

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ

Μελέτη μεταλλοϊόντων και μεταλλοπρωτεϊνών σε υδατικά διαλύματα με Πνευματική εκνέφωση συνδυασμένη με φασματοσκοπία πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (LIBS) και φασματομετρία μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (SSI-MS).

ΜΑΡΜΑΤΑΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΑΓΓΛΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2014

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δημήτριος Άγγλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Σπυρίδων Περγαντής, Καθηγητής, Τμήμα Χημείας Πανεπιστήμιο Κρήτης.

Μιχαήλ Βελεγράκης, Κύριος Ερευνητής, Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λείζερ,
Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Δημήτριο Άγγλο για την ανάθεση της παρούσας ερευνητικής εργασίας και την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, για την υπομονή του, την πολύτιμη καθοδήγηση που μου προσέφερε αλλά και για τις ουσιαστικές γνώσεις που αποκόμισα από τη συνεργασία μαζί του.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή κ. Σπυρίδων Περγαντή που εξέφρασε την ιδέα επάνω στην οποία βασίστηκε η εργασία, την άψογη συνεργασία, τις συμβουλές και την καθοδήγηση που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα της συνεργασίας μας.

Ευχαριστώ όλους τους συναδέλφους μου, την Όλγα Κοκκινάκη, τον Παναγιώτη Σιώζο, τον Άγγελο Φιλιππίδη, τη Ρούλα Κλίνη, το Μιχάλη Τζαγκαράκη, το Μάνο Πουλάκη, το Απόστολο Εγγλέζη και την Κατερίνα Κανάκη για τις συμβουλές και τη βοήθεια που μου προσέφεραν και για το ευχάριστο κλίμα στο εργαστήριο.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και την Ιωάννα για την συμπαράσταση και τη στήριξή τους όλο το διάστημα της εργασίας.

Ευχαριστώ το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης και το Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ του Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας, για την παροχή του απαραίτητου υλικοτεχνικού εξοπλισμού για τη διεξαγωγή της ερευνητικής εργασίας μου. Επίσης θέλω να ευχαριστήσω το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για τη χρηματοδότηση της ερευνητικής μου εργασίας.

Η ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας συγχρηματοδοτήθηκε μέσω του Έργου «Υποτροφίες ΙΚΥ» από πόρους του ΕΠ «Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου (ΕΚΤ) του ΕΣΠΑ, 2007-2013.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η εφαρμογή της φασματοσκοπίας πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS) στην ανάλυση μεταλλικών ιόντων που περιέχονται σε εκνεφώματα υδατικών διαλυμάτων. Ο απώτερος σκοπός της εργασίας είναι η ανάδειξη της ικανότητας συνδυασμού της τεχνικής LIBS με τη φασματομετρία μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry, SSI-MS) και τη δημιουργία μιας νέας υβριδικής αναλυτικής τεχνικής. Οι δύο τεχνικές μπορούν να συνδυαστούν μέσω ενός κοινού πνευματικού εκνεφωτή. Ο πνευματικός εκνεφωτής χρησιμοποιείται ως σύστημα εισαγωγής του δείγματος και ως πηγή ιοντισμού (SSI) στη φασματομετρία μάζας. Η νέα αναλυτική τεχνική έχει την ικανότητα παροχής πληροφοριών σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση και το μοριακό βάρος των εξεταζόμενων ενώσεων.

Για το σχηματισμό πλάσματος χρησιμοποιήθηκε η θεμελιώδης συχνότητα ($\lambda = 1064$ nm) παλμικού λέιζερ τύπου Q-Switched Nd:YAG που εκπέμπει παλμούς χρονοδιάρκειας 8 ns. Για τη φασματική ανάλυση και καταγραφή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα χρησιμοποιήθηκε απεικονιστικός φασματογράφος τύπου Czerny-Turner εστιακής απόστασης $f = 19$ cm και ανιχνευτής τύπου ICCD. Για τη συλλογή της ακτινοβολίας χρησιμοποιήθηκε τηλεσκόπιο έτσι ώστε να επιτυγχάνεται 1:1 απεικόνιση του πλάσματος στην είσοδο της οπτικής ίνας, η οποία χρησιμοποιείται για τη μεταφορά της ακτινοβολίας στο φασματογράφο. Ο συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή πραγματοποιήθηκε μέσω παλμογεννήτριας που έχει την ικανότητα εισαγωγής χρονικής καθυστέρησης ως προς ένα σήμα σκανδαλισμού (trigger). Οι μετρήσεις των φασμάτων μάζας πραγματοποιήθηκαν στο όργανο Thermo Finnigan LCQ Advantage, το οποίο χρησιμοποιεί ιοντική παγίδα ως αναλυτή μαζών και πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI).

Έγινε ανάπτυξη κατάλληλης πειραματικής διάταξης η οποία επιτρέπει τη δημιουργία πλάσματος στα σταγονίδια του εκνεφώματος και τη μελέτη της εκπομπής από το πλάσμα. Πραγματοποιήθηκε μελέτη των γεωμετρικών παραμέτρων που υπεισέρχονται στην πειραματική διάταξη και επηρεάζουν το αποτέλεσμα της μέτρησης LIBS. Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται με τη σχετική θέση του εκνεφωτή ως προς τη θέση εστίασης του παλμού (h), την απόσταση του εκνεφωτή από το πλάσμα (d) και τη γωνία απεικόνισης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Οι βέλτιστες τιμές των παραμέτρων h και d είναι $h = 2$ mm και $d = 2$ mm. Μελετήθηκε η επίδραση της ενέργειας του παλμού στην ευαισθησία της τεχνικής αλλά και των παραμέτρων συγχρονισμού του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Οι παράμετροι αυτές καθορίζουν το χρονικό διάστημα που διεξάγεται η μέτρηση. Το εύρος

ενεργειών που μελετήθηκε κυμαίνεται από 10 έως 200 mJ, με την υψηλότερη ευαισθησία να επιτυγχάνεται σε τιμές ενέργειας της τάξης των 200 mJ. Οι παράμετροι συγχρονισμού του λέιζερ με τον ανιχνευτή είναι ο χρόνος αναμονής (τ_D) και ο χρόνος συλλογής (τ_G). Η τιμές των παραμέτρων χρονισμού στις οποίες επιτυγχάνεται η μεγαλύτερη ευαισθησία είναι $\tau_D = 20 \mu s$ και $\tau_G = 100 \mu s$.

Πραγματοποιήθηκε μελέτη των σταγονιδίων που ψεκάζονται από τον εκνεφωτή και η επίδραση που έχει η παρουσία οργανικού άνθρακα στη μήτρα του διαλύματος με βάση το καταγραφόμενο σήμα LIBS. Τα σταγονίδια που ψεκάζονται παρουσιάζουν κατανομή ως προς το μέγεθός τους η οποία δεν μεταβάλλεται από την παρουσία οργανικού άνθρακα στο διάλυμα.

Στη συνέχεια έγινε ποσοτικός προσδιορισμός των ιόντων Na^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} αλλά και ολικού οργανικού άνθρακα (C) σε υδατικά διαλύματα με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Τα όρια ανίχνευσης της τεχνικής LIBS για τα στοιχεία που μελετήθηκαν όπως υπολογίζονται από την καμπύλη αναφοράς κάθε στοιχείου κυμαίνονται από $1 \times 10^{-7} M$ έως $1 \times 10^{-4} M$ και είναι περίπου μία τάξη μεγέθους χαμηλότερα από τις αντίστοιχες τιμές της βιβλιογραφίας. Η ακρίβεια του ποσοτικού προσδιορισμού κυμαίνεται από 89% έως 100%

Για την ανάδειξη της δυνατότητας συνδυασμού των δύο τεχνικών πραγματοποιήθηκε μελέτη μεταλλοπρωτεϊνικών συμπλόκων και με τις δύο τεχνικές, πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε η α -λακταλβουμίνη και η σουπεροξειδική δισμούτωση. Με την τεχνική LIBS έγινε εφικτός ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων, ενώ με τη τεχνική SSI-MS προσδιορίστηκε το μοριακό βάρος των συμπλόκων. Το αποτέλεσμα της μελέτης φανερώνει ότι οι δύο τεχνικές μπορούν να συνδυαστούν άψογα καθώς λειτουργούν συμπληρωματικά.

ABSTRACT

The objective of this study is the development of a combined molecular and atomic detection system suitable for detecting metal-containing biomolecules and complexes. The use of sonic-spray ionization (SSI) mass spectrometry (MS) was investigated in combination with Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), ultimately aiming to fully integrate them by using a single pneumatic nebulization system for sample introduction into both. The new analytical technique will be able to provide information on both elemental composition and molecular weight of the target compounds. The pneumatic nebulizer acts as the ion source in the sonic spray mass spectrometry and as the sample introduction system in LIBS.

A new experimental set up was developed for performing LIBS measurements in aerosol sprays. Plasma was generated by a nanosecond Q-Switched Nd:YAG laser, which operated at its fundamental frequency, $\lambda = 1064$ nm. The radiation emitted from the plasma was collected and imaged on an optical fiber by use of a telescope system. The spectral analysis and the recording of the collected radiation were carried out on a Czerny-Turner imaging spectrograph coupled with an ICCD detector. Mass spectrometry measurements were performed on a Thermo Finnigan LCQ Advantage spectrometer, using an ion trap mass analyzer and a sonic-spray ionization (SSI) source.

A number of critical measurement parameters were optimized on the LIBS system, including laser focusing with respect to the spray cone, laser pulse energy and detection temporal window as well as light collection geometry. Under these conditions aerosols containing different metal ions such as Na^+ , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} και Ba^{2+} were analyzed by the calibration curve method. The limit-of-detection (LOD) values were in the range of 1×10^{-7} M to 1×10^{-4} M with the precision of the method being excellent, 90-99 %. Finally, the capability of probing biomolecules in aerosols with LIBS and SSI-MS separately with LIBS and SSI-MS was demonstrated by studying aqueous solutions of two metal-proteins, Superoxide-dismutase (SOD) and α -lactalbumin (LALBA).

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	15
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	23
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	23
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΕΠΑΓΟΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΛΕΙΖΕΡ	23
2.1. Κατάσταση Πλάσματος	24
2.2. Δημιουργία πλάσματος σε αέρια– Αλληλεπίδραση φωτός-ύλης	24
2.2.1. Μηχανισμός χιονοστιβάδας.....	25
2.2.2. Πολυφωτονικός ιοντισμός	25
2.3. Χρονική εξέλιξη εκπομπής από το πλάσμα.....	26
2.3.1. Συνεχές υπόβαθρο	27
2.3.2. Ατομικές γραμμές εκπομπής.....	28
2.3.3. Μοριακές ταινίες εκπομπής.....	30
2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δημιουργία και εξέλιξη του πλάσματος	30
2.4.1. Μήκος κύματος ακτινοβολίας.....	30
2.4.2. Ενέργεια ακτινοβολήσης.....	31
2.4.3. Διάρκεια παλμού.....	32
2.4.4. Φυσικοχημικές ιδιότητες υλικού στόχου.....	33
2.4.5. Το περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος.....	33
2.5. Χαρακτηριστικά του πλάσματος	34
2.5.1. Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία	34
2.5.2. Ηλεκτρονιακή πυκνότητα.....	35
2.5.3. Προσδιορισμός της θερμοκρασίας	36
2.6. Προφίλ ατομικών γραμμών εκπομπής	37
2.6.1. Φυσική διαπλάτυνση	37
2.6.2. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Doppler	38
2.6.3. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark.....	39
2.7. Η φασματοσκοπία LIBS ως αναλυτική τεχνική	40
2.7.1. Ποιοτική ανάλυση	41
2.7.2. Ποσοτική ανάλυση	41
2.7.3. Μέθοδος καμπύλης αναφοράς.....	43

2.7.4. Μέθοδος Calibration – free.....	44
2.7.5. Όριο ανίχνευσης.....	46
ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ	46
2.8. Πηγές ιοντισμού	47
2.9. Αναλυτές μαζών	49
2.10. Φασματομετρία μάζας υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI-MS).....	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	51
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	51
3.1. Πειραματική διάταξη LIBS.....	51
3.2. Οργανολογία LIBS.....	53
3.2.1. Εκνεφωτής.....	53
3.2.2 Λείζερ.....	56
3.2.3 Οπτικά	56
3.2.4. Φωτοδίοδος	57
3.2.5. Παλμογεννήτρια.....	57
3.2.6. Φασματογράφος	58
3.2.7. Ανιχνευτής.....	59
3.3. Συγχρονισμός συστημάτων	61
3.4.Πειραματική διάταξη SSI-MS	62
3.5. Οργανολογία SSI-MS	63
3.5.1. Πηγή ιοντισμού	63
3.5.2. Φασματογράφος Μάζας	63
3.6. Πειραματική διαδικασία	63
3.6.1. Λήψη φάσματος LIBS	63
3.6.2. Λήψη φάσματος μάζας	65
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	67
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	67
4.1. Φωτοαποδόμηση του αέρα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ	68
4.2. Σταθερότητα σήματος LIBS	69
4.3. Γεωμετρία πειραματικής διάταξης	70
4.3.1. Γωνία απεικόνισης πλάσματος	70
4.3.2. Σχετική θέση εκνεφωτή ως προς τη θέση δημιουργίας πλάσματος	72
4.3.3. Απόσταση ακροφύσιου εκνεφωτή από το πλάσμα.....	74
4.4. Χρονική εξέλιξη εκπομπής πλάσματος	75

4.5. Χαρακτηρισμός εκνεφωτή	78
4.6. Φέρον αέριο	83
4.7. Μελέτη φαινομένων μήτρας.....	84
4.8. Ανάλυση μεταλλοϊόντων σε υδατικά διαλύματα με την τεχνική LIBS.....	85
4.8.1. Ανάλυση ιόντων Χαλκού (Cu^{2+})	86
4.8.2. Ανάλυση ιόντων Σιδήρου (Fe^{3+})	88
4.8.3. Ανάλυση ιόντων Βαρίου (Ba^{2+}).....	90
4.8.4 Ανάλυση ιόντων Ασβεστίου (Ca^{2+})	91
4.8.5 Ανάλυση ιόντων νατρίου (Na^+)	93
4.9. Ανάλυση οργανικού άνθρακα (C)	95
4.10. Ανάλυση Μεταλλοπρωτεΐνων.....	98
4.10.1. Σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD)	99
4.10.2. α -Λακταλβουμίνη (LALBA)	102
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	107
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	107
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	110

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φασματοσκοπία πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS) είναι μια τεχνική διαγνωστικού και αναλυτικού χαρακτήρα, που παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση. Οι πληροφορίες παρέχονται από ένα μικροπλάσμα που δημιουργείται στην επιφάνεια του υλικού στόχου, όταν εστιαστεί σε αυτό ακτινοβολία από παλμικό λέιζερ. Η τεχνική αυτή βρίσκει εφαρμογή στην ανάλυση μεγάλης ποικιλίας υλικών, τα οποία είναι στερεά, υγρά, αέρια και αερολύματα. Η επιτυχία της οφείλεται στην ικανότητα διεξαγωγής μετρήσεων απευθείας στο υλικό, χωρίς προεπεξεργασία, καθώς απαιτείται μόνο οπτική επαφή με αυτό. Ο χρόνος που απαιτείται για τη λήψη ενός φάσματος που αντιστοιχεί σε ένα παλμό λέιζερ (Single Shot) είναι μικρότερος του ενός δευτερολέπτου. Στα φάσματα LIBS η πληροφορία για τη στοιχειακή σύσταση παρέχεται υπό τη μορφή των χαρακτηριστικών ατομικών γραμμών εκπομπής, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ταυτοποίηση διαφορετικών στοιχείων. Η δημιουργία του πλάσματος γίνεται σε μια πολύ μικρή περιοχή του υλικού της τάξης του 1 mm^2 από την οποία παρέχονται οι πληροφορίες για τη στοιχειακή σύσταση, επιτρέποντας τη διεξαγωγή χαρτογράφησης και διαστρωματικής ανάλυσης στο υλικό. Η ευαισθησία της τεχνικής είναι ικανοποιητική με τα όρια ανίχνευσης να είναι της τάξης του 0,01-1 ppm. Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται είναι σχετικά απλή και ευνοεί την ανάπτυξη φορητών συστημάτων [1] χωρίς σημαντική μείωση στην ευαισθησία των μετρήσεων. Τα φορητά συστήματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε οποιοδήποτε περιβάλλον από το βυθό της θάλασσας [2] έως σε κάποιον άλλο πλανήτη [3]. Το κόστος της οργανολογίας που απαιτείται είναι της τάξης των 100.000 €, με το κόστος της μέτρησης και συντήρησης να είναι σχεδόν μηδενικό.

Η μελέτη των αερολυμάτων με την τεχνική LIBS ξεκίνησε ως μια εναλλακτική προσέγγιση στην ανάλυση υγρών δειγμάτων. Η απευθείας ανάλυση στο υγρό παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα αλλά και σημαντικές δυσκολίες που σχετίζονται με τη φύση της αλληλεπίδρασης του υγρού με το πλάσμα. Η επιφάνεια ενός υγρού δείγματος είναι απόλυτα ομοιογενής και ομοιόμορφη και συνεχώς ανανεώνεται με αποτέλεσμα κάθε παλμός λέιζερ να συναντά μια νέα επιφάνεια. Η ακτινοβολία που εκπέμπεται από το πλάσμα είναι ασθενής λόγω της απόσβεσης του πλάσματος από το υγρό, ενώ οι φασματικές γραμμές εμφανίζουν έντονη διαπλάτυνση. Η βίαιη εκτόνωση του πλάσματος οδηγεί στη δημιουργία ηχητικών κυμάτων που προκαλούν εκτόξευση σταγονιδίων από την επιφάνεια του υγρού, ρύπανση των οπτικών με το δείγμα και απόσβεση του πλάσματος. Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων έχουν αναπτυχθεί πολλές μεθοδολογίες που αφορούν στη μετατροπή του υγρού σε αερόλυμα [4], τη μέτρηση σε πίδακα υγρού (liquid jet) [5] και τη μεταφορά του υγρού σε στερεά μήτρα [6,7]. Κάθε μία μεθοδολογία έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα τα οποία καθορίζουν το εύρος στο οποίο είναι εφικτή η εφαρμογή της.

