HG-AAS systéme. Celkový prietok Ar – 500 mL/min, koncentrácia iGe – 500 ng/mL.

Pri porovnávaní signálov nameraných v APGD pomocou LIF uvedených na Obrázkoch 37 (signál Ge za optimálnych podmienok) a 39 (vplyv prietoku Ar) je zrejmé, že pri meraniach boli dosiahnuté porovnateľné citlivosti, zatiaľ čo meranie prevedené na Obrázku 38 (vplyv sušidla) vykazuje citlivosť o rád nižšiu. Dané pozorovania sú v dobrej zhode s pozorovaniami diskutovanými v kapitole 4.5.1, ktorá sa týkala vplyvu sušidla na signál iGe, stabilitu signálu v čase a tvorbu depozitov. Merania na Obrázkoch 37 a 39 boli uskutočnené v neprítomnosti sušidla a počas LIF experimentu nedochádzalo k výraznejšej tvorbe depozitu Ge na stenách optického ramena APGD, a tým pádom ani k zmenám citlivosti. Naopak pri meraní uvedených na Obrázku 38 boli prevedené opakované merania jak v prítomnosti, tak i neprítomnosti sušidla. Pri meraniach v prítomnosti sušidla dochádzalo k pomerne rýchlej tvorbe depozitu Ge, a tým aj k zníženiu priepustnosti steny APGD pre fluorescenčné žiarenie, ktoré bolo detegované ICCD kamerou cez stenu atomizátora (kolmo na smer prechádzajúceho laserového zväzku). Z toho dôvodu dochádzalo počas týchto meraní k výraznému poklesu citlivosti. Záznamy uvedené na Obrázku 38 boli namerané v krátkom časovom intervale tesne po sebe.

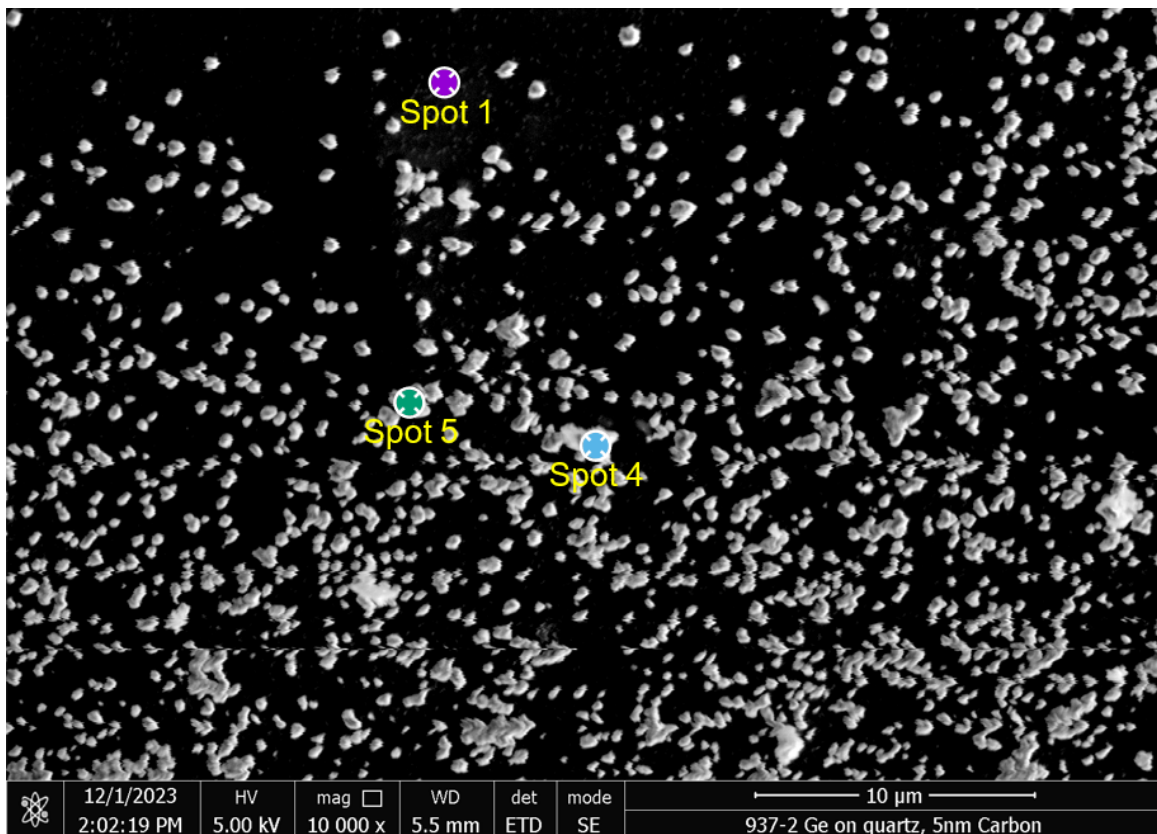


Obrázok č. 39: Koncentrácia voľných atómov Ge a ich priestorová distribúcia v optickom remene APGD pre rôzne prietoky Ar, koncentrácia iGe 500 ng/mL.

Bola vykonaná séria experimentov na preskúmanie vplyvu prietoku argónu na signál voľného atómu pomocou detekcie LIF. Celkový prietok argónu sa menil od 200 do 600 mL/min a výsledky sú znázornené na Obrázku 39. Merania s detekciou LIF sú vo výbornej zhode s meraniami získanými v APGD atomizátore s detekciou AAS (kapitola 4.5.2, Obrázok 31). Pri oboch detektoroch sa pozoroval konštantný signál v rozsahu prietoku 200 – 600 mL/min Ar.

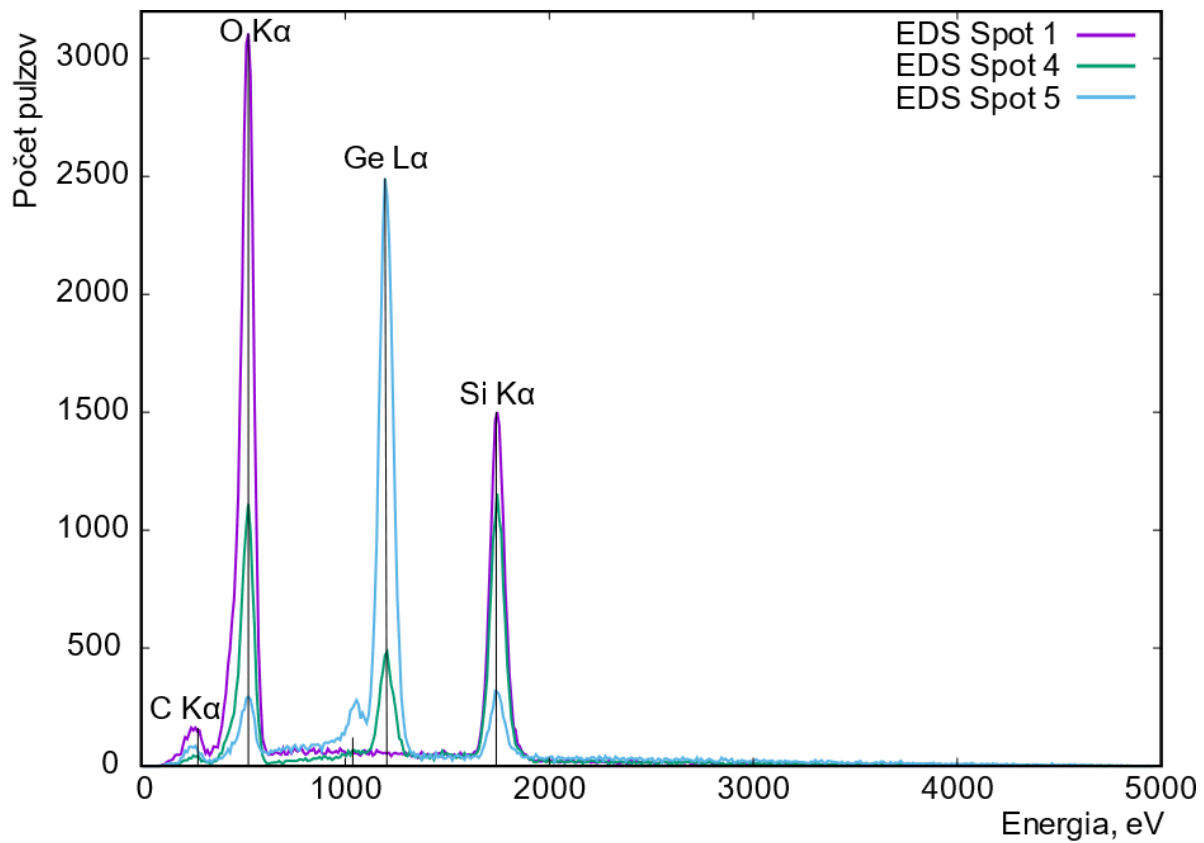
#### 4.7.3 Charakterizácia depozitu Ge pomocou SEM a EDS

S pomocou Dr. O. Benadu z Laboratória charakterizácie molekulárnej štruktúry Mikrobiologického ústavu Akadémie vied Českej republiky, boli použité dve metódy na charakterizáciu deponovaných vrstiev Ge v DF atomizátore, a to skenovacia elektrónová mikroskopia (SEM) a energiovo disperzná röntgenová spektrometria (EDS). Popis prevedených experimentov je uvedený v kapitole 3.7. Pomocou SEM bolo možné pod mikroskopom vizualizovať depozity Ge v atomizátore (Obrázok 40), v tomto prípade sa jedná o pozdĺžny rez horným koncom trubice DF atomizátora. Z Obrázku 40 je vidieť, že vrstva nanoseného Ge nie je homogénna. Depozit sa skladá z nanočastíc a ich zhlukov, medzi ktorými je zrejmy voľný povrch kremenného skla. Okrem toho sú na Obrázku 40 na SEM snímke zobrazené miesta (spoty) 1,4 a 5, na ktorých bola vykonaná EDS analýza. Namerané EDS spektrá sú znázornené na Obrázku 41. V prípade EDS spotu 1 - ide o pozadie, tj. kremenné sklo DF trubice; EDS spoty 4 a 5 sú oblasti s deponovaným Ge.



Obrázok č. 40: SEM snímka depozitu Ge v kremennom DF atomizátore, úprava vzorku naprašovaním vrstvy uhlíku o hrúbke 5 nm, koncentrácia iGe – 1  $\mu\text{g/mL}$ .