Η χρήση ενός jet έγκειται στη δημιουργία μιας σταθερής και συνεχούς ροής υγρού στην επιφάνεια του οποίου γίνεται ο σχηματισμός του πλάσματος, με τη προσέγγιση αυτή να παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με την απευθείας ανάλυση στο υγρό [8]. Για τη δημιουργία του jet χρησιμοποιείται μια αντλία η οποία αναρροφά το δείγμα και το μεταφέρει μέσω κατάλληλου σωλήνα στην επιθυμητή θέση. Ο σωλήνας είναι συνήθως κατασκευασμένος από teflon και τοποθετείται κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης, παράλληλα στο κατακόρυφο επίπεδο που αντιλαμβάνεται ένας άνθρωπος. Τα πλεονεκτήματα που προσφέρει αυτή η προσέγγιση είναι: α) η δημιουργία του πλάσματος συμβαίνει σε περιβάλλον αέρα, β) τα ηχητικά κύματα που δημιουργούνται αλληλεπιδρούν με σημαντικά μικρότερη επιφάνεια υγρού με αποτέλεσμα να μην ευνοείται ο σχηματισμός σταγονιδίων και γ) η επιφάνεια στην οποία δημιουργείται το πλάσμα συνεχώς ανανεώνεται διατηρώντας την ομοιομορφία και την ομοιογένεια που χαρακτηρίζει τα υγρά. Το βασικό μειονέκτημα είναι ότι απαιτείται η χρήση ειδικών αντλιών για τη δημιουργία του jet, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η πολυπλοκότητα της οργανολογίας και κατ' επέκταση η δυνατότητα εφαρμογής της τεχνικής στο πεδίο (in situ).

Η μεταφορά του υγρού σε στερεή μήτρα παρουσιάζει τα περισσότερα πλεονεκτήματα καθώς εξαλείφει όλα τα προβλήματα που δημιουργούνται στα υγρά. Η μεταφορά μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους όπως με εναπόθεση σταγόνων από το υγρό σε μεταλλική επιφάνεια ή σε φίλτρο διήθησης υψηλής καθαρότητας [6], η ανάμιξη με

αντιδραστήρια όπως το οξείδιο του ασβεστίου (CaO) προς σχηματισμό Ca(OH)_2 το οποίο στη συνέχεια στερεοποιείται [7] και η χρήση ανόργανων πολυμερικών ουσιών για τη δημιουργία στερεάς γέλης (sol-gel) [9] και άλλα. Η ευαισθησία της τεχνικής αυξάνεται σε σχέση με την απευθείας μέτρηση στο υγρό καθώς επιτρέπει τη συμπύκνωση του υγρού. Τα βασικά πλεονεκτήματα της προσέγγισης αυτής είναι η εμφάνιση χαμηλότερου κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος και η επιμήκυνση του χρόνου ζωής του πλάσματος. Το βασικό μειονέκτημα της συγκεκριμένης προσέγγισης σχετίζεται με την ανομοιομορφία που παρουσιάζουν οι στερεές επιφάνειες, παράμετρος που οδηγεί σε σφάλματα. Η μεθοδολογία αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί στο πεδίο όταν ως μήτρα χρησιμοποιείται μεταλλική επιφάνεια ή χαρτί διήθησης λόγω απλότητας.

Ως αερόλυμα θεωρείται η διασπορά σωματιδίων στην αέρια φάση. Η μετατροπή του υγρού σε αερόλυμα εξαλείφει τα προβλήματα που σχετίζονται με την απόσβεση του πλάσματος και τη ρύπανση των οπτικών με το διάλυμα. Η μετατροπή συνήθως γίνεται μέσω εκνεφωτή. Το αερόλυμα που παράγεται από κάθε εκνεφωτή έχει συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που σχετίζονται κυρίως με το μέγεθος των σταγονιδίων και το ρυθμό παροχής του διαλύματος. Η δημιουργία του πλάσματος λαμβάνει χώρα στα σωματίδια του αερολύματος όπου βρίσκονται σε αέριο περιβάλλον, με αποτέλεσμα να πραγματοποιείται ελεύθερη εκτόνωση του πλάσματος. Η ακτινοβολία που εκπέμπεται είναι πιο έντονη ενώ η διαπλάτυνση των φασματικών γραμμών είναι μικρότερη. Τα μειονεκτήματα αυτής της προσέγγισης οφείλονται στην ανομοιογένεια των σταγονιδίων που ψεκάζονται από τους εκνεφωτές. Η ανομοιογένεια αφορά στο μέγεθος και κατ' επέκταση στον όγκο και τη μάζα των σχηματιζόμενων σταγονιδίων. Επίσης εισάγονται περιορισμοί που σχετίζονται με τη συμβατότητα του εκνεφωτή με τα προς ανάλυση διαλύματα.

Η ανάλυση στερεών σωματιδίων, το τυπικό μέγεθος των οποίων είναι συνήθως της τάξης μερικών μικρομέτρων με την μάζα τους να είναι της τάξης 100 fg, παρουσιάζει δυσκολίες οι οποίες οφείλονται στη φύση του πλάσματος της τεχνικής και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του πλάσματος και των σωματιδίων. Η σύνθετη φύση αυτών των αλληλεπιδράσεων δημιουργεί προβλήματα που σχετίζονται με φαινόμενα μήτρας που επηρεάζουν την ικανότητα εκμετάλλευσης των σωματιδίων. Ο διακριτός όγκος του πλάσματος μειώνει την ικανότητα δειγματοληψίας σωματιδίων του αερολύματος. Το πλάσμα που δημιουργείται στα σωματίδια του αερολύματος μεταβαίνει σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας μετά το πέρας των διεργασιών τήξης και ατομοποίησης των σωματιδίων. Η εφαρμογή της τεχνικής στο πεδίο έρευνας των

αερολυμάτων δεν αφορά μόνο τη διεξαγωγή μετρήσεων σε εκνεφώματα διαλυμάτων αλλά και στην ανάλυση των σωματιδίων που περιέχονται στην ατμόσφαιρα [10,11].

Σημαντική συνεισφορά στην εφαρμογή της τεχνικής LIBS στην απευθείας ανάλυση αερολυμάτων έχει γίνει από τον D. Hahn και τους συνεργάτες του [12, 13] οι οποίοι ήταν οι πρώτοι που έθιξαν τις πτυχές που σχετίζονται με τη διακριτή φύση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πλάσματος και σωματιδίων. Ο όγκος του πλάσματος που δημιουργείται από την εστίαση του παλμού λέιζερ είναι καθορισμένος της τάξης του 1 nm^3 . Ένα σωματίδιο μπορεί να αλληλεπιδράσει με το πλάσμα μόνο όταν βρίσκεται στην περιοχή εστίασης του παλμού λέιζερ τη χρονική στιγμή που είναι παρών ο παλμός λέιζερ. Η διακριτή φύση της αλληλεπίδρασης αυτής ευνοεί την ανάλυση μεμονωμένων σωματιδίων, διευκολύνοντας σημαντικά την εφαρμογή της τεχνικής στην ποσοτική χημική ανάλυση. Η ανάγκη για στατιστική επεξεργασία των φασμάτων LIBS και επιλογή μόνο εκείνων που παρέχουν πληροφορίες για τη στοιχειακή σύσταση των σωματιδίων κρίνεται αναγκαία.

Στις αναλυτικές τεχνικές όπου γίνεται χρήση επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS), η εισαγωγή του αναλύτη γίνεται μέσω μιας συνεχούς ροής σταγονιδίων προς το πλάσμα, με το καταγραφόμενο σήμα να ολοκληρώνεται για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Η μέτρηση αυτή παρέχει τη μέση τιμή της συγκέντρωσης του αναλύτη στο πλάσμα η οποία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αναλύτη στο διάλυμα. Στην τεχνική LIBS η μέτρηση του μέσου σήματος που αντιστοιχεί στο άθροισμα ενός συγκεκριμένου αριθμού παλμών, θα δώσει μηδενικό αποτέλεσμα όταν η πιθανότητα δειγματοληψίας είναι αρκετά μικρή (π.χ κατά τη δειγματοληψία των σωματιδίων που περιέχονται στον ατμοσφαιρικό αέρα). Σε αυτή την περίπτωση γίνεται αναγκαία η στατιστική επεξεργασία των φασμάτων και επιλογή των φασμάτων στα οποία εμφανίζονται οι ατομικές γραμμές εκπομπής των στοιχείων που μελετώνται. Για την κατανόηση της στατιστικής της δειγματοληψίας σωματιδίων στον ατμοσφαιρικό αέρα γίνεται χρήση της στατιστικής Poisson. Η στατιστική Poisson περιγράφει το ρυθμό εμφάνισης ενός γεγονότος σε ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Στη συγκεκριμένη περίπτωση ως γεγονός θεωρείται η ύπαρξη ενός σωματιδίου στην περιοχή εστίασης του λέιζερ με την πιθανότητα ύπαρξης να υπολογίζεται από τη σχέση :

$$P_n = \frac{\mu^n}{n!} e^{-\mu} \quad (1.1)$$

Όπου P_n είναι η πιθανότητα δειγματοληψίας n αριθμού διακριτών σωματιδίων, σε ένα δεδομένο όγκο πλάσματος. Το μ εκφράζει το μέσο αριθμό σωματιδίων ανά όγκο πλάσματος και ορίζεται ως

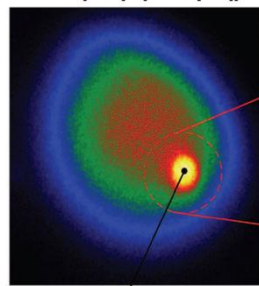
$$\mu = NV_{plasma} \quad (1.2)$$

το οποίο υπολογίζεται με βάση τη μέση πυκνότητα σωματιδίων ανά όγκο του αερίου και του όγκου του πλάσματος που σχηματίζεται. Η περιγραφή της δειγματοληψίας των σωματιδίων ενός αερολύματος θέτει το θεωρητικό υπόβαθρο που επιτρέπει την αντιμετώπιση των σωματιδίων του αερολύματος ως διακριτές μάζες που περιέχουν συγκεκριμένη ποσότητα αναλύτη [14].

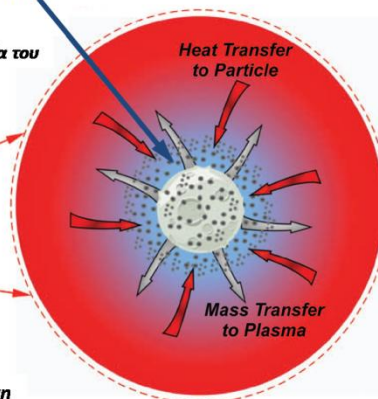
Από τη στατιστική επεξεργασία της δειγματοληψίας των σωματιδίων γίνεται εφικτή η μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του πλάσματος με μεμονωμένα σωματίδια αλλά και των φαινομένων μήτρας. Η μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ των σωματιδίων και του πλάσματος με τεχνικές απεικόνισης, έδειξαν ότι τα σωματίδια αρχικά βρίσκονται σε συγκεκριμένη περιοχή στο πλάσμα, από την οποία σταδιακά διαχέονται κατά τις διαδικασίες εξάτμισης και ατομοποίησης. Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι υπάρχει διαφοροποίηση στη θερμοκρασία του πλάσματος γύρω από το σωματίδιο που οφείλεται στη σταθερή θερμοκρασία του σωματιδίου κατά το στάδιο της εξάτμισής του στο πλάσμα. Η θερμοκρασία του σωματιδίου στην κατάσταση αυτή είναι ίση με τη θερμοκρασία βρασμού του. Όπως γίνεται αντιληπτό, οι διεργασίες μεταφοράς θερμότητας καθορίζουν το ρυθμό μεταφοράς μάζας από το σωματίδιο προς το πλάσμα. Οι διεργασίες αυτές επηρεάζονται σημαντικά από τη μήτρα του σωματιδίου και καθορίζουν ικανότητα εκμετάλλευσης του σωματιδίου από το πλάσμα[15,16].

Οι διεργασίες μεταφοράς ενέργειας και μάζας οδηγούν σε διαφοροποίηση της θερμοκρασίας γύρω από το σωματίδιο

Εκπομπή από το πλάσμα 2 μs μετά την δημιουργία του



Το σωματίδιο βρίσκεται σε συγκεκριμένη θέση στην περιοχή εστίασης του λέιζερ



Εικόνα 1.1. Αλληλεπίδραση ενός σωματιδίου με το πλάσμα που δημιουργείται από την εστίαση ακτινοβολίας λέιζερ. Γίνεται εμφανής η διακριτή φύση της αλληλεπίδρασης ενώ παρουσιάζονται σχηματικά οι διεργασίες μεταφοράς θερμότητας και μάζας [17].

Σημαντική προσπάθεια έχει γίνει στην ανάδειξη εφαρμογών της τεχνικής LIBS στη μελέτη αερολυμάτων σε πραγματικό χρόνο [11,18,19,20,21]. Η τεχνική LIBS μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στην παρακολούθηση των αερολυμάτων που εκπέμπονται από βιομηχανικές εγκαταστάσεις και άμεση ανίχνευση τοξικών συστατικών, όπως τα βαρέα μέταλλα, που εγκυμονούν κινδύνους για τη δημόσια υγεία. Το μέγεθος των σωματιδίων που μελετώνται κυμαίνεται από μερικά nm έως μερικά μm με τα όρια ανίχνευσης να είναι της τάξης των 150 μg/m³.

Επίσης, έχουν πραγματοποιηθεί συστηματικές μελέτες σε αερολύματα που παράγονται από την εκνέφωση υδατικών διαλυμάτων. Η ομάδα της Yalçin [22] μελέτησε την εφαρμογή της τεχνικής LIBS σε αερολύματα που δημιουργούνται κατά την εκνέφωση με υπερήχους υδατικών διαλυμάτων μεταλλικών ιόντων. Τα σταγονίδια του εκνεφώματος που δημιουργείται κατευθύνονται μέσω ροής αζώτου σε στεγνωτή μεμβράνης όπου γίνεται εξάτμιση ενός ποσοστού του νερού, της τάξης του 30 %, που υπάρχει στα σταγονίδια. Η διάμετρος των σταγονιδίων είναι της τάξης των 1,5 μm πριν τη συμπύκνωση και 0,5 μm μετά τη συμπύκνωση. Τα στοιχεία που μελετήθηκαν είναι τα Na, K, Ca, Mg, Cu, Al, Cr, Zn, Pb και Cd με τα όρια ανίχνευσης να κυμαίνονται στα 1-80 ppm.

Μια διαφορετική προσέγγιση στην ανάλυση των αερολυμάτων πραγματοποιήθηκε από την ομάδα του Almirall [23], ο οποίος χρησιμοποίησε μια πηγή ηλεκτροψεκασμού για τη μετατροπή υδατικών διαλυμάτων σε αερόλυμα, καθώς και μια συσκευή παραγωγής σταγονιδίων διαμέτρου 80 μm περίπου. Η συσκευή αυτή ψεκάζει συνεχώς σταγονίδια ανά τακτά χρονικά διαστήματα οπότε μέσω του κατάλληλου συγχρονισμού με το λέιζερ είναι εφικτή η μελέτη μεμονωμένων σταγονιδίων. Τα στοιχεία που μελετήθηκαν είναι τα Mg, Ca, Sr, Ba με τα όρια ανίχνευσης να κυμαίνονται από 0,3 έως 1 ppm στα πειράματα με την πηγή ηλεκτροψεκασμού. Η μελέτη των μεμονωμένων σταγονιδίων παρουσίασε μικρότερη ευαισθησία.

Η τεχνική LIBS βρίσκει εφαρμογή και στην ανάλυση αερολυμάτων που περιέχουν βιολογικά μόρια και κυρίως γύρη και σπόρια μυκήτων [24,25,26]. Οι ερευνητές σε αυτές τις περιπτώσεις έδωσαν έμφαση στην ανίχνευση του άνθρακα μέσω της εκπομπής του CN, η παρουσία της οποίας υποδηλώνει τη βιολογική προέλευση του σωματιδίου. Με βάση τους λόγους των στοιχείων που ανιχνεύονται στο σωματίδιο γίνεται εφικτή η ταξινόμησή τους. Μελέτη πρωτεϊνικών αερολυμάτων με την τεχνική LIBS δεν έχει αναφερθεί μέχρι στιγμής.

Η μελέτη των μεταλλοπρωτεϊνικών συμπλόκων γίνεται συνήθως με τεχνικές φασματομετρίας μάζας [27,28]. Για τον προσδιορισμό της στοιχειακής σύστασης χρησιμοποιείται η φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (Inductively

Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS), ενώ για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους χρησιμοποιείται η φασματομετρία μάζας ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization-Mass Spectrometry, ESI-MS). Για τον πλήρη χαρακτηρισμό ενός βιομορίου είναι αναγκαία η χρήση και των δύο τεχνικών. Κάθε τεχνική απαιτεί διαφορετική επεξεργασία του δείγματος με αποτέλεσμα να αυξάνεται σημαντικά το κόστος και ο χρόνος της ανάλυσης. Επίσης, οι δύο τεχνικές είναι αδύνατον να συνδυαστούν σε ένα όργανο λόγω της υψηλής πολυπλοκότητας κάθε συστήματος.

Η φασματομετρία μάζας υπερηχητικής εκνέφωσης SSI-MS (Sonic Spray Ionization Mass Spectroscopy) ή VEASI-MS (Venturi Easy Ambient Sonic-spray Ionization) είναι μια τεχνική φασματομετρίας μάζας που βρίσκει ολοένα και περισσότερες εφαρμογές και μπορεί να αντικαταστήσει ικανοποιητικά την φασματομετρία μάζας ηλεκτροψεκασμού. Τα πλεονεκτήματα της τεχνικής αυτής είναι η απλότητα στη χρήση, η ήπια θραυσματοποίηση που υφίστανται τα μόρια και η απουσία αντλιών και υψηλών δυναμικών. Η εκνέφωση και η παραγωγή των μοριακών ιόντων πραγματοποιείται σε ατμοσφαιρικές συνθήκες με τη χρήση ενός απλού πνευματικού εκνεφωτή [28].