Spot 1 vykazuje vysoký signál kyslíka a kremíka, ktorý zodpovedá kremennej trubici atomizátora. Pri zameraní sa na spot 4 je pozorovaný jemný pokles signálov kremíku a kyslíku a nárast píku predstavujúceho germánium. Množstvo Ge v tomto spote však nie je dostatočne veľké na to, aby pokrylo signál pozadia, takže môže ísť o tenkú vrstvu depozitu. Nakoniec možno pozorovať výrazný nárast signálu Ge v spote 5, pretože ide o oveľa väčší depozit. Signál pozadia je taktiež opäť potlačený v porovnaní so spotom 4, čo naznačuje nehomogenitu tvorby vrstvy. V prípade depozitov germánia sa nepozoruje žiadny nárast píku kyslíka, čo by naznačovalo, že deponovaná forma je pravdepodobne elementárna a nie vo forme oxidu,  $\text{GeO}_2$ .



Obrázok č. 41: EDS analýza Ge na troch miestach (spotoch) vyznačených na Obrázku 40.

Tieto pokusy si žiadajú nadväzujúcu hĺbkovú analýzu, ktorá by v budúcnosti mohla objasniť a priniesť bližšie informácie o mechanizme vzniku depozitov Ge.



## 5 Záver

Cieľom tejto diplomovej práce bolo optimalizovať podmienky stanovania troch špecií germánia pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie s hydridovým generovaním (HG-AAS). Vybrané špecie boli anorganické germánium (iGe), a jeho metylsubstituované deriváty monometylgermánium (MMGe) a dimetylgermánium (DMGe).

Dôležitým poznatkom počas optimalizácie podmienok generovania bolo pozorovanie vplyvu prítomnosti L-Cys na signál všetkých troch špecií Ge. Bolo pozorované, že prítomnosť L-Cys je nevyhnutná na dosiahnutie vysokej účinnosti generovania metylsubstituovaných špecií. Naopak, v prípade iGe prídavok 1 % L-Cys nezvyšuje účinnosť generovania, ale jeho prítomnosť v štandarde zhoršuje stabilitu odozvy v čase, pričom signál germánia klesne na 30 % pôvodnej hodnoty v priebehu niekoľkých hodín po pridaní L-Cys.

Ďalším dôležitým experimentom bolo stanovenie účinnosti generovania prchavých špecií Ge za optimálnych podmienok pomocou ICP-MS. Pre tento účel bolo potrebné stanoviť účinnosť zmlžovania, a zároveň pomer veľkosti signálov všetkých troch špecií Ge v režimu HG-ICP-MS a režimu zmlžovania kvapalných vzoriek s ICP-MS detekciou. Hoci je ICP-MS považovaný za detektor, ktorého odozva nie je ovplyvniteľná chemickou formou analytu, je jasné, že v prípade germánia hrá chemická forma dôležitú úlohu. Pre iGe a MMGe boli stanovené porovnateľné citlivosti pri zmlžovaní ich štandardov, avšak v prípade DMGe bola citlivosť asi o 30 % nižšia. Naopak, v prípade zavádzania analytu do ICP-MS detektora pomocou HG kroku, bola citlivosť stanovená v prípade DMGe asi o 15 % vyššia než citlivosti pozorované pre iGe a MMGe. Účinnosť generovania hydridov pre iGe a MMGe bola stanovená na 100 %. Stanovená účinnosť generovania DMGe 120 % je zaťažená veľkou chybou. Predpokladá sa, že ionizačný mechanizmus DMGe sa líši od iGe a MMGe, čo si vyžaduje ďalšie štúdie.

V diplomovej práci sa úspešne optimalizovali parametre pre atomizáciu hydridov špecií germánia v štyroch typoch atomizátorov: jednalo sa o difúzny plameň (DF), multiatomizátor (MMQTA), dielektrický bariérový výboj (DBD) v dvoch konfiguráciách, buď s lepenými elektródami so sínusovou moduláciou (REF-SIN), alebo s naprašovanými elektródami a rektangulárnou moduláciou zdroja vysokého napätia (SE-SW) a nakoniec žiarivý výboj za atmosférického tlaku (APGD). Z porovnania signálov za optimálnych podmienok vychádza, že DBD v konfigurácii REF-SIN je najcitlivejší atomizátor (11 ms/ng). Nevýhodou tohto usporiadania sú nesymetrické tvary pík s výrazným chvostovaním a horšia opakovateľnosť

meraní. Naopak, v usporiadaní DBD atomizátora SE-SW neboli pozorované žiadne chvosty píkov, pričom citlivosti pre špecie germánia dosahovali hodnoty okolo 10 ms/ng. Atomizátory ako DF a MMQTA poskytovali podobné citlivosti pre všetky tri špecie germánia, rovnako ako DBD atomizátory v oboch konfiguráciách. Citlivosť pre DF bola približne 1,7 ms/ng a 2,8 ms/ng pre MMQTA. Prítomnosť sušidla pred atomizátorom zvyšovala citlivosť stanovení špecií Ge v prípade MMQTA a oboch usporiadaní DBD atomizátorov, v prípade DF nehrala prítomnosť významnú úlohu. V APGD prítomnosť sušidla pôsobila negatívne na stabilitu odozvy v čase, kedy dochádzalo k významnému poklesu signálu. APGD atomizátor bol jediný zo študovaných atomizátorov, v ktorom neboli dosiahnuté porovnateľné citlivosti pre všetky tri špecie germánia. Pre iGe bola dosiahnutá citlivosť 3,0 ms/ng, zatiaľ čo pre obidve metylované špecie bola hodnota citlivosti približne polovičná, tj. 1,7 ms/ng. Na vysvetlenie tohto pozorovania sú potrebné, v snahe vylepšiť metódu atomizácie, ďalšie experimenty.

Na záver tejto diplomovej práce bol študovaný mechanizmus atomizácie hydridu germánia. V atomizátoroch dochádzalo počas analýzy k usadeniu významnej frakcie Ge, ktorá bola kvantifikovaná pomocou ICP-MS detekcie. V troch atomizátoroch (DBD SW-SW, MMQTA, APGD) bola pozorovaná vysoká miera depozície. Vo vylúhovanej frakcii bolo nájdených 60 – 75 % analytu. Mierne nižšiu frakciu Ge obsahovala DBD konfigurácia REF-SIN – 39 %. V týchto prípadoch svedčí vysoká miera depozície analytu o rýchlom zániku voľných atómov, čo je pre atomizátor nežiadúci jav. V DF bola táto frakcia nevýznamná – činila 8 %.

Účinnosť atomizácie a priestorové rozloženie voľných atómov Ge v dvoch atomizátoroch, DBD v usporiadaní SE-SW a APGD, sa merali pomocou laserom indukovanej fluorescence (LIF). V oboch prípadoch sa voľné atómy Ge pozorovali len v úzkej zóne v centrálnej oblasti atomizátora. V prípade DBD sú voľné atómy prítomné len vo veľmi malej časti aktívnej zóny plazmy, ktorá dosahuje dĺžku 50 mm. Účinnosť atomizácie v DBD bola odhadnutá na menej ako 5 %. V APGD je plazmová zóna veľmi úzka, len niekoľko mm, čo je nevýhodné pre detekciu AAS. Voľné atómy však boli detegované pomocou LIF vo výboji APGD v širšej zóne (približne 10 mm), ako je samotná aktívna zóna plazmy. V prípade atomizátora APGD bola účinnosť atomizácie približne 75 %, čo ho robí atraktívnym pre ďalšie potenciálne použitie ako atomizátora prchavých špecií Ge v metódach atómovej spektrometrie. Bude však ešte potrebná ďalšia optimalizácia jeho konštrukcie a štúdie mechanizmov vedúcich k podrobnejšiemu objasneniu atomizácie prchavých druhov Ge a stability vzniknutých voľných atómov.

Pomocou skenovacej elektrónovej mikroskopie (SEM) a energetickej disperznej spektroskopie (EDS) sa podarilo získať náhľad o charakterizácii depozitov Ge. Experimenty sa vykonávali len v difúznom plameni. Zo získaných dát je možné usúdiť, že vznikajúca vrstva depozitu nie je homogénna a je tvorená zhlukmi elementárneho Ge.

## Citovaná literatura

- [1] HOUSECROFT, Catherine E.; SHARPE, Alan G. *Inorganic chemistry*. Pearson Education, 2008.
- [2] GUNN, Gus (ed.). *Critical metals handbook*. John Wiley & Sons, 2014.
- [3] GREENWOOD, Norman Neill; EARNSHAW, Alan. *Chemistry of the Elements*. Elsevier, 2012.
- [4] BOBROWSKA-GRZESIK, Ewa, et al. Chemical Elements Compendium. *Ing. Václav Helán–2THETA, Český Těšín*, 2013.
- [5] ZHENG, Jiangfu, et al. A review of public and environmental consequences of organic germanium. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2020, 50.13: 1384-1409.
- [6] ROSENBERG, Erwin. Germanium: environmental occurrence, importance and speciation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2009, 8: 29-57.
- [7] GARCÍA-FIGUEROA, Adrián; FILELLA, Montserrat; MATOUŠEK, Tomáš. Speciation of germanium in environmental water reference materials by Hydride Generation and Cryotrapping in combination with ICP-MS/MS. *Talanta*, 2021, 225: 121972.
- [8] JABŁOŃSKA-CZAPLA, Magdalena, et al. Germanium speciation study in soil from an electronic waste processing plant area. *Journal of Soils and Sediments*, 2023, 23.9: 3362-3375.
- [9] OKAZAKI, Takuya, et al. Visual colorimetry for determination of trace arsenic in groundwater based on improved molybdenum blue spectrophotometry. *Analytical Methods*, 2015, 7.6: 2794-2799.
- [10] ALI, Markwo; CARBOO, D.; KINGSFORD-ADABOH, Robert. Speciation of inorganic antimony in polyethylene terephthalate (PET) bottled water using hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HG-AAS). 2015.
- [11] FILELLA, Montserrat; RODRÍGUEZ-MURILLO, Juan Carlos. Less-studied TCE: are their environmental concentrations increasing due to their use in new technologies? *Chemosphere*, 2017, 182: 605-616.