Η τεχνική LIBS μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μία εναλλακτική προσέγγιση αντί της τεχνικής ICP-MS. Και οι δύο τεχνικές παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση του αναλύτη, με την τεχνική ICP-MS να υπερέχει σε ευαισθησία και έχει την δυνατότητα προσδιορισμού του ισοτοπικού λόγου των στοιχείων.

Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η ανάδειξη της δυνατότητας συνδυασμού της τεχνικής LIBS με την τεχνική SSI-MS για την ανάπτυξη μίας υβριδικής αναλυτικής τεχνικής, η οποία θα συνδυάζει την ατομική φασματοσκοπία με τη μοριακή φασματομετρία μάζας για την ανίχνευση μεταλλικών ιόντων σε βιομόρια και σύμπλοκα. Η ενσωμάτωση των δύο τεχνικών γίνεται εφικτή μέσω της χρήσης ενός μόνο πνευματικού εκνεφωτή, ο οποίος λειτουργεί ως σύστημα εισαγωγής του δείγματος αλλά και ως πηγή ιοντισμού για την τεχνική SSI-MS.

Ο συνδυασμός των τεχνικών αυτών είναι αρκετά σημαντικός καθώς επιτρέπει την ταυτόχρονη λήψη πληροφοριών για τη στοιχειακή σύσταση αλλά και το μοριακό βάρος, μέσω μιας μόνο μέτρησης. Μία τέτοια τεχνική μειώνει σημαντικά την πολυπλοκότητα, το κόστος και το χρόνο ανάλυσης.

Η χρήση της τεχνικής LIBS για τη δημιουργία υβριδικών τεχνικών έχει αναφερθεί και στο παρελθόν. Πιο συγκεκριμένα ο Jansen [4] έδειξε την ικανότητα συνδυασμού της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) με

την τεχνική LIBS, στην οποία η τεχνική LIBS χρησιμοποιείται ως ένας ευαίσθητος ανιχνευτής που παρέχει τις πληροφορίες για τη στοιχειακή σύσταση των εκλουόμενων ουσιών.

Οι Anglos και Velegrakis ανέπτυξαν μια υβριδική πειραματική διάταξη στην οποία συνδυάζεται η φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης (Time Of Flight- Mass Spectrometry) με την τεχνική LIBS για την ανάλυση αντικειμένων πολιτιστικής κληρονομιάς. Η υβριδική τεχνική ονομάζεται LA-TOF-MS (Laser Ablation - Time Of Flight - Mass Spectrometry) και επιτρέπει τον προσδιορισμό της στοιχειακής σύστασης, τον προσδιορισμό του ισοτοπικού λόγου, την ταυτοποίηση μοριακών ενώσεων και μοριακών συσσωματωμάτων (cluster) των ενώσεων [29].

Έχουν γίνει προσπάθειες ανάπτυξης φορητής οργανολογίας στην οποία συνδυάζεται η τεχνική LIBS με την τεχνική TOF-MS. Έχει γίνει κατασκευή ενός πρωτότυπου φορητού συστήματος το οποίο επιτρέπει την ανάλυση αερολυμάτων σε πραγματικό χρόνο. Η είσοδος του αερολύματος γίνεται μέσω εκνεφωτή συγκεντρωτικού τύπου. Το μειονέκτημα που παρουσιάζει είναι η αδυναμία λήψης φασμάτων μάζας και LIBS ταυτόχρονα [30].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΕΠΑΓΟΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΛΕΙΖΕΡ

Η φασματοσκοπία πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Plasma Spectroscopy (LIPS) ή Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)) είναι μία τεχνική διαγνωστικού και αναλυτικού χαρακτήρα, που βασίζεται στην καταγραφή και φασματική ανάλυση της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από πλάσμα που δημιουργείται ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας από παλμικό λέιζερ με το εξεταζόμενο υλικό/δείγμα. Οι χαρακτηριστικές ατομικές γραμμές στο φάσμα εκπομπής του πλάσματος επιτρέπουν την ταυτοποίηση των στοιχείων που περιέχονται στο υλικό που μελετάται.

Το φαινόμενο της επαγόμενης κατάρρευσης από λέιζερ (Laser Induced Breakdown) παρατηρήθηκε αμέσως μετά την εφεύρεση του λέιζερ, το 1963 [31]. Η πρώτη αναφορά για τη δημιουργία πλάσματος από λέιζερ έγινε από τους Breach και Cross [32]. Στη συνέχεια το 1964 οι Maker, Terhune και Savage [33] ανέφεραν την πρώτη παρατήρηση διάσπασης (εκκένωση) σε αέριο με οπτικό τρόπο κατ αναλογία της ηλεκτρικής εκκένωσης (electrical discharge). Την ίδια χρονιά δημοσιεύτηκε μια εργασία [34] από τους Runge, Minck και Bryan η οποία αναφερόταν στη δημιουργία πλάσματος πάνω σε μεταλλικό δείγμα με χρήση ενός παλμικού λέιζερ ρουμπινίου. Το 1966, οι Young, Hercher και Yu [35] περιέγραψαν τα χαρακτηριστικά πλάσματος δημιουργούμενου από λέιζερ στον αέρα. Η εφαρμογή της τεχνικής LIBS σε στερεά, υγρά και αέρια δείγματα με σκοπό την ανάλυση άρχισε να εξετάζεται από αρκετές ερευνητικές ομάδες το 1970.

Τα πρώτα εμπορικά διαθέσιμα συστήματα, που ήταν πρόδρομοι της τεχνικής LIBS, κατασκευάστηκαν την περίοδο από το 1964 μέχρι το 1967 από τρεις κυρίως εταιρίες, τη γερμανική Zeiss, την ιαπωνική JEOL Ltd και την αμερικανική Jarrell-Ash. Στα συστήματα αυτά παλμικό λέιζερ χρησιμοποιείται για τη φωτοαποδόμηση του δείγματος, ενώ για τη διέγερση των ατόμων χρησιμοποιείται ηλεκτρικός σπινθήρας.

2.1. Κατάσταση Πλάσματος

Το πλάσμα θεωρείται ως η τέταρτη κατάσταση της ύλης και αποτελεί μια τοπική κατανομή ατόμων, μορίων, ιόντων και ελευθέρων ηλεκτρονίων, ηλεκτρικά ουδέτερη στο σύνολο της. Το πλάσμα μπορεί να θεωρηθεί ως ένα μερικώς ιονισμένο αέριο. Η δημιουργία πλάσματος επιτυγχάνεται μέσω τριών μηχανισμών: της θερμικής κατάρρευσης (thermal breakdown), της ηλεκτροστατικής κατάρρευσης (electrical breakdown) και της διηλεκτρικής κατάρρευσης (dielectric breakdown). Θερμική κατάρρευση για παράδειγμα συμβαίνει στον ήλιο όπου σε θερμοκρασία μερικών χιλιάδων βαθμών Κέλβιν προκαλείται τήξη της ύλης, εξάτμιση και ιοντισμός της μέσω θερμικά επαγόμενων κρούσεων. Ηλεκτροστατική κατάρρευση λαμβάνει χώρα σε ένα κεραυνό, ενώ διηλεκτρική κατάρρευση προκαλείται σε ένα ηλεκτρικό μονωτή όταν εφαρμοστεί διαφορά δυναμικού μεγαλύτερη από την τάση διάσπασης του.

Το πλάσμα χαρακτηρίζεται από σειρά φυσικών παραμέτρων οι σημαντικότερες εκ των οποίων είναι ο βαθμός ιονισμού και η θερμοκρασία. Σε ένα ασθενώς ιονισμένο πλάσμα η θερμοκρασία είναι της τάξης των 10.000 K και ο λόγος των πληθυσμών των ελεύθερων ηλεκτρονίων προς τα άλλα είδη είναι μικρότερος από 10 %. Το πλάσμα που δημιουργείται στην τεχνική LIBS εντάσσεται στην κατηγορία του ασθενώς ιονισμένου πλάσματος [36].

2.2. Δημιουργία πλάσματος σε αέρια– Αλληλεπίδραση φωτός-ύλης

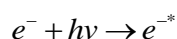
Η δημιουργία του πλάσματος είναι εφικτή όταν η πυκνότητα ισχύος του φωτός υπερβεί μια τιμή κατωφλίου της τάξης του 1 GW/cm^2 . Ο μηχανισμός δημιουργίας του πλάσματος επηρεάζεται άμεσα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος (μέταλλο, ημιαγωγός, μονωτής) αλλά και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ. Τα υγρά και αέρια δείγματα συμπεριφέρονται ως μονωτές με αποτέλεσμα το κατώφλι δημιουργίας πλάσματος να είναι υψηλότερο σε σχέση με το κατώφλι σε ένα μέταλλο.

Η διαδικασία δημιουργίας του πλάσματος ξεκινά με την άφιξη του παλμού λέιζερ στο δείγμα η τυπική διάρκεια του οποίου είναι της τάξης των 10 ns. Απορρόφηση ενός μέρους της ακτινοβολίας λέιζερ από το δείγμα οδηγεί σε ηλεκτρονιακή διέγερση και στη συνέχεια ιοντισμό και παραγωγή ελεύθερων ηλεκτρονίων (διηλεκτρική κατάρρευση) στην επιφάνεια του δείγματος μέσω της διεργασίας του πολυφωτονικού ιοντισμού. Τα ελεύθερα ηλεκτρόνια απορροφούν περαιτέρω την ακτινοβολία, επιταχύνονται και συγκρούμενα με τα άτομα και μόρια του δείγματος ενισχύουν την παραγωγή ηλεκτρονίων και ιόντων. Η συγκεκριμένη διεργασία δημιουργίας πλάσματος ονομάζεται μηχανισμός χιονοστιβάδας (avalanche ionization).

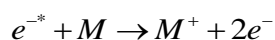
Κατά τη δημιουργία του πλάσματος και οι δύο μηχανισμοί συντρέχουν ταυτόχρονα. Τα αρχικά ηλεκτρόνια παράγονται μέσω της διαδικασίας του πολυφωτονικού ιονισμού, ενώ στη συνέχεια επιταχύνονται από τον παλμό λέιζερ και προκαλούν περαιτέρω παραγωγή ηλεκτρονίων μέσω του μηχανισμού της χιονοστιβάδας. Και οι δύο μηχανισμοί είναι ισοδύναμοι και δρουν συμπληρωματικά. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ καθορίζουν τη συνεισφορά του καθενός εκ των δύο μηχανισμών[36].

2.2.1. Μηχανισμός χιονοστιβάδας

Στο μηχανισμό χιονοστιβάδας η δημιουργία του πλάσματος βασίζεται στην ύπαρξη ελεύθερων ηλεκτρονίων τα οποία κατά την αλληλεπίδραση τους με την ακτινοβολία λέιζερ επιταχύνονται λόγω του αντίστροφου φαινομένου Bremsstrahlung.



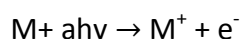
Τα ηλεκτρόνια αυτά αποκτούν κινητική ενέργεια, ικανή να προκαλέσει τον ιοντισμό των ατόμων του υλικού. Ο ιοντισμός του υλικού γίνεται μέσω κρούσεων των ελεύθερων ηλεκτρονίων με τα δεσμευμένα ηλεκτρόνια του υλικού.



Η χρονική κλίμακα της διεργασίας είναι μερικά fs-ps και επαναλαμβάνεται συνεχώς όσο διαρκεί ο παλμός λέιζερ ($\tau_p=10$ ns) με αποτέλεσμα να αυξάνει εκθετικά ο ρυθμός παραγωγής ηλεκτρονίων. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η σταδιακή κατάρρευση του υλικού και ο σχηματισμός πλάσματος.

2.2.2. Πολυφωτονικός ιοντισμός

Η διεργασία του πολυφωτονικού ιονισμού της ύλης κατατάσσεται στα μη γραμμικά φαινόμενα. Όταν η πυκνότητα ισχύος της ακτινοβολίας είναι υψηλή (>1 GW/cm²) γίνεται εφικτή η απορρόφηση περισσότερων του ενός φωτονίων από το υλικό. Η διεργασία αυτή οδηγεί σε ιοντισμό του υλικού και τη δημιουργία πλάσματος. Η διαδικασία μπορεί να περιγραφεί απλοϊκά με την παρακάτω αντίδραση:

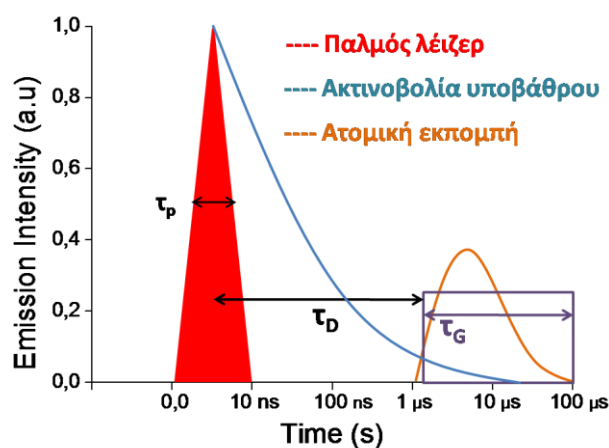


όπου M είναι ένα μόριο/άτομο του υλικού και a είναι ο αριθμός των φωτονίων ενέργειας (hν) που απορροφώνται από το υλικό. Η απορρόφηση της ακτινοβολίας οδηγεί σε έντονη εκπομπή ηλεκτρονίων από την επιφάνεια του υλικού με αποτέλεσμα να δημιουργείται περίσσεια θετικού φορτίου. Όταν οι απώσεις Coulomb μεταξύ των μορίων του μέσω γίνουν αρκετά ισχυρές προκαλείται κατάρρευση του υλικού και σχηματισμός πλάσματος.

2.3. Χρονική εξέλιξη εκπομπής από το πλάσμα

Το πλάσμα δημιουργείται και θερμαίνεται όσο διαρκεί ο παλμός του λέιζερ. Μετά το τέλος του παλμού το πλάσμα εισέρχεται σε μια διαδικασία βαθμιαίας ψύξης λόγω αποβολής ενέργειας προς το περιβάλλον μέσω κρούσεων και εκπομπής ακτινοβολίας. Κατά τη διαδικασία της ψύξης, η θερμοκρασία και η ηλεκτρονιακή πυκνότητα του πλάσματος συνεχώς μειώνονται.

Η κατάσταση πλάσματος προϋποθέτει την ύπαρξη ελευθέρων ηλεκτρονίων, τα οποία καθώς κινούνται αλληλεπιδρούν με άλλα ηλεκτρόνια, άτομα ή ιόντα μέσω κρούσεων, με αποτέλεσμα να υπάρχει μεταβολή στην κινητική τους ενέργεια. Η διαδικασία επιβράδυνσης των ηλεκτρονίων οδηγεί στην εκπομπή ακτινοβολίας λόγω του φαινομένου Bremsstrahlung. Στα αρχικά στάδια της δημιουργίας του πλάσματος, μετά το πέρας του παλμού λέιζερ, ο βαθμός ιοντισμού και η θερμοκρασία λαμβάνουν τη μέγιστη τιμή. Η μέση κινητική ενέργεια των ηλεκτρονίων είναι υψηλή και σε συνδυασμό με τον υψηλό αριθμό κρούσεων ανά μονάδα χρόνου προκαλούν την έντονη εκπομπή ακτινοβολίας λόγω φαινομένου Bremsstrahlung. Η ακτινοβολία αυτή χαρακτηρίζεται από ένα συνεχές φάσμα επειδή η κινητική ενέργεια ενός ηλεκτρονίου δεν είναι κβαντισμένη. Η ένταση της ακτινοβολίας αυτής εξαρτάται από την παρουσία των ελεύθερων ηλεκτρονίων και μειώνεται καθώς εξελίσσεται η διαδικασία της επανασύνδεσης των ιόντων με τα ηλεκτρόνια του πλάσματος. Η μείωση της μέσης κινητικής ενέργειας των ηλεκτρονίων προκαλεί μετατόπιση του μεγίστου εκπομπής της ακτινοβολίας λόγω φαινομένου Bremsstrahlung σύμφωνα με την κατανομή Planck. Λόγω της υψηλής έντασης της ακτινοβολίας συνεχούς εκπομπής στα πρώτα στάδια σχηματισμού του πλάσματος, η καταγραφή των φασμάτων LIBS πραγματοποιείται με χρονική καθυστέρηση σε σχέση με την άφιξη του παλμού λέιζερ στο στόχο.



Εικόνα 2.1. Σχηματική απεικόνιση της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής από το πλάσμα.

Με αυτό τον τρόπο η καταγραφή της εκπομπής πραγματοποιείται όταν η ακτινοβολία συνεχούς έχει εξασθενήσει και οι οξείες γραμμές ατομικής εκπομπής επικρατούν στο φάσμα LIBS. Στην Εικόνα 2.1 αναπαριστάται σχηματικά η χρονική εξέλιξη της εκπεμπόμενης από το πλάσμα ακτινοβολίας και επισημαίνονται οι χαρακτηριστικοί χρόνοι που υπεισέρχονται στις μετρήσεις.

Το χρονικό διάστημα από τη στιγμή άφιξης του παλμού λέιζερ στο δείγμα μέχρι τη στιγμή έναρξης της καταγραφής της εκπομπής συμβολίζεται με τ_D και ονομάζεται χρόνος καθυστέρησης (Delay time), το χρονικό διάστημα εντός του οποίου πραγματοποιείται η μέτρηση συμβολίζεται με τ_G και ονομάζεται χρόνος συλλογής (Gate time) ή χρόνος ολοκλήρωσης. Οι παράμετροι χρονισμού ρυθμίζονται έτσι ώστε στο χρονικό διάστημα κατά το οποίο γίνεται η καταγραφή του φάσματος LIBS το πλάσμα να βρίσκεται σε τοπική θερμοδυναμική ισορροπία. Κατ'αυτόν τον τρόπο γίνεται εφικτή η διεξαγωγή αξιόπιστων και επαναλήψιμων μετρήσεων.