- [12] COBELO-GARCÍA, Antonio, et al. COST action TD1407: network on technology-critical elements (NOTICE)—from environmental processes to human health threats. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22: 15188-15194.
- [13] KEITH, Larry S., et al. Germanium. In: *Handbook on the Toxicology of Metals*. Academic Press, 2015. p. 799-816.
- [14] CHEN, Qing-Chuan, et al. Separation and determination of inorganic germanium and  $\beta$ -carboxyethylgermanium sesquioxide by high-performance ion-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1997, 789.1-2: 403-412.
- [15] PROKEŠ, Jaroslav. *Základy toxikologie: obecná toxikologie a ekotoxikologie*. Galén, 2005.
- [16] ROELS, Harry A.; BUCHET, Jean-Pierre. Determination of germanium in urine and its usefulness for biomonitoring of inhalation exposure to inorganic germanium in the occupational setting Presented at the Whistler 2000 Speciation Symposium, Whistler Resort, BC, Canada, June 25–July 1, 2000. *Journal of Environmental Monitoring*, 2001, 3.1: 67-73.
- [17] LEWIS, Brent L., et al. A review of the biogeochemistry of germanium in natural waters. *Science of The Total Environment*, 1988, 73.1-2: 107-120.
- [18] SOBOLEV, O. I., et al. A Review of germanium environmental distribution, migration and accumulation. *Ukrainian Journal of Ecology*, 2020, 10.2: 200-208.
- [19] GOODMAN, Sandra. *Germanium the health and life enhancer*. Sterling Publishers, 1988.
- [20] TAO, Shyy-Hwa; BOLGER, P. Michael. Hazard assessment of germanium supplements. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 1997, 25.3: 211-219.
- [21] WELZ, Bernhard; SPERLING, Michael. *Atomic Absorption Spectrometry*. John Wiley & Sons, 2008.
- [22] NĚMCOVÁ, Irena; ČERMÁKOVÁ, Ludmila; RYCHLOVSKÝ, Petr. *Spektrometrické analytické metody I*. Univerzita Karlova, 2004.
- [23] ČERNOHORSKÝ, T.; JANDERA, P. Atomová spektrometrie. *Univerzita Pardubice, Pardubice*, 1997, 7194-114.

- [24] ZHU, Zhenli, et al. Atomization of hydride with a low-temperature, atmospheric pressure dielectric barrier discharge and its application to arsenic speciation with atomic absorption spectrometry. *Analytical chemistry*, 2006, 78.3: 865-872.
- [25] ČERVENÝ, Václav, et al. Elektrochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod. *Chemické listy*, 2009, 103.8: 652-660.
- [26] ZHENG, Chengbin, et al. UV photochemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements. *Microchemical Journal*, 2010, 95.1: 32-37.
- [27] KRATZER, Jan. Volatile Species Generation for Trace Element and Speciation Analysis–Current State and Future Perspectives. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry*, 2023, 10.39: 9-13.
- [28] DĚDINA, Jiří. Generation of volatile compounds for analytical atomic spectroscopy. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*, 2006.
- [29] LABORDA, Francisco; BOLEA, Eduardo; CASTILLO, Juan R. Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 388: 743-751.
- [30] ŠIMA, J.; RYCHLOVSKÝ, P.; DĚDINA, J. The efficiency of the electrochemical generation of volatile hydrides studied by radiometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2004, 59.1: 125-133.
- [31] HE, Yihua, et al. Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 388: 769-774.
- [32] RYBÍNOVÁ, MARCELA, et al. UV-fotochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod. *Chemické listy*, 2015, 109.12: 930-937.
- [33] SANZ-MEDEL, A., et al. The use of surfactants to obtain cadmium atoms at room temperature and its application for the cold vapour AAS determination of the metal. In: *Analytical Proceedings including Analytical Communications*. Royal Society of Chemistry, 1995. p. 49-52.

- [34] ČERNOHORSKÝ, Tomáš, et al. *Atomová absorpční spektrometrie: kurz AAS I*. Spektroskopická společnost Jana Marka Marci a Vysoká škola chemicko-technologická, 2015.
- [35] ZHU, Zhenli, et al. Atomization of hydride with a low-temperature, atmospheric pressure dielectric barrier discharge and its application to arsenic speciation with atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2006, 78.3: 865-872.
- [36] DĚDINA, Jiří. Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2007, 62.9: 846-872.
- [37] BUSHEINA, I. S.; HEADRIDGE, J. B. Determination of indium by hydride generation and atomic-absorption spectrometry. *Talanta*, 1982, 29.6: 519-520.
- [38] SAGAPOVA, Linda, et al. Effect of additives on cadmium chemical vapor generation and reliable quantification of generation efficiency. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1168: 338601.
- [39] MATOUŠEK, Tomáš; STURGEON, Ralph E. Chemical vapour generation of silver: reduced palladium as permanent reaction modifier for enhanced performance. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2004, 19.8: 1014-1016.
- [40] ARSLAN, Y., et al. Gold volatile compound generation: optimization, efficiency and characterization of the generated form. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2011, 26.4: 828-837.
- [41] WANG, Zhipeng, et al. Recent developments in chemical vapor generation atomic spectrometry for zinc detection. *Microchemical Journal*, 2019, 149: 104052.
- [42] PITZALIS, Emanuela, et al. Insight into the mechanisms controlling the chemical vapor generation of cadmium. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2018, 33.12: 2160-2171.
- [43] GRÜTER, U. M., et al. Derivatization of organometal (loid) species by sodium borohydride: Problems and solutions. *Journal of Chromatography A*, 2001, 938.1-2: 225-236.

- [44] JIN, Kazuo; SHIBATA, Yasuyuki; MORITA, Masatoshi. Determination of germanium species by hydride generation-inductively coupled argon plasma mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, 1991, 63.10: 986-989.
- [45] DĚDINA, Jiří, et al. Atomisation of selenium hydride in the graphite furnace. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1989, 4.2: 143-148.
- [46] MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R. E. Atomic spectrometric detection of hydride forming elements following in situ trapping within a graphite furnace. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 1996, 51.4: 377-397.
- [47] MATOUŠEK, Tomáš; DĚDINA, Jiří; FRECH, Wolfgang. On-line atomization of selenium hydride in graphite furnaces: mechanism and interferences. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, 17.10: 1323-1329.
- [48] CZOBIK, Edward J.; MATOUSEK, Jaroslav P. Interference effects in furnace atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 1978, 50.1: 2-10.
- [49] DĚDINA, Jiří. Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2007, 62.9: 846-872.
- [50] DĚDINA, J., et al. Selenium hydride atomization, fate of free atoms and spectroscopic temperature in miniature diffusion flame atomizer studied by atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 1998, 53.13: 1777-1790.
- [51] DOČEKAL, Bak. Atomová absorpční spektrometrie, Sborník přednášek z kurzu. Ing. Václav Helán-2 THETA, Český Těšín, 2003.
- [52] SLOTA, Alexandra, et al. Determination of Germanium Species by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry: Comparison of Atomizers Based on Diffusion Flame, Heated Quartz Tube, and Dielectric Barrier Discharge Plasma. *Atomic Spectroscopy*, 2023, 44.4: 207-218.
- [53] ŘEZÁČOVÁ, Olga; DĚDINA, Jiří. Modular L-design of hydride atomizers for atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2009, 64.7: 717-720.



- [54] MATOUŠEK, Tomáš; DĚDINA, Jiří; SELECKÁ, Anna. Multiple microflame quartz tube atomizer—further development towards the ideal hydride atomizer for atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2002, 57.3: 451-462.
- [55] MEYER, C., et al. Dielectric barrier discharges in analytical chemistry. *Analyst*, 2011, 136.12: 2427-2440.
- [56] KOGELSCHATZ, Ulrich. Dielectric-barrier discharges: their history, discharge physics, and industrial applications. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2003, 23.1: 1-46.
- [57] ZHU, Zhenli, et al. Application of atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma for the determination of Se, Sb and Sn with atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2006, 61.8: 916-921.
- [58] ČERNOHORSKÝ, T., et al. Atomová absorpční spektrometrie II: Kurz pro pokročilé. *Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Praha*, 2006.
- [59] BRANDT, S., et al. Dielectric barrier discharges applied for optical spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2016, 123: 6-32.
- [60] KRATZER, Jan; BURHENN, Sebastian. Dielectric barrier discharge devices. In: *Vapor Generation Techniques for Trace Element Analysis*. Elsevier, 2022. p. 403-442.
- [61] ALBERT, Anastasia; SHELLEY, Jacob T.; ENGELHARD, Carsten. Plasma-based ambient desorption/ionization mass spectrometry: state-of-the-art in qualitative and quantitative analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2014, 406: 6111-6127.
- [62] YU, Yong-Liang; ZHUANG, Yu-Ting; WANG, Jian-Hua. Advances in dielectric barrier discharge-optical emission spectrometry for the analysis of trace species. *Analytical Methods*, 2015, 7.5: 1660-1666.
- [63] ZHU, Zhenli, et al. Atomization of hydride with a low-temperature, atmospheric pressure dielectric barrier discharge and its application to arsenic speciation with atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2006, 78.3: 865-872.
- [64] BURHENN, Sebastian, et al. Atomization of arsenic hydride in a planar dielectric barrier discharge: Behavior of As atoms studied by temporally and spatially resolved optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2019, 152: 68-73.

- [65] BARANOVÁ, Barbora, et al. Next generation of dielectric barrier discharge hydride atomizers for atomic absorption spectrometry: A case study on Pb, Bi, Se and Te. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2023, 199: 106577.
- [66] VLČKOVÁ, Nikol, et al. Diffusion flame, heated quartz tube or dielectric barrier discharge? Comparing the resistance of hydride atomizers towards interferences with detection by atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2024, 212: 106853.
- [67] PODĚBRADSKÝ, Jiří. *Fyzikální terapie*. Grada Publishing as, 2009.
- [68] GIELNIAK, B.; FIEDLER, T.; BROEKAERT, J. A. C. Study of a new direct current atmospheric pressure glow discharge in helium. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2011, 66.1: 21-27.
- [69] WANG, Hua-Bo, et al. Discharge characteristics of atmospheric-pressure radio-frequency glow discharges with argon/nitrogen. *Applied Physics Letters*, 2006, 89.16.
- [70] STAACK, David, et al. DC normal glow discharges in atmospheric pressure atomic and molecular gases. *Plasma Sources Science and Technology*, 2008, 17.2: 025013.
- [71] FOEST, Rüdiger, et al. Study of an atmospheric pressure glow discharge (APG) for thin film deposition. *Surface and Coatings Technology*, 2003, 163: 323-330.
- [72] WANG, Qiang, et al. Spatially resolved diagnostics of an atmospheric pressure direct current helium microplasma. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2005, 38.11: 1690.
- [73] TRUNEC, David; BRABLEC, Antonín; BUCHTA, Jiří. Atmospheric pressure glow discharge in neon. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2001, 34.11: 1697.
- [74] SHI, J. J., et al. Three modes in a radio frequency atmospheric pressure glow discharge. *Journal of Applied Physics*, 2003, 94.10: 6303-6310.
- [75] GORSKA, Monika; GREDA, Krzysztof; POHL, Pawel. On the coupling of hydride generation (HG) with flowing liquid anode atmospheric pressure glow discharge (FLA-APGD) for determination of traces of As, Bi, Hg, Sb and Se by optical emission spectrometry (OES). *Talanta*, 2021, 222: 121510.