2.3.1. Συνεχές υπόβαθρο

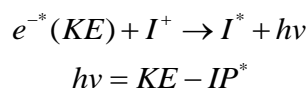
Η εκπομπή ακτινοβολίας συνεχούς υπόβαθρου αποτελεί χαρακτηριστική ιδιότητα του πλάσματος, είναι έντονη παρουσία του παλμού λέιζερ και εξασθενεί μετά το πέρας του παλμού. Το συνεχές υπόβαθρο αποδίδεται σε δύο τύπους μεταβάσεων που εκτελούνται από τα ηλεκτρόνια: α) μεταβάσεις μεταξύ δύο ελεύθερων ενεργειακών καταστάσεων και β) μεταβάσεις μεταξύ δέσμιων και ελεύθερων καταστάσεων [37,38]. Η ακτινοβολία που εκπέμπεται παρουσιάζει ευρεία φασματική κατανομή και ονομάζεται συνεχές υπόβαθρο καθώς η κινητική ενέργεια ενός ελεύθερου ηλεκτρονίου δεν είναι κβαντισμένη.

A) Μεταβάσεις μεταξύ δύο ελεύθερων ενεργειακών καταστάσεων συμβαίνουν όταν ένα κινούμενο ηλεκτρόνιο επιβραδύνεται απότομα λόγω κρούσεων με άτομα και ιόντα που βρίσκονται στο πλάσμα. Η ακτινοβολία αυτή ονομάζεται ακτινοβολία πέδησης ή φαινόμενο Bremsstrahlung.

$$e^{-*}(KE_1) + M \rightarrow M + e^{-}(KE_2) + h\nu$$

$$h\nu = KE_1 - KE_2$$

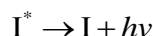
B) Μεταβάσεις μεταξύ δέσμιων επιπέδων και ελεύθερων καταστάσεων έχουμε κατά τη διαδικασία της επανασύνδεσης των ηλεκτρονίων με τα ιόντα που βρίσκονται στο πλάσμα. Η επανασύνδεση αυτή οδηγεί στο σχηματισμό ενός ουδέτερου ατόμου ή ενός ιόντος χαμηλότερης οξειδωτικής κατάστασης, με την περίσσεια ενέργειας του ηλεκτρονίου να αποβάλλεται μέσω της εκπομπής φωτονίου.



Η ακτινοβολία συνεχούς εκπομπής θεωρείται ως ακτινοβολία υποβάθρου καθώς δεν παρέχει αναλυτική πληροφορία σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση του εξεταζόμενου υλικού. Ωστόσο, παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη θερμοκρασία των ηλεκτρονίων στο πλάσμα.

2.3.2. Ατομικές γραμμές εκπομπής

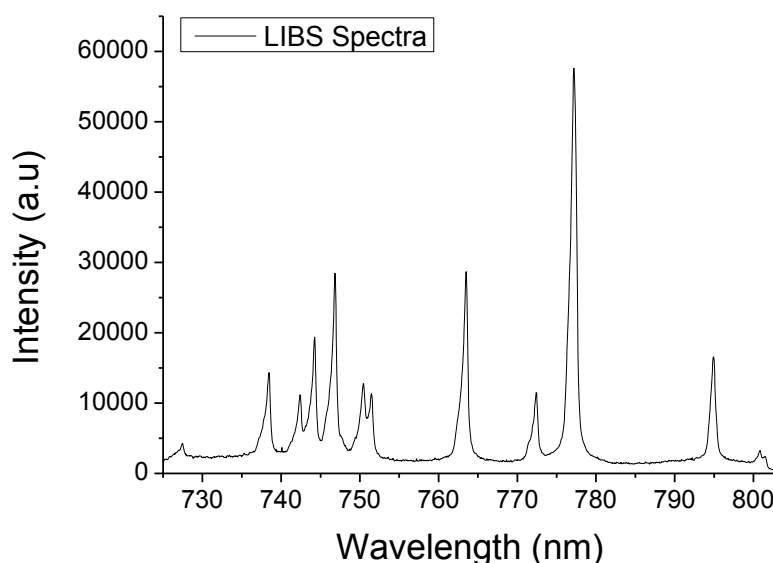
Ένα διεγερμένο άτομο ή ιόν εκπέμπει ακτινοβολία λόγω της μετάβασής του από μια κβαντική κατάσταση υψηλής ενέργειας σε μια κβαντική κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας.



Οι ενέργειες των κβαντικών αυτών καταστάσεων είναι καλά καθορισμένες οπότε στο φάσμα εμφανίζονται οξείες γραμμές. Αν συμβολίσουμε με E_i την ενέργεια της αρχικής και με E_k την ενέργεια της τελικής κβαντικής κατάστασης η συχνότητα της ακτινοβολίας στην οποία παρατηρείται η μετάβαση δίνεται από την εξίσωση του Bohr :

$$E_k - E_i = h\nu \quad (2.1)$$

Όπου h είναι η σταθερά του Planck και ν η συχνότητα σε Hz στην οποία παρατηρείται η μετάβαση. Στον Πίνακα 2.1 παρατίθενται οι χαρακτηριστικές γραμμές εκπομπής των ατόμων που εμφανίζονται στα φάσματα LIBS που λήφθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, ενώ στο Σχήμα 2.1 παρουσιάζεται ένα τυπικό φάσμα LIBS.



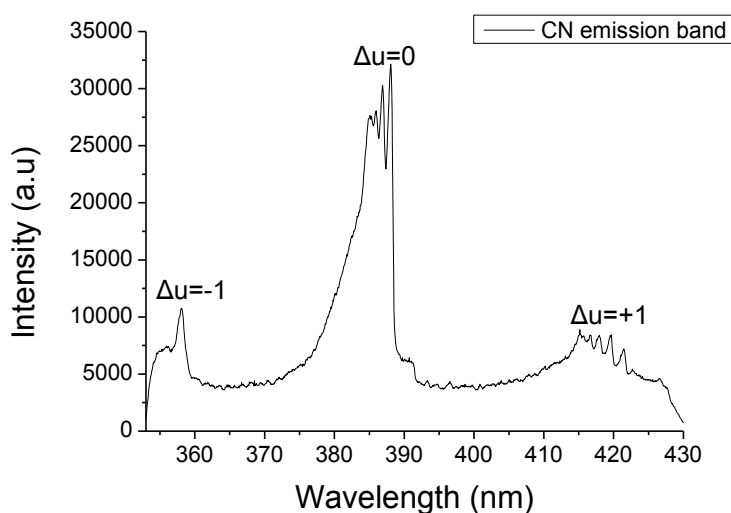
Σχήμα 2.1. Τυπικό φάσμα LIBS όπου φαίνονται οι γραμμές ατομικής εκπομπής.

Πίνακας 2.1. Γραμμές ατομικής εκπομπής που εμφανίζονται στα φάσματα LIBS της παρούσας εργασίας [39,40].

Στοιχείο	Μήκος κύματος εκπομπής (nm)	Ηλεκτρονιακή διαμόρφωση/ Φασματοσκοπικός όρος	Ενέργεια (cm ⁻¹)
Cu I	324,395	$(3d)^{10}(4p)^1 \rightarrow (3d)^{10}(4s)^1$ $(^2P_{3/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	30783,69–0,00
Cu I	327,754	$(3d)^{10}(4p)^1 \rightarrow (3d)^{10}(4s)^1$ $(^2P_{1/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	30535,30–0,00
Ca I	422,673	$(3p)^6(4s)^1(4p)^1 \rightarrow (3p)^6(4s)^2$ $(^1P_1) \rightarrow (^1S_0)$	23652,30–0,00
Na I	588,995	$(2p)^6(3p)^1 \rightarrow (2p)^6(3s)^1$ $(^2P_{3/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	16973,37–0,00
Na I	589,592	$(^2P_{1/2})(2p)^6(3p)^1 \rightarrow (2p)^6(3s)^1$ $(^2P_{1/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	16956,17–0,00
H I	656,279	Balmer H _α n=3 → n=2	97492,30 – 82259,16
(Ca I)	445,478	$3p^6 4s^1 4d^1 (^3D_3) \rightarrow 3p^6 4s^1 4p^1 (^3P_2)$	37757,45–15315,943
(Ca I)	445,589	$3p^6 4s^1 4d^1 (^3D_2) \rightarrow 3p^6 4s^1 4p^1 (^3P_2)$	37751,87–15315,943
(Ca I)	445,661	$3p^6 4s^1 4d^1 (^3D_1) \rightarrow 3p^6 4s^1 4p^1 (^3P_2)$	37748,20–15315,943
H I	486,133	Balmer H _β n=4 → n=2	102823,90–82259,16
H I	410,173	Balmer H _γ n=5 → n=2	106632,17–82259,16
N I	742,364	$(2s)^2(2p)^2(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^2(3s)^1$ $(^4S_{3/2}) \rightarrow (^4P_{1/2})$	96750,84–83284,07
N I	744,229	$(2s)^2(2p)^2(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^2(3s)^1$ $(^4S_{3/2}) \rightarrow (^4P_{3/2})$	96750,84–83317,83
N I	746,831	$(2s)^2(2p)^2(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^2(3s)^1$ $(^4S_{3/2}) \rightarrow (^4P_{5/2})$	96750,84–83364,62
O I	777,194	$(2s)^2(2p)^3(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^3(3s)^1$ $(^5S_2) \rightarrow (^5P_3)$	86631,45–73768,20
O I	777,417	$(2s)^2(2p)^3(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^3(3s)^1$ $(^5S_2) \rightarrow (^5P_2)$	86627,78–73768,20
O I	777,539	$(2s)^2(2p)^3(3p)^1 \rightarrow (2s)^2(2p)^3(3s)^1$ $(^5S_2) \rightarrow (^5P_1)$	86625,76–73768,20
Fe I	302,064	$(3d)^6(4s)^1(4p)^1 \rightarrow (3d)^6(4s)^2$	33095,94–0,00
Ar I	727,294	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107496,42–93750,60
Ar I	738,398	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107289,70–93750,60
Ar I	750,387	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	108722,62–95399,83
Ar I	751,465	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107054,272–93750,60
Ar I	763,511	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	106237,55–93143,76
Ar I	772,361	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	106087,26–93143,76
Ar I	772,421	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107496,42–94553,67
Ar I	794,818	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107131,71–94553,67
Ar I	800,616	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	106237,55–93750,60
Ar I	801,479	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	105617,27–93143,76
Ca II	393,366	$(3p)^6(4p)^1 \rightarrow (3p)^6(4s)^1$ $(^2P_{3/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	25414,40–0,00
Ca II	396,847	$(3p)^6(4p)^1 \rightarrow (3p)^6(4s)^1$ $(^2P_{1/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	25191,51–0,00
Ba II	455,403	$(5p)^6(6p)^1 \rightarrow (5p)^6(6s)^1$ $(^2P_{3/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	21952,42–0,00
Ba II	493,408	$(5p)^6(6p)^1 \rightarrow (5p)^6(6s)^1$ $(^2P_{1/2}) \rightarrow (^2S_{1/2})$	20261,56–0,00

2.3.3. Μοριακές ταινίες εκπομπής

Ο σχηματισμός μορίων στο πλάσμα είναι εφικτός όταν η θερμοκρασία του μειωθεί αρκετά, ώστε τα μόρια που δημιουργούνται να μην επαναδιασπώνται. Κατά τη ψύξη του πλάσματος σχηματίζονται κυρίως διατομικά μόρια όπως τα OH, NH ή CN. Ο σχηματισμός των μορίων πραγματοποιείται μέσω κρούσεων τριών σωμάτων (3-body collisions). Τα μόρια που σχηματίζονται βρίσκονται συνήθως σε διεγερμένη ηλεκτρονική και δονητική κατάσταση. Κατά την αποδιέγερση των μορίων εκπέμπεται χαρακτηριστική ακτινοβολία. Η υφή των ταινιών μοριακής εκπομπής ερμηνεύεται με βάση την αρχή Frank – Condon. Στο Σχήμα 2.2 παρουσιάζεται τυπικό φάσμα LIBS στο οποίο εμφανίζονται οι ταινίες μοριακής εκπομπής διεγερμένων μορίων CN, ο σχηματισμός των οποίων παρατηρείται όταν στο υλικό στόχο περιέχεται μια σημαντική ποσότητα ατόμων άνθρακα.



Σχήμα 2.2. Φάσμα LIBS της 1-προπανόλης ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) συγκέντρωσης 1 M σε H_2O , όπου εμφανίζεται η χαρακτηριστική εκπομπή του διεγερμένου CN.

2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δημιουργία και εξέλιξη του πλάσματος

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη δημιουργία και εξέλιξη του πλάσματος σχετίζονται με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ, τη χρονική διάρκεια και ενέργεια του παλμού λέιζερ, τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού στόχου και το περιβάλλον του στόχου.

2.4.1. Μήκος κύματος ακτινοβολίας

Το μήκος κύματος της ακτινοβολίας επηρεάζει σημαντικά το μηχανισμό δημιουργίας του πλάσματος. Η παρουσία φωτονίων μικρού μήκους κύματος (UV) αυξάνει την αποτελεσματικότητα του πολυφωτονικού ιοντισμού, επειδή για τον ιοντισμό του

δείγματος απαιτείται ταυτόχρονη απορρόφηση μικρότερου αριθμού φωτονίων. Όταν η δημιουργία του πλάσματος γίνεται κυρίως μέσω του μηχανισμού χιονοστιβάδας, τότε η επίδραση από το μήκος κύματος φαίνεται μέσω του συντελεστή απορρόφησης της αντίστροφης διεργασίας Bremsstrahlung, α_{IB} :

$$\alpha_{IB} = \left(QN_e N_0 + \frac{4Z^2 e^6 \lambda^3}{3hc^4 m_e} N_i N_e \left(\frac{2\pi}{3m_e k_B T_e} \right)^{1/2} \right) \times \left(1 - \exp\left(-\frac{hc}{\lambda k_B T_e} \right) \right) \quad (2.2)$$

όπου Q είναι η ενεργός διατομή της διεργασίας απορρόφησης ενός φωτονίου από το ηλεκτρόνιο κατά τη διάρκεια της κρούσης με ένα άτομο, N_0 , N_i και N_e είναι η πυκνότητα πληθυσμού των ουδετέρων ατόμων, των ιόντων και ηλεκτρονίων αντίστοιχα, λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ, m_e η μάζα του ηλεκτρονίου, e φορτίο του ηλεκτρονίου, Z το φορτίο του ιόντος, h η σταθερά του Planck, k_B η σταθερά του Boltzmann και T_e η θερμοκρασία των ηλεκτρονίων.

Όπως φαίνεται και από την εξίσωση 2.2, στην αποτελεσματικότητα της διεργασίας απορρόφησης μέσω της αντίστροφης διεργασίας Bremsstrahlung υπεισέρχονται παράμετροι οι οποίες σχετίζονται με το βαθμό ιοντισμού των ατόμων του υλικού στο πλάσμα και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ. Με βάση την εξίσωση 2.2 μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η αντίστροφη διεργασία Bremsstrahlung ευνοείται όταν η ακτινοβολία γίνεται στο υπέρυθρο απ' ότι στο ορατό ή το υπεριώδες [36, 41].

2.4.2. Ενέργεια ακτινοβολίας

Η ενέργεια του παλμού λέιζερ έχει καθοριστικό ρόλο στο στάδιο δημιουργίας του πλάσματος. Όταν η ροή ισχύος υπερβεί μια τιμή κατωφλίου τότε είναι εφικτή η δημιουργία πλάσματος. Τυπικές τιμές του κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος στον αέρα για διάφορα μήκη κύματος ακτινοβολίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2. Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι το κατώφλι δημιουργίας πλάσματος αυξάνει καθώς μεταβαίνουμε από τη στερεά κατάσταση στην υγρή και από την υγρή στην αέρια [36].

Η μέγιστη μάζα ενός στερεού υλικού (M) που μπορεί να εξατμιστεί από ένα παλμό λέιζερ ενέργειας (E) δίνεται από τη σχέση:

$$M = \frac{E(1-R)}{C_p (T_b - T_0) + L_v} \quad (2.3)$$

Όπου E είναι η ενέργεια του παλμού λέιζερ, R είναι η ανακλαστικότητα της επιφάνειας, C_p είναι η ειδική θερμοχωρητικότητα του υλικού, T_b είναι η θερμοκρασία βρασμού του υλικού, T_0 είναι η θερμοκρασία δωματίου και L_v είναι η λανθάνουσα θερμότητα εξάτμισης.

Πίνακας 2.2. Τιμές κατώφλιου δημιουργίας πλάσματος για διαφορετικά μήκη κύματος λέιζερ [36,42].

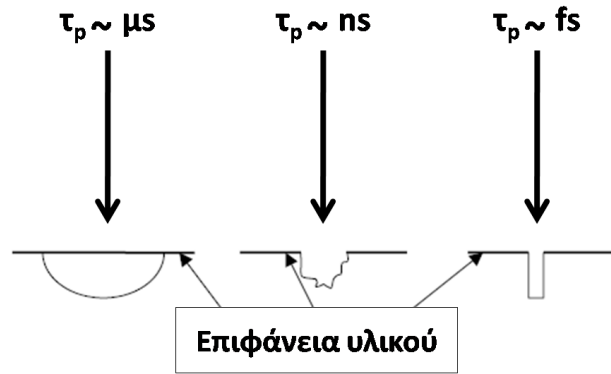
Τύπος λέιζερ	Μήκος κύματος (nm)	Διάρκεια παλμού (ns)	Περιβάλλον δημιουργίας πλάσματος	Κατώφλι δημιουργίας πλάσματος (W/cm ²)
Nd:YAG	1064	10	Αέρας	$8,2 \times 10^{10}$
Nd:YAG	1064	8	Αέρας	2×10^{10}
Nd:YAG	355	15	Αργό	3×10^{10}
Nd:YAG	1064	7	Νερό	$0,56 \times 10^{10}$
Nd:YAG	355	7	Αέρας	$2,7 \times 10^{10}$
Nd:YAG	266	7	Αέρας	$1,7 \times 10^{10}$
ArF	193	10	Αέρας	$0,97 \times 10^{10}$

2.4.3. Διάρκεια παλμού

Η χρονική διάρκεια του παλμού λέιζερ επηρεάζει τη διαδικασία δημιουργίας του πλάσματος. Όταν η ακτινοβολία γίνεται με παλμούς λέιζερ χρονικής διάρκειας μερικών μs ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται κυρίως μέσω του μηχανισμού της χιονοστιβάδας. Αρχικά προκαλείται θέρμανση του υλικού, τήξη, εξάτμισή και στη συνέχεια ατομοποίηση και ιοντισμός του. Όταν χρησιμοποιούνται παλμοί χρονικής διάρκειας μερικών ns στο σχηματισμό πλάσματος έχουν συνεισφορά και οι δύο μηχανισμοί. Ποιος από τους μηχανισμούς θα επικρατήσει εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος.