- [76] GRĘDA, Krzysztof, et al. A novel atmospheric pressure glow discharge system for sensitive determination of As, Sb, and Se by optical emission spectrometry following their hydride generation. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2024, 106879.
- [77] PENG, Xiaoxu; WANG, Zheng. Ultrasensitive determination of selenium and arsenic by modified helium atmospheric pressure glow discharge optical emission spectrometry coupled with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 2019, 91.15: 10073-10080.
- [78] ZHU, Zhenli, et al. Determination of antimony in water samples by hydride generation coupled with atmospheric pressure glow discharge atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2019, 34.2: 331-337.
- [79] VON ENGLE, A.; SEELIGER, R.; STEENBACK, M. On the glow discharge at high pressure. *Zeit. fur Physik*, 1933, 85.144: 144-160.
- [80] WANG, Xinxin, et al. Study on an atmospheric pressure glow discharge. *Plasma Sources Science and Technology*, 2003, 12.3: 358.
- [81] OKAZAKI, Satiko, et al. Appearance of stable glow discharge in air, argon, oxygen and nitrogen at atmospheric pressure using a 50 Hz source. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 1993, 26.5: 889.
- [82] ANDREAE, Meinrat O.; FROELICH, Philip N. Determination of germanium in natural waters by graphite furnace atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 1981, 53.2: 287-291.
- [83] POLLOCK, E. N.; SJ, WEST. The generation and determination of covalent hydrides by atomic absorption. 1973.
- [84] BRAMAN, Robert S.; TOMPKINS, Michael A. Atomic emission spectrometric determination of antimony, germanium, and methylgermanium compounds in the environment. *Analytical Chemistry*, 1978, 50.8: 1088-1093.
- [85] HAUG, Hermann O.; CHONGHUA, Ju. Systematic studies on the determination of germanium by electrothermal atomic absorption spectrometry including liquid sample introduction and hydride techniques. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1990, 5.3: 215-223.

- [86] DOIDGE, Peter S.; STURMAN, Barry T.; RETTBERG, Thomas M. Hydride generation atomic absorption spectrometry with in situ pre-concentration in a graphite furnace in the presence of palladium. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1989, 4.3: 251-255.
- [87] HAUG, Hermann O.; YIPING, Liao. Investigation of automated determination of germanium by hydride generation using in situ trapping on stable coatings in electrothermal atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1995, 10.12: 1069-1076.
- [88] HAMBRICK, Gordon A., et al. Determination of methylgermanium species in natural waters by graphite furnace atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Analytical Chemistry*, 1984, 56.3: 421-424.
- [89] HAMMOND, Douglas E., et al. Diagenetic fractionation of Ge and Si in reducing sediments: the missing Ge sink and a possible mechanism to cause glacial/interglacial variations in oceanic Ge/Si. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2000, 64.14: 2453-2465.
- [90] FROELICH, Philip N., et al. The geochemistry of inorganic germanium in natural waters. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 1985, 90.C1: 1133-1141.
- [91] LEWIS, Brent L.; FROELICH, Philip N.; ANDREAE, Meinrat O. Methylgermanium in natural waters. *Nature*, 1985, 313.6000: 303-305.
- [92] MORTLOCK, Richard A., et al. Silica and germanium in Pacific Ocean hydrothermal vents and plumes. *Earth and Planetary Science Letters*, 1993, 119.3: 365-378.
- [93] ELLWOOD, Michael J.; MAHER, William A. An automated hydride generation-cryogenic trapping-ICP-MS system for measuring inorganic and methylated Ge, Sb and As species in marine and fresh waters. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, 17.3: 197-203.
- [94] MORTLOCK, Richard A.; FROELICH, Philip N. Determination of germanium by isotope dilution-hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1996, 332.2-3: 277-284.