Όταν χρησιμοποιούνται παλμοί χρονικής διάρκειας μικρότερης από ns ο σχηματισμός πλάσματος γίνεται κυρίως μέσω του πολυφωτονικού ιοντισμού. Η μικρή χρονική διάρκεια του παλμού δεν ευνοεί τη συνεισφορά στο σχηματισμό του πλάσματος του μηχανισμού της χιονοστιβάδας.

Στην εικόνα 2.2 φαίνεται σχηματικά η όψη του κρατήρα που δημιουργείται όταν για τη φωτοαποδόμηση του υλικού χρησιμοποιηθούν παλμοί λέιζερ διαφορετικής χρονικής διάρκειας. Ο υψηλός χρόνος αλληλεπίδρασης των ηλεκτρονίων με τον παλμό λέιζερ ευνοεί τη διάχυση της ενέργειας στο υλικό με αποτέλεσμα να αυξάνει η διάμετρος του κρατήρα που δημιουργείται. Η χρήση βραχέων ($\tau_p \sim ns$) παλμών οδηγεί στη δημιουργία κρατήρα μικρότερου μεγέθους λόγω του μικρότερου χρόνου αλληλεπίδρασης του παλμού με τα ηλεκτρόνια. Όταν γίνεται χρήση υπερβραχέων παλμών ($\tau_p \sim fs$) ο κρατήρας που λαμβάνεται είναι ομοιόμορφος και η διάμετρος του η μικρότερη δυνατή επειδή η διάχυση της ενέργειας είναι περιορισμένη.



Εικόνα 2.2. Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης του υλικού με παλμούς λέιζερ διαφορετικής χρονικής διάρκειας αλλά ίδιας ενέργειας [41].

2.4.4. Φυσικοχημικές ιδιότητες υλικού στόχου

Η απορρόφηση ακτινοβολίας αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο της διαδικασίας δημιουργίας του πλάσματος. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού στόχου σχετίζονται με το μηχανισμό απορρόφησης της ακτινοβολίας λέιζερ από το υλικό. Η ικανότητα απορρόφησης ακτινοβολίας από ένα υλικό περιγράφεται από το νόμο του Beer- Lambert:

$$A_{\lambda} = a_{\lambda} b \quad (2.4)$$

όπου το A εκφράζει την απορρόφηση ακτινοβολίας μήκους κύματος λ , a (cm^{-1}) είναι ο συντελεστής μονοφωτονικής απορρόφησης ακτινοβολίας σε μήκους κύματος λ από το υλικό και b (cm) η οπτική διαδρομή. Ο συντελεστής a καθορίζει το μήκος της οπτικής διαδρομής δηλαδή κατ' ουσίαν τον όγκο αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας με το υλικό. Η ενέργεια της ακτινοβολίας λέιζερ μεταφέρεται πιο αποτελεσματικά στο υλικό όταν ο συντελεστής a είναι της τάξης του 10^4 ή υψηλότερος. Το σύνολο της ενέργειας κατανέμεται σε μικρό όγκο του υλικού με αποτέλεσμα το υλικό να εμφανίζει χαμηλότερο κατώφλι δημιουργίας πλάσματος. Μικρή τιμή του κατωφλίου συνεπάγεται με αύξηση της διαθέσιμης ενέργειας για τη θέρμανση του πλάσματος, με αποτέλεσμα να αυξάνει η θερμοκρασία και η ηλεκτρονιακή πυκνότητα στο πλάσμα.

2.4.5. Το περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος

Ο όρος περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος αναφέρεται σε όλες τις παραμέτρους που επηρεάζουν τη δημιουργία του πλάσματος σε ένα υλικό στόχο. Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται με το είδος και την πίεση του αερίου που περιβάλλει το στόχο. Το περιβάλλον επηρεάζει σημαντικά το στάδιο δημιουργίας και το στάδιο ψύξης του πλάσματος. Η παρουσία ατόμων με υψηλό δυναμικό ιοντισμού αυξάνει το κατώφλι δημιουργίας ενώ ταυτόχρονα προκαλεί και μείωση στο χρόνο ζωής του πλάσματος. Ο

χρόνος ζωής εξαρτάται από το ρυθμό επανασύνδεσης των ελεύθερων ηλεκτρονίων με τα ατομικά ιόντα στο πλάσμα. Η αύξηση στο δυναμικό ιοντισμού αυξάνει την αποτελεσματικότητα των διεργασιών επανασύνδεσης, με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος ζωής.

Η δημιουργία του πλάσματος σε συνθήκες κενού ή υπό χαμηλή πίεση επιμηκύνει το χρόνο ζωής του. Δεδομένου ότι κατά τη διαδικασία ψύξης του πλάσματος γίνεται μη αντιστρεπτή μεταφορά ενέργειας από το πλάσμα προς το περιβάλλον, όταν ο σχηματισμός πλάσματος γίνεται υπό συνθήκες κενού ο ρυθμός ψύξης προσδιορίζεται μόνο από τα στοιχεία που περιέχονται στο πλάσμα χωρίς τη συνεισφορά του περιβάλλοντος αερίου.

Γενικά έχει παρατηρηθεί ότι η ευαισθησία της τεχνικής LIBS αυξάνει κατά ένα παράγοντα 3 έως 5, όταν ο σχηματισμός του πλάσματος λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον αργού. Αυτό συμβαίνει επειδή το αργό παρουσιάζει σχετικά χαμηλό δυναμικό ιοντισμού ($\Delta.I = 15,76 \text{ eV}$) και μεγάλη ενεργό διατομή κρούσης με αποτέλεσμα η αλληλεπίδραση του αργού με το υλικό να είναι πιο αποτελεσματική. Γενικά πλάσμα που δημιουργείται σε περιβάλλον αργού παρουσιάζει υψηλότερη θερμοκρασία και η ηλεκτρονική πυκνότητα.

2.5. Χαρακτηριστικά του πλάσματος

Η περιγραφή του πλάσματος ξεκινά από την προσπάθεια χαρακτηρισμού των ιδιοτήτων του συνόλου των μορίων, ατόμων, ιόντων, ηλεκτρονίων και όχι καθενός ξεχωριστά. Για το χαρακτηρισμό του πλάσματος εξετάζονται κυρίως δύο ποσότητες, η θερμοκρασία και η ηλεκτρονική πυκνότητα.

2.5.1. Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία

Η συνθήκη της τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας προβλέπει ότι υπάρχει μια κατάσταση ισορροπίας σε μια μικρή περιοχή του χώρου (στο πλάσμα) η οποία μπορεί να διαφέρει από αυτή σε μια γειτονική περιοχή. Όταν πληρείται η συνθήκη αυτή μπορούν να προσδιοριστούν οι σχετικοί πληθυσμοί των ατόμων στα διάφορα ενεργειακά επίπεδα και η κατανομή ταχυτήτων των σωματιδίων (κυρίως των ηλεκτρονίων) μέσω της θερμοκρασίας. Η τοπική θερμοδυναμική ισορροπία υφίσταται μετά από έναν αριθμό συγκρούσεων των σωματιδίων του πλάσματος (κυρίως των ηλεκτρονίων με τα υπόλοιπα άτομα/μόρια) που έχει ως αποτέλεσμα την κατανομή της ενέργειας σε όλη την έκταση του πλάσματος. Ακόμα και τότε, δεν είναι όλα τα είδη που περιέχονται στο πλάσμα σε θερμοδυναμική ισορροπία. Είδη διαφορετικού μεγέθους έρχονται μετά από διαφορετικούς χρόνους σε θερμοδυναμική ισορροπία επειδή η ενέργεια κατά τη σύγκρουση των διαφόρων ειδών κατανέμεται

αποτελεσματικότερα όταν αυτά έχουν παραπλήσιες μάζες [43]. Η κατανομή της ταχύτητας των ηλεκτρονίων στο πλάσμα περιγράφεται από την κατανομή ταχυτήτων κατά Maxwell:

$$f_M = (m / 2\pi k_B T)^{3/2} \exp(-mu^2 / 2k_B T) \quad (2.5)$$

όπου m είναι η μάζα του ηλεκτρονίου, u η ταχύτητα, T η θερμοκρασία και k_B η σταθερά Boltzmann. Η κατανομή των του πληθυσμού των ατόμων στα διάφορα ενεργειακά επίπεδα περιγράφεται από την κατανομή Boltzmann:

$$N_k = \frac{g_j e^{-E_k/k_B T}}{U(T)} N, \text{ όπου } U(T) = \sum g_k e^{-E_k/k_B T} \quad (2.6)$$

Η ένταση μιας φασματικής γραμμής (I_λ) σχετίζεται με τον πληθυσμό (N_j) των ατόμων που βρίσκονται στην κατάσταση με ενέργεια E_j μέσω της κατανομής Boltzmann:

$$\lambda I_\lambda = F_{\text{exp}} N \left(\frac{A_{ki} g_k}{U(T)} \right) \exp\left(-\frac{E_k}{k_B T}\right) \quad (2.7)$$

όπου λ είναι το μήκος κύματος της γραμμής εκπομπής, A_{ki} είναι ο συντελεστής Einstein για τη μετάβαση, g_k είναι ο εκφυλισμός της κατάστασης, E_k είναι η ενέργεια του άνω επιπέδου, $U(T)$ είναι η συνάρτηση επιμερισμού, N είναι ο συνολικός πληθυσμός των ειδών που βρίσκονται σε δεδομένη κατάσταση ιοντισμού και T είναι η θερμοκρασία του πλάσματος. Ο παράγοντας F_{exp} είναι μια σταθερά που εξαρτάται από το σύστημα ανίχνευσης και τη γωνία απεικόνισης του πλάσματος.

Η ισορροπία των ατομικών ιόντων ενός στοιχείου με τα ελεύθερα ηλεκτρόνια και τα ουδέτερα άτομα του στοιχείου στο πλάσμα περιγράφεται από την εξίσωση του Saha:

$$\frac{N_e N^z}{N^{z-1}} = \frac{2U^z(T)}{U^{z-1}(T)} \left(\frac{2\pi m_e k_B T}{h^2} \right)^{3/2} e^{-\frac{E_\infty^{z-1} - \Delta E_\infty^{z-1}}{k_B T}} \quad (2.8)$$

όπου E_∞^{z-1} η ενεργεία ιοντισμού του ατόμου, ΔE_∞^{z-1} είναι η διόρθωση της ενέργειας ιοντισμού, $U(T)$ είναι η συνάρτηση επιμερισμού, z είναι ο ατομικός αριθμός του στοιχείου και υποδηλώνει το ουδέτερο άτομο, k_B η σταθερά Boltzmann και T η θερμοκρασία.

2.5.2. Ηλεκτρονική πυκνότητα

Η ηλεκτρονική πυκνότητα του πλάσματος είναι μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους για το χαρακτηρισμό του. Τα ελεύθερα ηλεκτρόνια είναι οι φορείς της ενέργειας προς τα άτομα και τα μόρια που βρίσκονται στο πλάσμα. Η ύπαρξη καταστάσεων τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας μέσα στο πλάσμα γίνεται εφικτή μόνο όταν η μεταφορά ενέργειας μέσω των κρούσεων υπερσχύει της εκπομπής από τα ηλεκτρόνια. Η εξίσωση McWhirter προσδιορίζει την ελάχιστη ηλεκτρονική πυκνότητα που απαιτείται

ώστε η μεταφορά ενέργειας μέσω κρούσεων να είναι 10 φορές πιο γρήγορη από την εκπομπή ακτινοβολίας [46]. Η εξίσωση McWhirter είναι η ακόλουθη:

$$N_e \geq 1,6 \times 10^{12} T^{1/2} (\Delta E)^3 \text{ cm}^{-3} \quad (2.9)$$

όπου N_e η ηλεκτρονιακή πυκνότητα, T η θερμοκρασία και ΔE η ενεργειακή διαφορά των μελετώμενων καταστάσεων. Η τυπική τιμή της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πλάσματος στην οποία βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας είναι $N_e = 10^{15}$ electrons/cm³.

Ο υπολογισμός της ηλεκτρονιακής πυκνότητας επιτυγχάνεται μέσω του προσδιορισμού της διαπλάτυνσης λόγω φαινομένου Stark των ατομικών γραμμών εκπομπής των στοιχείων που περιέχονται στο πλάσμα και εμφανίζονται στο φάσμα LIBS. Η ισχύς του φαινομένου Stark εξαρτάται από την ηλεκτρονιακή πυκνότητα του πλάσματος (βλ. 2.6.3).

2.5.3. Προσδιορισμός της θερμοκρασίας

Για τον προσδιορισμό της θερμοκρασίας του πλάσματος είναι απαραίτητη η ύπαρξη τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας, τότε η ένταση μιας φασματικής γραμμής είναι ανάλογη του πληθυσμού των ατόμων/ιόντων που βρίσκονται στη διεγερμένη κατάσταση και εκτελούν τη μετάβαση [44]. Ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας γίνεται μέσω της μέτρησης των σχετικών εντάσεων των γραμμών εκπομπής που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS. Με λογαρίθμηση της Εξίσωσης 2.7 προκύπτει η Εξίσωση 2.10 μέσω της οποίας γίνεται ο υπολογισμός της θερμοκρασίας του πλάσματος.

$$\ln\left(\frac{\lambda I_\lambda}{A_{ik} g_k}\right) = -\frac{E_k}{T k_B} + \ln\left(\frac{F_{exp} N}{U(t)}\right) \quad (2.10)$$

Η Εξίσωση 2.10 περιγράφει μια ευθεία τύπου $y=ax+b$, όπου $y = \ln(\lambda I_\lambda / A_{ik} g_k)$, $a = -(T k_B)^{-1}$, $x = E_k$ και $b = \ln(F_{exp} N / U(T))$. Ο υπολογισμός της θερμοκρασίας γίνεται μέσω της κατάρτισης του διαγράμματος Boltzmann (x, y) και προσαρμογή ευθείας τύπου $y=ax+b$ στα πειραματικά δεδομένα. Η ακρίβεια της μεθόδου επηρεάζεται από την απόσταση των ενεργειακών επιπέδων (E_k). Όταν είναι γνωστή η αναλογία των στοιχείων στο πλάσμα ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας με τη μέθοδο αυτή είναι εφικτός και με τη χρήση ατομικών γραμμών εκπομπής διαφορετικών στοιχείων [45].

Η μέτρηση της θερμοκρασίας μπορεί να πραγματοποιηθεί λαμβάνοντας υπόψη και τις γραμμές εκπομπής των ατομικών ιόντων που σχηματίζονται στο πλάσμα. Από το συνδυασμό της Εξίσωσης 2.7 με την 2.8 προκύπτει η Εξίσωση 2.11:

$$\lambda I_{\lambda}^{\text{II}} = A_{ki}^{\text{II}} g_k^{\text{II}} e^{-\left(\frac{E_k^{\text{II}}}{k_B T}\right)} 2F_{\text{exp}} \frac{N^{\text{I}} (2\pi m_e k_B T)^{3/2}}{N_e U^{\text{I}}(T) h^3} e^{-\left(\frac{E_{\text{ion}}}{k_B T}\right)} \quad (2.11)$$

Με λογαρίθμιση της Εξίσωσης 2.11 και αναδιάταξη των όρων προκύπτει η Εξίσωση 2.12 μέσω της οποίας γίνεται ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας όπως περιγράφηκε και προηγουμένως.

$$\ln\left(\frac{\lambda I_{\lambda}^{\text{II}}}{A_{ki}^{\text{II}} g_k^{\text{II}}}\right) - \ln\left(2 \frac{(2\pi m_e k_B T)^{3/2}}{N_e h^3}\right) = \ln\left(\frac{F_{\text{exp}} N^{\text{I}}}{U^{\text{I}}(T)}\right) - \left(\frac{E_k^{\text{II}} + E_{\text{ion}}}{k_B T}\right) \quad (2.12)$$

Για να γίνει ο υπολογισμός της θερμοκρασίας αρχικά γίνεται εκτίμηση της θερμοκρασίας του πλάσματος και κατόπιν κατάρτιση του διαγράμματος Saha - Boltzmann. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου η τιμή της θερμοκρασία που χρησιμοποιείται ως σταθερά στο αριστερό μέρος της Εξίσωσης 2.12 να ταιριάζει με την τιμή της θερμοκρασία που υπολογίζεται.

2.6. Προφίλ ατομικών γραμμών εκπομπής

Οι ατομικές γραμμές εκπομπής αντιστοιχούν σε μεταβάσεις μεταξύ δύο καλά καθορισμένων ενεργειακών επιπέδων των ατόμων οπότε αναμένεται το πλάτος τους να είναι απειροστά μικρό. Στην πραγματικότητα οι ατομικές γραμμές ακόμα και όταν εξαλειφθούν όλα τα είδη διαπλάτυνσης δεν εμφανίζονται απειροστά στενές, γεγονός που ερμηνεύεται από τη λύση της χρονοεξαρτημένης εξίσωσης Schrödinger, η οποία δηλώνει ότι δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια η ενέργεια ενός συστήματος που αλλάζει με το χρόνο. Η διαπλάτυνση αυτή ονομάζεται φυσική διαπλάτυνση. Το προφίλ των ατομικών γραμμών εκπομπής στο πλάσμα αλλάζει ανάλογα με τη θερμοκρασία και την ηλεκτρονική πυκνότητα. Τα κυριότερα είδη διαπλάτυνσης των ατομικών γραμμών εκπομπής πέραν της φυσικής διαπλάτυνσης είναι η διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Doppler και η διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark. Μια γραμμή ατομικής εκπομπής που υπόκειται μόνο σε φυσική διαπλάτυνση έχει συμμετρικό προφίλ (Lorentzian).