- [95] SIEBERT, Christopher; ROSS, Andy; MCMANUS, James. Germanium isotope measurements of high-temperature geothermal fluids using double-spike hydride generation MC-ICP-MS. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2006, 70.15: 3986-3995.
- [96] BARONAS, J. Jotautas, et al. A global Ge isotope budget. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2017, 203: 265-283.
- [97] GUO, Xuming; MESTER, Zoltán; STURGEON, Ralph E. Comparison of chloride-and hydride-generation for quantitation of germanium by headspace solid-phase microextraction–inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 373: 849-855.
- [98] YEŞİLLER, Semira Ünal; YALÇIN, Şerife. Optimization of chemical and instrumental parameters in hydride generation laser-induced breakdown spectrometry for the determination of arsenic, antimony, lead and germanium in aqueous samples. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 770: 7-17.
- [99] MENÉNDEZ, JC Flórez, et al. Continuous tandem on-line separation inductively coupled plasma optical emission spectrometry selective determination of germanium in zinc electrolytic solutions. *Analytica Chimica Acta*, 1999, 402.1-2: 319-326.
- [100] ČERNOHORSKÝ, T., et al. Atomová absorpční spektrometrie I: Základní kurz. *Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Praha*, 2003.
- [101] DĚDINA, Jiří; MATOUŠEK, Tomáš. Multiple microflame—a new approach to hydride atomization for atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2000, 15.3: 301-304.
- [102] DUBEN, Ondřej, et al. Dielectric barrier discharge plasma atomizer for hydride generation atomic absorption spectrometry—Performance evaluation for selenium. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2015, 111: 57-63.
- [103] STRAKA, Marek, et al. Novel designs of dielectric barrier discharge hydride atomizers for atomic spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2018, 146: 69-76.
- [104] MRKVIČKOVÁ, Martina, et al. Electric field in APTD in nitrogen determined by EFISH, FNS/SPS ratio,  $\alpha$ -fitting and electrical equivalent circuit model. *Plasma Sources Science and Technology*, 2023, 32.6: 065009.

- [105] DE OLIVEIRA, Aline Fernandes, et al. Ultratrace determination of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry with preconcentration on gold nanoparticles. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2022, 37.3: 620-631.
- [106] SMICHOWSKI, Patricia; MARRERO, Julieta. Comparative study to evaluate the effect of different acids on the determination of germanium by hydride generation–inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 376.3: 283-291.
- [107] FILELLA, Montserrat; MATOUŠEK, Tomáš. Germanium in Lake Geneva (Switzerland/France) along the spring productivity period. *Applied Geochemistry*, 2022, 143: 105352.
- [108] LI, Gang, et al. L-cysteine enhanced hydride generation for atomic fluorescence spectrometric determination of germanium in geological samples. *Spectroscopy Letters*, 2003, 36.4: 275-285.
- [109] MATOUŠEK, Tomáš, et al. Oxidation state specific generation of arsines from methylated arsenicals based on L-cysteine treatment in buffered media for speciation analysis by hydride generation-automated cryotrapping-gas chromatography-atomic absorption spectrometry with the multiatomizer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2008, 63.3: 396-406.
- [110] ŠOUKAL, Jakub, et al. Chemical generation of volatile species of copper–Optimization, efficiency and investigation of volatile species nature. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 977: 10-19.
- [111] VYHNANOVSKÝ, Jaromír, et al. Diethyldithiocarbamate enhanced chemical generation of volatile palladium species, their characterization by AAS, ICP-MS, TEM and DART-MS and proposed mechanism of action. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1005: 16-26.
- [112] ŠOUKAL, Jakub; STURGEON, Ralph E.; MUSIL, Stanislav. Efficient photochemical vapor generation of molybdenum for ICPMS detection. *Analytical Chemistry*, 2018, 90.19: 11688-11695.

- [113] DE MORAES FLORES, Érico Marlon, et al. Multiple microflame quartz tube atomizer: Study and minimization of interferences in quartz tube atomizers in hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2009, 64.2: 173-178.
- [114] NOVÁK, Petr; DĚDINA, Jiří; KRATZER, Jan. Preconcentration and atomization of arsane in a dielectric barrier discharge with detection by atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2016, 88.11: 6064-6070.
- [115] JUHÁSZOVÁ, Lucie, et al. Hydride generation atomic absorption spectrometry with a dielectric barrier discharge atomizer: Method optimization and evaluation of analytical performance for tin. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2019, 158: 105630.
- [116] PRŮŠA, Libor; DĚDINA, Jiří; KRATZER, Jan. Ultratrace determination of tin by hydride generation in-atomizer trapping atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 804: 50-58.
- [117] KRATZER, Jan, et al. Determination of bismuth by dielectric barrier discharge atomic absorption spectrometry coupled with hydride generation: method optimization and evaluation of analytical performance. *Analytical Chemistry*, 2014, 86.19: 9620-9625.
- [118] ZURYNKOVÁ, Pavla; DĚDINA, Jiří; KRATZER, Jan. Trace determination of antimony by hydride generation atomic absorption spectrometry with analyte preconcentration/atomization in a dielectric barrier discharge atomizer. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1010: 11-19.
- [119] KRATZER, Jan, et al. Behavior of selenium hydride in heated quartz tube and dielectric barrier discharge atomizers. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1028: 11-21.
- [120] BUFKOVÁ, Kateřina, et al. Generation of tellurium hydride and its atomization in a dielectric barrier discharge for atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2020, 171: 105947.
- [121] KRATZER, Jan, et al. Atomization of bismuthane in a dielectric barrier discharge: a mechanistic study. *Analytical Chemistry*, 2016, 88.3: 1804-1811.

- [122] ALBRECHT, Michal, et al. Atomization of lead hydride in a dielectric barrier discharge atomizer: Optimized for atomic absorption spectrometry and studied by laser-induced fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2020, 166: 105819.
- [123] EZER, Muhsin, et al. Trace determination of Germanium by continuous flow hydride generation laser-induced fluorescence spectrometry. *Analytical Letters*, 2019, 52.7: 1125-1137.
- [124] DVORÁK, Pavel, et al. Concentration of atomic hydrogen in a dielectric barrier discharge measured by two-photon absorption fluorescence. *Plasma Sources Science and Technology*, 2017, 26.8: 085002.