2.6.1. Φυσική διαπλάτυνση

Η φυσική διαπλάτυνση των γραμμών ατομικής εκπομπής οφείλεται στο γεγονός ότι κάθε ηλεκτρονική κατάσταση έχει ένα πεπερασμένο χρόνο ζωής, σύμφωνα με την αρχή απροσδιοριστίας του Heisenberg ($\Delta E \cdot \Delta t \geq \hbar/2$). Αυτός ο πεπερασμένος χρόνος ζωής της κατάστασης δημιουργεί απροσδιοριστία στην ενέργεια της κατάστασης που έχει ως αποτέλεσμα τη διαπλάτυνση της κορυφής. Δύο είναι οι κύριες διεργασίες στις οποίες

οφείλεται ο πεπερασμένος χρόνος ζωής των καταστάσεων α) ο ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής και β) η αποδιέγερση μέσω κρούσεων [48].

Ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής

Ο ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής είναι ένα σταθερό φυσικό όριο που καθορίζει το χρόνο ζωής της διεγερμένης κατάστασης. Ο ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής είναι σταθερός για μία μετάβαση και καθορίζει το χρόνο ζωής (τ) της κατάστασης.

$$\delta\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)} = \frac{5,31}{\tau \text{ (ps)}} \quad (2.13)$$

Η διαπλάτυνση που προκαλείται αποτελεί το φυσικό εύρος της γραμμής και είναι της τάξης των 10^{-3} nm για επιτρεπτές μεταβάσεις. Η φυσική διαπλάτυνση των ατομικών γραμμών εκπομπής συνήθως δεν παρατηρείται σε ένα τυπικό πείραμα LIBS λόγω της οργανολογίας που χρησιμοποιείται.

Αποδιέγερση με κρούσεις

Εάν ο χρόνος μεταξύ των κρούσεων είναι μικρότερος από το χρόνο ζωής της κατάστασης, η αποδιέγερση συμβαίνει πιο γρήγορα. Άρα, λόγω της αρχής του Heisenberg, αυξάνεται η απροσδιοριστία στην ενέργεια. Ο ρυθμός κρούσεων για ένα ιδανικό αέριο δίνεται από τη σχέση :

$$z \text{ (s}^{-1}\text{)} = \frac{\sqrt{2\sigma u P}}{k_B T} \quad (2.14)$$

όπου σ είναι η ενεργός διατομή κρούση, u η ταχύτητα του σωματιδίου και P η πίεση του αερίου. ο χρόνος μεταξύ των κρούσεων είναι το αντίστροφο του ρυθμού κρούσεων $\tau_c = 1/z$ με αποτέλεσμα η διαπλάτυνση λόγω κρούσεων να υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\delta\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)} = \frac{5,31}{\tau_c \text{ (ps)}} \quad (2.15)$$

2.6.2. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Doppler

Το φαινόμενο Doppler είναι η μεταβολή του μήκους κύματος και της συχνότητας ενός κύματος που αντιλαμβάνεται ένας παρατηρητής όταν η πηγή εκπομπής του βρίσκεται σε σχετική κίνηση ως προς τον παρατηρητή και το αντίθετο. Όπως γνωρίζουμε από την κατανομή ταχυτήτων κατά Maxwell, η κατανομή των ταχυτήτων ενός «υλικού» εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Άρα συμπεράνουμε ότι και το φαινόμενο Doppler εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Η σχέση που εκφράζει αυτήν την εξάρτηση είναι:

$$\delta\lambda = 7,2 \times 10^{-7} \lambda (T/M)^{1/2} \quad (2.16)$$

Όπου $\delta\lambda$ η διαπλάτωση στο ήμισυ του μεγίστου (FWHM), λ το μήκος κύματος της μετάβασης, T η θερμοκρασία και m η μάζα [36].

2.6.3. Διαπλάτωση λόγω φαινομένου Stark

Η παρουσία των ελεύθερων ηλεκτρονίων και ατομικών ιόντων στο πλάσμα δημιουργεί αλληλεπιδράσεις με τα ηλεκτρόνια του ατόμου που εκπέμπει διαταράσσοντας τα ενεργειακά του επίπεδα. Η διαταραχή αυτή οφείλεται κυρίως στο ηλεκτρικό πεδίο των ηλεκτρονίων και σε μικρότερο βαθμό στο ηλεκτρικό πεδίο των ιόντων. Το γραμμικό φαινόμενο Stark ($\sim E$) ισχύει μόνο για το άτομο του υδρογόνου, ενώ για τα υπόλοιπα άτομα ισχύει το αντίστοιχο τετραγωνικό φαινόμενο ($\sim E^2$ και $\sim 1/2r^4$). Το προφίλ μιας γραμμής που υφίσταται διαπλάτωση Stark είναι Lorentzian, και το εύρος της γραμμής στο μισό του μεγίστου δίνεται από τη σχέση:

$$\Delta\lambda_{\text{stark}} = 2W \left(\frac{N_e}{10^{16}} \right) + 3,5A \left(\frac{N_e}{10^{16}} \right)^{1/4} \times \left(1 - \frac{3}{4} N_D^{-1/3} \right) W \left(\frac{N_e}{10^{16}} \right) A^\circ \quad (2.17)$$

όπου W είναι η ηλεκτρονική παράμετρος της κρούσης, της οποίας οι τιμές εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, N_e είναι η ηλεκτρονιακή πυκνότητα, A είναι η παράμετρος ιοντικής διαπλάτωσης και N_D είναι ο αριθμός σωματιδίων στην σφαίρα Debye και δίνεται από τη σχέση, όπου T είναι η θερμοκρασία:

$$N_D = 1,72 \times 10^9 \frac{T^{3/2}}{N_e^{1/2}} \quad (2.18)$$

Ο πρώτος όρος της εξίσωσης (2.17) εκφράζει τη διαπλάτωση που οφείλεται στην ηλεκτρονιακή συνεισφορά ενώ ο δεύτερος όρος περιγράφει τη διαπλάτωση που οφείλεται στη συνεισφορά των ιόντων. Για μη υδρογονοειδή άτομα η διαπλάτωση Stark οφείλεται κυρίως στις κρούσεις με ηλεκτρόνια. Εάν κρατήσουμε μόνο τον πρώτο όρο της εξίσωσης, δηλαδή τη συνεισφορά των ηλεκτρονίων, η διαπλάτωση λόγω φαινομένου Stark στο εύρος της γραμμής στο μισό του μεγίστου υπολογίζεται από την εξίσωση (2.19):

$$\Delta\lambda_{FWHM} = 2W \left(\frac{N_e}{10^{16}} \right) \quad (2.19)$$

Το φαινόμενο Stark αποτελεί τον κύριο μηχανισμό διαπλάτωσης των ατομικών γραμμών εκπομπής που εμφανίζονται σε ένα τυπικό φάσμα LIBS λόγω της υψηλής ηλεκτρονιακής πυκνότητας ($N_e \sim 10^{17} \text{ el/cm}^3$) του πλάσματος. Στον Πίνακα 2.3 παρουσιάζεται η επίδραση του φαινομένου Doppler και η επίδραση του φαινομένου Stark στο πλάτος μιας ατομικής γραμμής εκπομπής μετρούμενο στο FWHM για σταθερή θερμοκρασία και

ηλεκτρονιακή πυκνότητα. Παρατηρείται ότι η ισχύς του φαινομένου Stark στο εύρος μια ατομικής γραμμής εκπομπής είναι περίπου 10 φορές πιο έντονη από την ισχύ του φαινομένου Doppler.

Πίνακας 2.3. Σύγκριση της διαπλάτυνσης των ατομικών γραμμών εκπομπής στο FWHM λόγω φαινομένου Doppler με τη διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark για διάφορα στοιχεία σε θερμοκρασία $T=10000\text{K}$ και ηλεκτρονιακή πυκνότητα $N_e=10^{17}\text{ e/cm}^2$ [36].

Στοιχείο	Μήκος κύματος (nm)	Μάζα (amu)	Διαπλάτυνση Doppler (nm)	Διαπλάτυνση Stark (nm)
H*	656,285	1	0,047	0,4440
He	587,5	4	0,021	0,3400
Na	589,2	23	0,009	0,0314
K	766,5	39,1	0,009	0,0830
Mg	285,2	24	0,004	0,0082
Ca	422,673	40	0,005	0,0126

* $T=11000\text{ K}$

Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες γραμμές στον προσδιορισμό της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πλάσματος, όταν σε αυτό περιέχονται άτομα υδρογόνου, είναι οι γραμμές εκπομπής της σειράς Balmer, κυρίως η γραμμή στα 656,285 nm (H_α) και η γραμμή στα 486,133 nm (H_β).

2.7. Η φασματοσκοπία LIBS ως αναλυτική τεχνική

Η φασματοσκοπία LIBS παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση ενός δείγματος το οποίο μπορεί να βρίσκεται σε οποιαδήποτε κατάσταση της ύλης. Οι πληροφορίες παρέχονται από ένα μικροπλάσμα το οποίο δημιουργείται στην επιφάνεια του υλικού στόχου. Η τεχνική πλεονεκτεί σημαντικά έναντι των συνηθισμένων τεχνικών όπως η φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS) επειδή δεν απαιτεί καμία προ-επεξεργασία του δείγματος παρά μόνο οπτική επαφή με αυτό. Η στοιχειακή σύσταση προσδιορίζεται σε ένα συγκεκριμένο σημείο του υλικού διαμέτρου μερικών μικρομέτρων, επιτρέποντας τη διεξαγωγή χωρικής και διαστρωματικής ανάλυσης. Η εξαγωγή του αποτελέσματος των μετρήσεων είναι άμεση, όπου σε συνδυασμό με την υψηλή ευαισθησία και τη δυνατότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης με διευρύνει τα πεδία εφαρμογής. Η πειραματική διάταξη και η οργανολογία που χρησιμοποιείται είναι σχετικά απλή επιτρέποντας την κατασκευή φορητών οργάνων, χωρίς να επηρεάζεται σημαντικά η ευαισθησία της τεχνικής. Η τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε παντός τύπου συνθήκες, σε οποιοδήποτε περιβάλλον, από το βυθό της θάλασσας έως σε κάποιο άλλο πλανήτη [3]. Η

τεχνική βρίσκει εφαρμογές στην ποιοτική και ποσοτική στοιχειακή ανάλυση σε παντός τύπου υλικά ευρισκόμενα σε οποιαδήποτε κατάσταση της ύλης.

2.7.1. Ποιοτική ανάλυση

Η ποιοτική ανάλυση αναφέρεται στον προσδιορισμό της στοιχειακής σύστασης του μελετώμενου δείγματος. Ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης γίνεται μέσω της ταυτοποίησης των ατομικών γραμμών που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS του δείγματος. Κάθε στοιχείο εμφανίζει γραμμές εκπομπής σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Οι γραμμές αυτές αποτελούν το δακτυλικό αποτύπωμα του στοιχείου. Η ταυτοποίηση των γραμμών που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS γίνεται μέσω της σύγκρισης των γραμμών που εμφανίζονται στο φάσμα με τις γραμμές εκπομπής κάθε στοιχείου. Η διαδικασία αυτή γίνεται μέσω της χρήσης των κατάλληλων βάσεων δεδομένων στις οποίες περιέχονται όλες οι ατομικές γραμμές εκπομπής των στοιχείων του περιοδικού πίνακα. Η διαδικασία ταυτοποίησης είναι αρκετά πολύπλοκη και χρονοβόρα, αλλά μπορεί να επιταχυνθεί όταν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με το είδος του δείγματος.

2.7.2. Ποσοτική ανάλυση

Η ποσοτική ανάλυση με την τεχνική LIBS πραγματοποιείται μελετώντας την ένταση των γραμμών εκπομπής. Η ένταση μιας φασματικής γραμμής σύμφωνα με την κατανομή Boltzmann εξαρτάται από τον πληθυσμό των ατόμων στη διεγερμένη κατάσταση. Ο πληθυσμός των ατόμων εξαρτάται από τη θερμοκρασία του πλάσματος και την ενέργεια της κατάστασης. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την αξιοπιστία μιας μέτρησης σχετίζονται με το δείγμα και τις πειραματικές συνθήκες. Για να γίνει ποσοτική ανάλυση θα πρέπει να τηρούνται τρεις προϋποθέσεις: α) να υπάρχει τοπική θερμοδυναμική ισορροπία, β) η αποδόμηση του υλικού να αντιστοιχεί στην στοιχειομετρία του δείγματος και γ) το δημιουργούμενο πλάσμα να είναι οπτικά λεπτό.

Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία

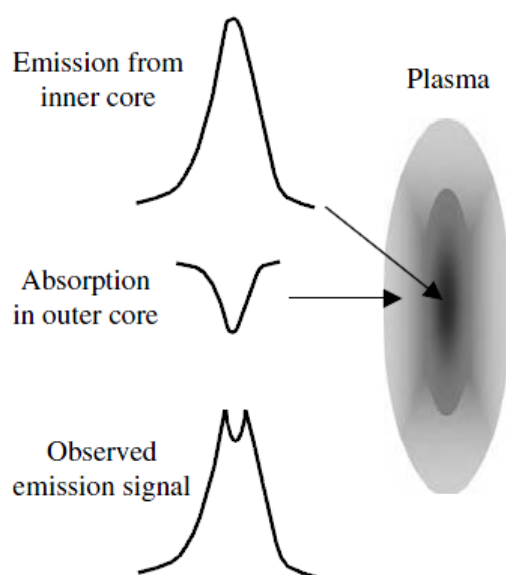
Ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει την ένταση των γραμμών εκπομπής είναι η θερμοκρασία. Η συνθήκη της τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας υποδηλώνει ότι στο σύστημα η θερμοκρασία πρέπει να είναι ίδια. Η θερμοκρασία μπορεί να προσδιοριστεί μέσω της κατανομής Planck στο συνεχές, από την εξίσωση Boltzmann, από την κατανομή Maxwell και από το νόμο του Saha. Η ύπαρξη της θερμοδυναμικής ισορροπίας υποδηλώνει ότι όλες οι διαδικασίες που συντελούνται στο πλάσμα βρίσκονται σε ισορροπία. Οι εντάσεις των γραμμών είναι αντιπροσωπευτικές του πληθυσμού της διεγερμένης κατάστασης όπως απορρέει από την κατανομή Boltzmann.

Στοιχειομετρική αποδόμηση του υλικού

Με τον όρο στοιχειομετρική αποδόμηση εννοείται ότι η στοιχειακή σύσταση του πλάσματος είναι ίδια με αυτήν του αναλυόμενου δείγματος. Σύμφωνα με μελέτη των Chan και Russo, η αποδόμηση με λέιζερ είναι στοιχειομετρική, αν η πυκνότητα ισχύος στο στόχο υπερβεί τα 10^9 W/cm^2 , πυκνότητα που συνήθως επιτυγχάνεται σε ένα πείραμα LIBS [49].

Οπτικά λεπτό πλάσμα

Είναι σημαντικό όταν γίνεται ποσοτική ανάλυση με την τεχνική LIBS να υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης μιας φασματικής γραμμής και της πυκνότητας του είδους από το οποίο εκπέμπεται. Σε τυπικές πειραματικές συνθήκες μερικές γραμμές (κυρίως μεταξύ μεταβάσεων που καταλήγουν στο θεμελιώδες επίπεδο) υπόκεινται σε αυτοαπορρόφηση με αποτέλεσμα να εμφανίζεται μη γραμμική συμπεριφορά. Η αυτοαπορρόφηση είναι ένα φαινόμενο στο οποίο η ακτινοβολία που εκπέμπεται από το εσωτερικό του πλάσματος επαναπορροφάται από τα άτομα που βρίσκονται στη θεμελιώδη κατάσταση στο εξωτερικό του πλάσματος. Στην εικόνα 2.3 παρουσιάζεται σχηματικά η διαδικασία της αυτοαπορρόφησης.

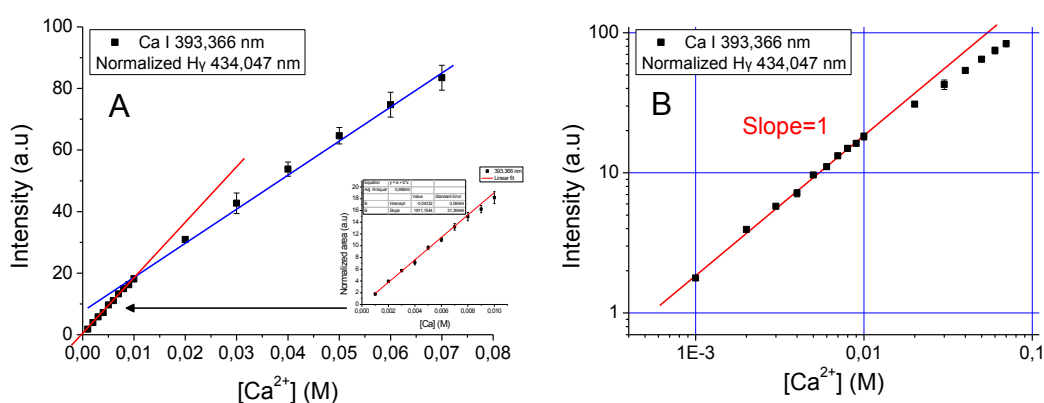


Εικόνα 2.3. Προφίλ εκπομπής από τον εσωτερικό πυρήνα του πλάσματος και απορρόφησης από τον εξωτερικό πυρήνα του πλάσματος[36].

Η διεργασία της αυτοαπορρόφησης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση στην ένταση των φασματικών γραμμών. Όταν το μονοπάτι που διανύει το εκπεμπόμενο φωτόνιο είναι μακρύ αυξάνεται η πιθανότητα να επαναπορροφηθεί από άτομα του ίδιου είδους μέσω της αντίστροφης μετάβασης. Ο όρος οπτικά λεπτό πλάσμα χρησιμοποιείται για να δηλώσει ότι αυτό το μονοπάτι είναι σχετικά σύντομο ή ότι η συγκέντρωση των ατόμων είναι σχετικά χαμηλή οπότε το φαινόμενο της αυτοαπορρόφησης είναι περιορισμένο.

2.7.3. Μέθοδος καμπύλης αναφοράς

Η καμπύλη αναφοράς είναι η συνάρτηση που συσχετίζει την ένταση του μετρούμενου σήματος του αναλύτη με τη συγκέντρωσή του στο δείγμα. Στην ιδανική καμπύλη αναφοράς το μετρούμενο σήμα (I_{meas}) είναι ευθέως ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη (C_{an}) δηλαδή $I_{meas} \sim C_{an}$. Η μαθηματική καμπύλη που περιγράφει την αναλογία αυτή είναι η ευθεία $y=ax$, όπου a η σταθερά αναλογίας. Η τιμή του a μετρά την κλίση της ευθείας, η οποία είναι δείκτης της ευαισθησίας. Η καμπύλη αναφοράς καταρτίζεται με τη βοήθεια πρότυπων δειγμάτων στα οποία μετράται η ένταση ή το εμβαδόν μιας γραμμής του αναλύτη στο φάσμα. Στην ιδανική περίπτωση η ένταση της εκπομπής ακολουθεί την αναλογία σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων, ενώ στην πραγματικότητα μια καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά σε ένα συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων. Η απόκλιση από την ιδανική συμπεριφορά οφείλεται κυρίως στο φαινόμενο της αυτοαπορρόφησης.

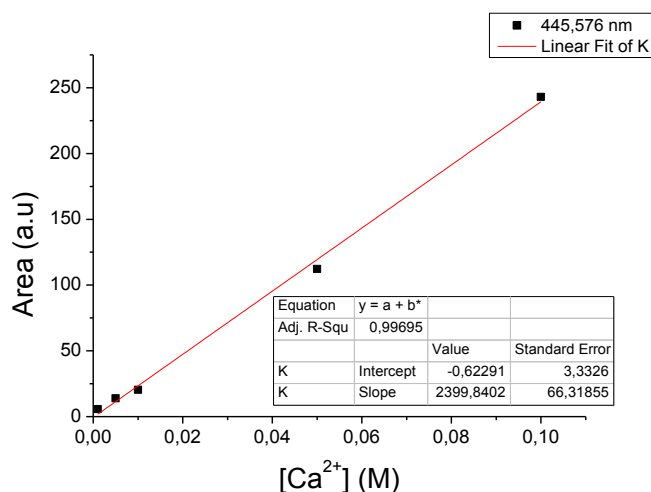


Σχήμα 2.3. Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου σε υδατικό διάλυμα με βάση την γραμμική εκπομπής των ατομικών ιόντων ασβεστίου στα 393,366 nm, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Η καμπύλη αναφοράς κατασκευάστηκε με απ ευθείας μέτρηση των διαλυμάτων στην υγρή φάση. Για τη δημιουργία του πλάσματος χρησιμοποιήθηκε η τέταρτη αρμονική του Nd:YAG $\lambda = 266$ nm.

Η γραμμική συμπεριφορά μιας καμπύλης αναφοράς διερευνάται από το διάγραμμα του λογάριθμου του μετρούμενου σήματος (y) ως προς το λογάριθμο της συγκέντρωσης του αναλύτη (x). Έστω ότι η καμπύλη αναφοράς περιγράφεται από την εξίσωση $y=ax$, ο λογάριθμος της εξίσωσης έχει τη μορφή $\log(y)=\log(x)+\log(a)$, όπου και πάλι περιγράφει μία ευθεία γραμμή με κλίση 1 στη λογαριθμική κλίμακα.

Παρατηρείται ότι η καμπύλη αναφοράς που παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.3 δεν ακολουθεί την ιδανική συμπεριφορά στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων. Η απόκλιση εμφανίζεται σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 0,01 M και οφείλεται στο φαινόμενο της αυτοαπορρόφησης. Η γραμμή που επιλέχθηκε για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς

είναι γραμμή συντονισμού των ατομικών ιόντων του ασβεστίου (βλ. Πίνακα 2.1) με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα αυτοαπορρόφησης. Στο Σχήμα 2.4 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς στο ίδιο εύρος συγκεντρώσεων με βάση την γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων ασβεστίου στα 445,576 nm ($4s^14d^1(^3D) \rightarrow 4s^14p^1(^3P)$). Η γραμμή αυτή περιγράφει τη μετάβαση των ουδετέρων ατόμων ασβεστίου μεταξύ δύο διεγερμένων καταστάσεων στις οποίες ο πληθυσμός είναι σημαντικά χαμηλότερος ($N_{\delta_{IEY}} < 1\% N$) με αποτέλεσμα να μην υπάρχει αυτοαπορρόφηση.



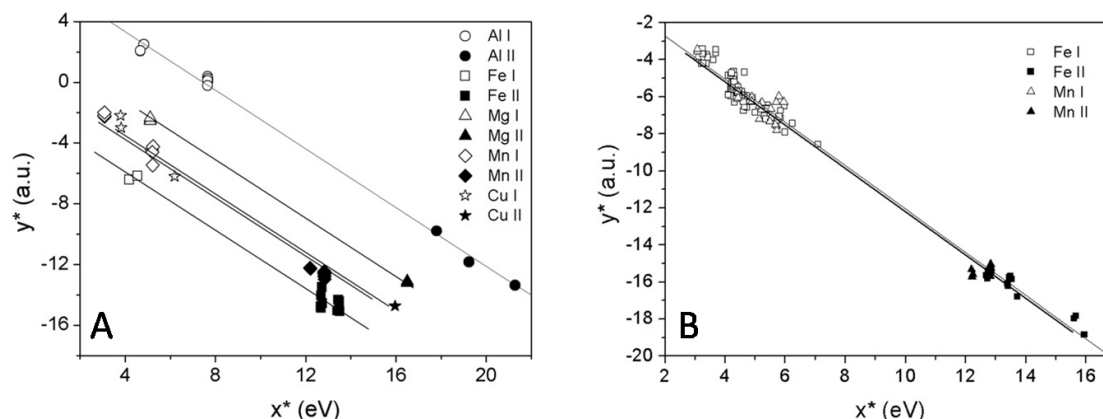
Σχήμα 2.4. Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου με βάση της γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων ασβεστίου στα 445,576 nm.

Η επιλογή της κατάλληλης γραμμής για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς είναι πολύ σημαντική και καθορίζεται από το εύρος των συγκεντρώσεων που πρόκειται να μελετηθούν. Η χρήση των γραμμών συντονισμού για την κατασκευή καμπύλης αναφοράς είναι αξιόπιστη όταν η συγκέντρωση του αναλύτη είναι χαμηλή και δεν είναι εφικτή η παρατήρηση των υπολοίπων γραμμών εκπομπής.

2.7.4. Μέθοδος Calibration – free

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μέτρηση του ολικού πληθυσμού N των ατόμων κάθε στοιχείου στο πλάσμα. Ο υπολογισμός είναι εφικτός μόνο όταν πληρείται η συνθήκη της τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας, το πλάσμα είναι ομοιογενές και οπτικά λεπτό και η στοιχειομετρία στο πλάσμα είναι όμοια με αυτή του δείγματος. Επίσης θα πρέπει το σύστημα ανίχνευσης να είναι σε θέση να ανιχνεύσει το σύνολο των γραμμών εκπομπής κάθε στοιχείου. Οι υποθέσεις που γίνονται είναι αρκετά αυστηρές προσεγγίσεις οι οποίες σε πολλές περιπτώσεις αδυνατούν να περιγράψουν τις πραγματικές συνθήκες του πλάσματος. Το πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής έναντι της μεθόδου κατασκευής καμπύλων αναφοράς είναι ότι απαιτεί λιγότερο χρόνο [50, 51].

Το πρώτο στάδιο του υπολογισμού περιλαμβάνει τη μέτρηση της θερμοκρασίας στο πλάσμα. Στο σχήμα 2.5 παρουσιάζονται τυπικά διαγράμματα Saha-Boltzmann μέσω των οποίων γίνεται ο υπολογισμός της θερμοκρασίας (βλ. 2.5.3) σε πλάσμα που δημιουργείται σε μεταλλικά δείγματα. Όταν στο πλάσμα περιέχονται άτομα από διαφορετικά στοιχεία στο διάγραμμα Saha-Boltzmann εμφανίζεται μια ευθεία γραμμή για κάθε στοιχείο, οι ευθείες είναι παράλληλες μεταξύ τους λόγω της κοινής θερμοκρασίας [52].



Σχήμα 2.5. Διαγράμματα Saha-Boltzmann με βάση τα οποία γίνεται ο υπολογισμός της θερμοκρασίας, το α) αναφέρεται σε κράμα αλουμινίου και το β) σε κράμα σιδήρου-μαγγανίου [52]. Ο άξονας x στα διαγράμματα αναφέρεται στην ενέργεια της διεγερμένης κατάστασης ενώ ο άξονας y περιγράφει το λογάριθμο της εξίσωσης 2.10 ή 2.11.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης γίνεται μέσω της κατανομής Boltzmann εφόσον είναι γνωστή η θερμοκρασία του πλάσματος. Ο συνολικός πληθυσμός των ατόμων στο πλάσμα (N) είναι το άθροισμα των ουδετέρων ατόμων και των απλά φορτισμένων ατομικών ιόντων.

$$N = N^I + N^{II} \quad (2.20)$$

Στο πλάσμα που χρησιμοποιείται στην τεχνική LIBS περιέχονται κυρίως ουδέτερα και απλά φορτισμένα άτομα. Ο υπολογισμός του N γίνεται μέσω της σταθεράς της ευθείας στο διάγραμμα Saha-Boltzmann (Εξίσωση 2.12). Επειδή για κάθε στοιχείο υπολογίζεται ένα διαφορετικό N γίνεται η θεώρηση ότι ο συνολικός πληθυσμός των ατόμων όλων των στοιχείων στο πλάσμα ισούται με τη μονάδα..

$$N_{\text{πλάσμα}} = \sum_{i=1} N_i = 1 \quad (2.21)$$

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον απευθείας προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αναλύτη στο πλάσμα χωρίς τη χρήση καμπύλων αναφοράς.

2.7.5. Όριο ανίχνευσης

Όριο ανίχνευσης είναι η μικρότερη ποσότητα ουσίας που κατά τη μέτρησή της δίνει σήμα διαφορετικό από το τυφλό με λογική βεβαιότητα για μια αναλυτική διαδικασία. Θεωρώντας ότι Y_{LD} είναι το ελάχιστο ανιχνεύσιμο σήμα, η τιμή του ορίζεται ως:

$$Y_{LD} = Y_{\text{τυφλό}} + k\sigma \quad (2.22)$$

όπου $Y_{\text{λευκού}}$ το σήμα που ανιχνεύεται στο λευκό, σ η τυπική απόκλιση της μέτρησης του λευκού και k μια σταθερά που καθορίζει το όριο εμπιστοσύνης, η τυπική τιμή του οποίου είναι $k=3$ για όριο εμπιστοσύνης 99 %. Το σήμα που ανιχνεύεται στο τυφλό έχει συνήθως την τιμή μηδέν. Από την καμπύλη αναφοράς έχουμε ότι:

$$Y - Y_{\text{τυφλό}} = \alpha C \quad (2.23)$$

όπου Y το σήμα που ανιχνεύεται κατά τη μέτρηση του δείγματος, α η κλίση της καμπύλης αναφοράς και C η συγκέντρωση του δείγματος. Αντικαθιστώντας την εξίσωση 2.10 στην 2.11 για $k=3$ έχουμε:

$$3\sigma = \alpha C \quad (2.24)$$

Το όριο ανίχνευσης που αντιπροσωπεύει την ελάχιστη συγκέντρωση (C_L) που μπορεί να μετρηθεί είναι:

$$C_L = \frac{3\sigma}{\alpha} \quad (2.25)$$

Με βάση τον τρόπο που ορίστηκε το όριο ανίχνευσης μπορεί να οριστεί και το όριο ποσοτικοποίησης, στο οποίο το διάστημα εμπιστοσύνης είναι πιο αυστηρό και λαμβάνεται για $k=10$ [53].

ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ

Η φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, MS) είναι μία αναλυτική μέθοδος η οποία επιτρέπει τη μελέτη της μάζας ατόμων, μορίων ή μοριακών θραυσμάτων. Η τεχνική αυτή βασίζεται στον ιοντισμό των ατόμων ή μορίων και το διαχωρισμό τους με βάση το λόγο της μάζας προς το φορτίο (m/z). Για τη λήψη ενός φάσματος μάζας απαραίτητη προϋπόθεση είναι η μεταφορά του αναλύτη στην αέρια φάση, όπου γίνεται ο ιοντισμός του. Τα ιόντα που παράγονται επιταχύνονται μέσω κατάλληλου ηλεκτρικού πεδίου και κατόπιν διαχωρίζονται με βάση το λόγο m/z . Οι πληροφορίες παρέχονται από την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού ρεύματος που αντιστοιχεί σε κάθε λόγο m/z . Η φασματομετρία μάζας είναι μια πολύ ευαίσθητη τεχνική που παρέχει πληροφορίες σχετικά με:

- ✓ τη στοιχειακή σύσταση του δείγματος

- ✓ την αναλογία ισοτόπων στοιχείων
- ✓ τη δομή ανόργανων, οργανικών, οργανο-μεταλλικών και βιολογικών μορίων
- ✓ την ποιοτική και ποσοτική σύσταση μιγμάτων.

Η φασματομετρία μάζας είναι μία από τις πιο σημαντικές ευρείας κλίμακας αναλυτικές τεχνικές. Η αποτελεσματικότητα της φασματομετρίας μάζας οφείλεται στο μοναδικό συνδυασμό υψηλής ευαισθησίας, εκλεκτικότητας και ταχύτητας. Ένα φασματόμετρο μάζας αποτελείται από την πηγή ιοντισμού, τον αναλύτη μαζών και το σύστημα καταγραφής.

Το βασικό μειονέκτημα της τεχνικής είναι η πολυπλοκότητα των χρησιμοποιούμενων τεχνικών ιοντισμού και των συστημάτων ανίχνευσης, τα οποία απαιτούν συνθήκες υψηλού κενού, εκτεταμένη επεξεργασία του δείγματος. Η αυξημένη πολυπλοκότητα της τεχνικής μειώνει το εύρος εφαρμογών της επειδή απαιτείται άρτια εκπαιδευμένο προσωπικό για τη χρήση των συστημάτων φασματομετρίας μάζας.

2.8. Πηγές ιοντισμού

Η πηγή ιοντισμού είναι από τα σημαντικότερα τμήματα του φασματόμετρου μάζας, καθώς είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία των ατομικών ή μοριακών ιόντων. Για τη δημιουργία ατομικών ιόντων ως πηγή ιοντισμού χρησιμοποιείται το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (Inductively Coupled Plasma, ICP) αργού. Οι πηγές μοριακού ιοντισμού μπορούν να ταξινομηθούν σε δύο κατηγορίες τις μαλακές και τις σκληρές. Στις μαλακές πηγές ιοντισμού τα μόρια του αναλύτη υφίστανται μικρή θραυσματοποίηση, με αποτέλεσμα η κυρίαρχη κορυφή στο διάγραμμα μάζας να αντιπροσωπεύει το μοριακό ιόν του αναλύτη. Στις σκληρές πηγές ιοντισμού τα μόρια του αναλύτη υφίστανται υψηλή θραυσματοποίηση, με αποτέλεσμα στο διάγραμμα μάζας να εμφανίζονται οι γραμμές των θραυσμάτων ενώ η γραμμή του μοριακού ιόντος συνήθως απουσιάζει. Η βασική κορυφή στο φάσμα μάζας σε αυτή την περίπτωση αντιπροσωπεύει το σταθερότερο από τα θραύσματα που σχηματίζονται κατά τη διάσπαση του μοριακού ιόντος. Όταν απαιτείται ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης ή του λόγου των ισοτόπων ενός στοιχείου, ως πηγή ατομοποίησης και ιοντισμού χρησιμοποιείται ICP.

Υπερηχητικός Ιοντισμός

Η τεχνική αυτή ανακαλύφθηκε το 1994 από τον Atsumu Hirabayasi [54] και τους συνεργάτες του, και προτάθηκε ως μια νέα τεχνική εκνέφωσης υδατικών διαλυμάτων κατάλληλη για εφαρμογές φασματομετρίας μάζας. Ονομάστηκε Ιοντισμός Υπερηχητικής Εκνέφωσης (Sonic Spray Ionization, SSI), επειδή για την εκνέφωση των διαλυμάτων

χρησιμοποιείται φέρον αέριο του οποίου η ταχύτητα υπερβαίνει την ταχύτητα του ήχου οπότε και παρατηρείται ιοντισμός στα μόρια του αναλύτη.

Το μέγεθος των σταγονιδίων που σχηματίζονται από τη χρήση της πηγής SSI μεταβάλλεται μετά το στάδιο δημιουργίας τους [55]. Τα σταγονίδια αλληλεπιδρούν με το φέρον αέριο με αποτέλεσμα να προκαλείται αεροδυναμική σχάση τους. Τα μόρια ή άτομα του αερίου κινούνται ταχύτερα από τα σταγονίδια. Η αλληλεπίδραση των σταγονιδίων με το φέρον αέριο οδηγεί σε επιτάχυνση των σταγονιδίων. Όταν η διαφορά των ταχυτήτων είναι μεγάλη τότε προκαλείται αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων. Η πιθανότητα της αεροδυναμικής σχάσης υπολογίζεται με βάση τον αριθμό Weber (W_e):

$$W_e = \frac{\rho_G v^2 d}{\sigma} \quad (2.26)$$

Όπου ρ_G είναι η πυκνότητα του αερίου, v η ταχύτητα του αερίου, d η διάμετρος της σταγόνας και σ η επιφανειακή τάση της σταγόνας. Η αεροδυναμική σχάση ευνοείται όταν η τιμή του αριθμού Weber είναι μεγαλύτερη του 10. Κατά την είσοδο του φέροντος αερίου και των σταγονιδίων στο φασματόμετρο μάζας, και πιο συγκεκριμένα στην περιοχή ενδιάμεσης πίεσης, γίνεται επιτάχυνση των ατόμων ή μορίων του φέροντος αερίου λόγω της πτώσης πίεσης η οποία γίνεται πιο έντονη κατά τη μετάβαση στην περιοχή υψηλού κενού (10^{-5} torr). Η ταχύτητα των ατόμων ή μορίων του φέροντος αερίου στην είσοδο της ενδιάμεσης στήλης αγγίζει τα 170 m/s ενώ κατά την είσοδό τους στην περιοχή υψηλού κενού αγγίζει τα 320 m/s. Η τιμή του αριθμού Weber υπερβαίνει το 10 σε όλη τη διάρκεια της διαδρομής προκαλώντας αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων, με αποτέλεσμα να παράγονται σταγονίδια διαμέτρου 2-3 μm , ανεξάρτητα από το μέγεθος της αρχικής σταγόνας. Ο αριθμός Weber είναι καθοριστικός για το μηχανισμό μέσω του οποίου θα πραγματοποιηθεί η αεροδυναμική σχάση. Ο μηχανισμός δημιουργίας των μοριακών ιόντων δεν έχει πλήρως διασαφηνιστεί με το επικρατέστερο μοντέλο να είναι αυτό της στατικής φόρτισης [56].

Στο ακροφύσιο του εκνεφωτή δημιουργείται μια διαφορά πίεσης λόγω φαινομένου Venturi, από το οποίο πήρε το όνομά της η τεχνική VEASI (Venturi Easy Ambient Sonic-spray Ionization). Η δημιουργούμενη διαφορά πίεσης χρησιμοποιείται για την αναρρόφηση του διαλύματος το οποίο μετατρέπεται σε ένα λεπτό αερόλυμα, το οποίο παρουσιάζει ανομοιομορφία ως προς την κατανομή του φορτίου του, δημιουργώντας ένα σύννεφο από θετικά και αρνητικά φορτισμένα σταγονίδια. Στα σταγονίδια αυτά πραγματοποιείται εκρόφηση και ιοντισμός των μορίων του αναλύτη παράγοντας θετικά και αρνητικά φορτισμένα μοριακά ιόντα. Η ενέργεια που μεταφέρεται στα μόρια από τη ροή του

φέροντος αερίου είναι ανίκανη να προκαλέσει διάσπαση των μοριακών ιόντων. Στο φάσμα μάζας παρατηρούνται οι κορυφές των θετικά και αρνητικά φορτισμένων μοριακών ιόντων.

2.9. Αναλυτές μαζών

Ο αναλυτής μαζών είναι το σημαντικότερο τμήμα του φασματομέτρου μάζας καθώς εκεί γίνεται ο διαχωρισμός των ιόντων με βάση το λόγο μάζας προς φορτίο. Ο διαχωρισμός των ιόντων γίνεται είτε μέσω της εφαρμογής μαγνητικού πεδίου, η φορά του οποίου είναι κάθετη στη φορά κίνησης των ιόντων, είτε μέσω της εφαρμογής τετραπολικών πεδίων σε αναλυτές μάζας τετραπόλου ή ιοντικής παγίδας. Η αρχή του διαχωρισμού βασίζεται στη διαφορετική τροχιά που ακολουθούν τα ιόντα με διαφορετικό m/z .

2.10. Φασματομετρία μάζας υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI-MS)

Τα πλεονεκτήματα της πηγής SSI έναντι των υπολοίπων πηγών που χρησιμοποιούνται στη φασματομετρία μάζας οφείλονται στο φέρον αέριο. Το φέρον αέριο στην τεχνική αυτή διαδραματίζει δύο πολύ σημαντικούς ρόλους. Πρώτον, είναι υπεύθυνο για την αναρρόφηση του διαλύματος λόγω του φαινομένου Venturi και δεύτερον, είναι υπεύθυνο για τον ιοντισμό των μορίων του αναλύτη λόγω του φαινομένου SSI [27]. Η φασματομετρία μάζας με πηγή V-EASI παρουσιάζει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα:

- δεν απαιτείται η χρήση αντλιών για την εισαγωγή του δείγματος
- δεν απαιτείται η χρήση υψηλών δυναμικών η θερμοκρασίας για τη δημιουργία των μοριακών ιόντων
- δεν απαιτούνται συνθήκες κενού αλλά ατμοσφαιρικές συνθήκες
- γίνεται ταυτόχρονη παραγωγή θετικών και αρνητικών ιόντων
- ο λόγος σήματος προς θόρυβο είναι υψηλότερος
- η θραυσματοποίηση είναι ήπια
- δεν ευνοείται ο σχηματισμός διμερών των μοριακών ιόντων
- υψηλή ευαισθησία.

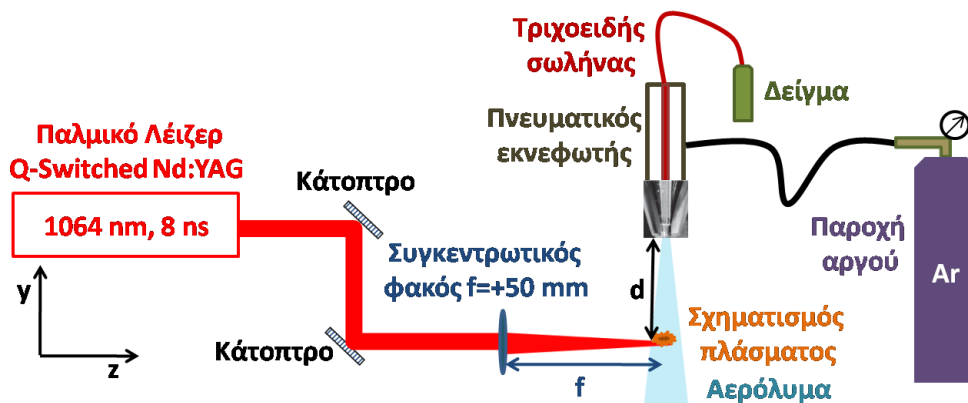
Η τεχνική αυτή έλκει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας λόγω της ευελιξίας που παρέχει αλλά και της ποικιλίας εφαρμογών που βρίσκει στην ανάλυση υγρών και στερεών δειγμάτων. Επίσης, η απόδοση της τεχνικής στη μελέτη βιομορίων είναι εξαιρετική επειδή επιτρέπει την απευθείας ανάλυση βιομορίων (πρωτεΐνες, πεπτίδια) σε καθαρό νερό αλλά και στο φυσιολογικό τους περιβάλλον.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

3.1. Πειραματική διάταξη LIBS

Η διεξαγωγή ενός πειράματος LIBS με σκοπό τον προσδιορισμό μεταλλοϊόντων σε υδατικά διαλύματα απαιτεί τη δημιουργία πλάσματος σε περιβάλλον σταγονιδίων αερολύματος, τα οποία σχηματίζονται κατά την πνευματική εκνέφωση του διαλύματος, και την καταγραφή και φασματική ανάλυση της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Η ένταση της εκπομπής χαρακτηριστικών κορυφών ατομικών μεταβάσεων στο καταγραφόμενο φάσμα είναι ανάλογη της αριθμητικής πυκνότητας των ατόμων του μετάλλου στο πλάσμα και συνδέεται με τη συγκέντρωση του μεταλλοϊόντος στο αναλυόμενο υδατικό διάλυμα. Ποσοτική ανάλυση είναι εφικτή με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Σχηματικό διάγραμμα της πειραματικής διάταξης LIBS, που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, για την ανάλυση αερολυμάτων παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.1.

Για τη δημιουργία πλάσματος χρησιμοποιείται παλμικό λέιζερ (Q-Switched) Nd:YAG που εκπέμπει στα 1064 nm παλμούς χρονοδιάρκειας $\tau_p = 8$ ns (βλ. 3.2.2). Η εστίαση του παλμού λέιζερ στην περιοχή του αερολύματος γίνεται μέσω ενός συγκλίνοντα φακού εστιακής απόστασης $f = +50$ mm.

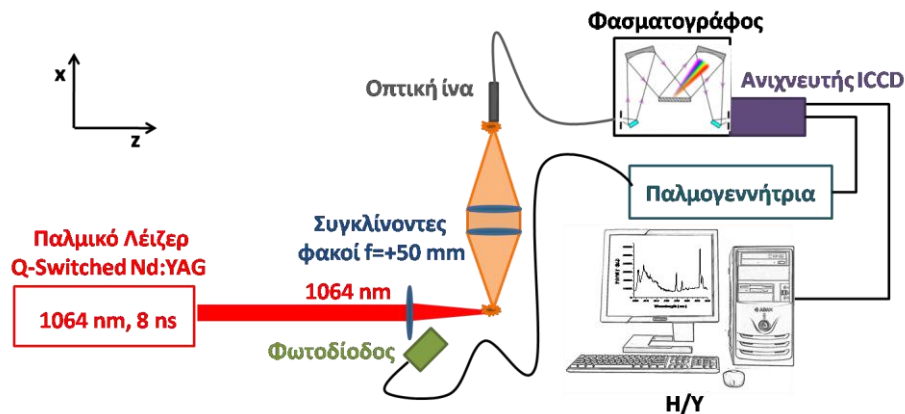


Εικόνα 3.1. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης LIBS (επίπεδο zy).

Ο σχηματισμός πλάσματος είναι εφικτός όταν η ροή οπτικής ισχύος στην περιοχή εστίασης της δέσμης λέιζερ υπερβαίνει μία τιμή κατωφλίου (threshold) η οποία για τον αέρα είναι της τάξης $I_{th} = 10 \text{ GW/cm}^2$.

Η παραγωγή του αερολύματος πραγματοποιείται μέσω ενός πνευματικού εκνεφωτή συγκεντρωτικού τύπου, που χρησιμοποιεί αργό (Ar) ως φέρον αέριο (βλ. 3.2.1). Ο εκνεφωτής τοποθετείται σε κατάλληλη θέση ώστε ο άξονας ψεκασμού (άξονας y) του αερολύματος να σχηματίζει ορθή γωνία με τον άξονα διάδοσης του παλμού λέιζερ (άξονας z). Το πλάσμα δημιουργείται στην τομή των δύο αξόνων και σε απόσταση $d \approx 2 \text{ mm}$ από το ακροφύσιο του εκνεφωτή. (Εικόνα 3.1)

Για τη συλλογή της ακτινοβολίας, που εκπέμπεται από το πλάσμα, χρησιμοποιείται οπτικό σύστημα απεικόνισης, που αποτελείται από δύο συγκλίνοντες φακούς εστιακής απόστασης $f = +50 \text{ mm}$, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται απεικόνιση 1:1 του πλάσματος. Το σύστημα απεικόνισης τοποθετείται κάθετα στο επίπεδο yz, που ορίζει ο άξονας διάδοσης της δέσμης με τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.2.



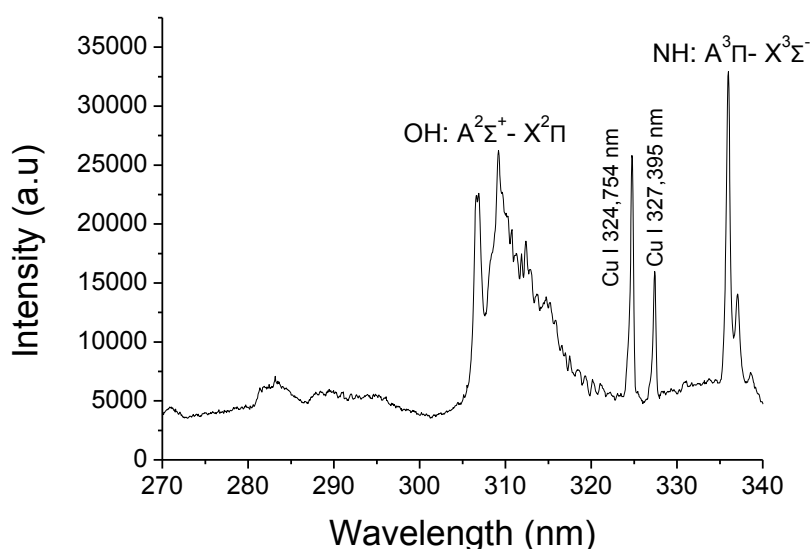
Εικόνα 3.2. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης LIBS (επίπεδο xz).

Η ακτινοβολία εκπομπής απεικονίζεται στην είσοδο οπτικής ίνας διαμέτρου 200 μm και μεταφέρεται μέσω αυτής στο φασματογράφο, όπου αναλύεται φασματικά και καταγράφεται από ανιχνευτή τύπου ICCD, ο οποίος είναι τοποθετημένος στο πεδίο εστίασης του φασματογράφου. Ο ανιχνευτής ICCD έχει επίσης τη δυνατότητα χρονικής ανάλυσης της εκπομπής του πλάσματος. Έτσι γίνεται εφικτή η καταγραφή του φάσματος με χρονική καθυστέρηση $\tau_D \approx 20 \mu\text{s}$ σε σχέση με τον παλμό λέιζερ και έτσι ελαχιστοποιεί τη συνεισφορά στο φάσμα ατομικής εκπομπής της ακτινοβολίας συνεχούς υποβάθρου, που είναι εξαιρετικά ισχυρή κατά την αρχική φάση δημιουργίας του πλάσματος. Ο καθορισμός του χρονικού παραθύρου εντός του οποίου πραγματοποιείται η καταγραφή του φάσματος εκπομπής γίνεται μέσω παλμογεννήτριας, που ενεργοποιείται λαμβάνοντας ηλεκτρικό σήμα από μία φωτοδίοδο ταχείας απόκρισης, που ανιχνεύει τον παλμό λέιζερ κατά την

άφιξη του στο σημείο δημιουργίας του πλάσματος. Στη συνέχεια η παλμογεννήτρια παράγει παλμό σκανδαλισμού (trigger) που ενεργοποιεί τον ανιχνευτή ICCD καθορίζοντας την καθυστέρηση σε σχέση με τον παλμό λέιζερ, τ_D , και το χρονικό εύρος της μέτρησης, τ_G .

Τυπικό φάσμα LIBS που έχει ληφθεί κατά την ανάλυση υδατικού αερολύματος ιόντων χαλκού παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.1. Στο φάσμα φαίνονται οι ατομικές γραμμές εκπομπής του χαλκού στα 324,754 και 327,395 nm καθώς και ταινίες εκπομπής φθορισμού από διεγερμένα διατομικά μόρια, OH και NH, που παράγονται μέσω των διαδικασιών επανασύνδεσης μεταξύ ατόμων, ιόντων και ηλεκτρονίων στο πλάσμα. Επίσης φαίνεται η μικρή συνεισφορά από το συνεχές υπόβαθρο του πλάσματος.

Στη συνέχεια ακολουθεί περιγραφή των επί μέρους τμημάτων της οργανολογίας LIBS και των βασικών τεχνικών χαρακτηριστικών τους.

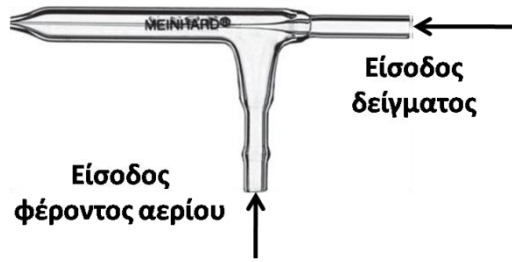


Σχήμα 3.1. Τυπικό φάσμα LIBS μεταλλοϊόντων χαλκού σε υδατικό διάλυμα.

3.2. Οργανολογία LIBS

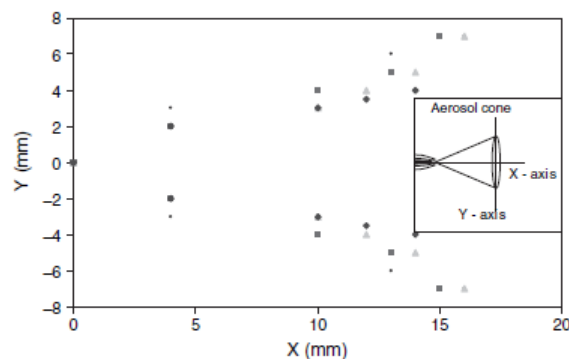
3.2.1. Εκνεφωτής

Ο εκνεφωτής, που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα είναι συγκεντρωτικού τύπου πνευματικός εκνεφωτής (TR-30-C1, Meinhard®, Golden, CO, USA). Κύριο χαρακτηριστικό του εκνεφωτή αυτού του τύπου είναι η ευκολία στη χρήση και η ικανότητα αναρρόφησης του δείγματος χωρίς τη χρήση αντλίας. Ο όρος πνευματικός υποδεικνύει τη χρήση αέρα ή άλλου αδρανούς αερίου στη δημιουργία του αερολύματος. Στα πειράματα, που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία, ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε αργό.



Εικόνα 3.3. Πνευματικός εκνεφωτής συγκεντρωτικού τύπου.

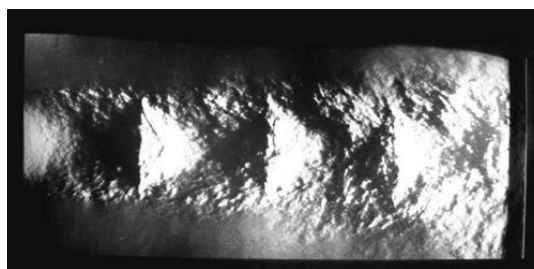
Η εισαγωγή του δείγματος στον εκνεφωτή γίνεται μέσω τριχοειδούς σωλήνα, εσωτερικής διαμέτρου 100 μm , που προσαρμόζεται κατάλληλα σε οριζόντια θέση. Το φέρον αέριο εισάγεται περιμετρικά του τριχοειδούς όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.3, και έρχεται σε επαφή με το υγρό διάλυμα στην περιοχή εξόδου του εκνεφωτή (ακροφύσιο) όπου δημιουργείται το αερόλυμα. Τα σταγονίδια που δημιουργούνται αλληλεπιδρούν περαιτέρω με το φέρον αέριο με αποτέλεσμα να επιταχύνονται. Οι τυπικές τιμές ταχύτητας ροής των σταγονιδίων είναι της τάξης των 30-80 m/s [57]. Η διάδοση του αερολύματος γίνεται ομόκεντρα με το φέρον αέριο, περιορίζοντας την ελεύθερη διάχυση των σταγονιδίων στο χώρο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία εκνεφώματος κωνικού σχήματος στενής γωνιακής κατανομής ($<20^\circ$) όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.2.



Σχήμα 3.2. Εύρος του κώνου που σχηματίζει το αερόλυμα συναρτήσει της απόστασης από το ακροφύσιο του εκνεφωτή [57].

Όταν η ταχύτητα του φέροντος αερίου προσεγγίζει την ταχύτητα του ήχου η μεταφορά ενέργειας από το αέριο προς το υγρό είναι βέλτιστη με αποτέλεσμα να δημιουργείται αερόλυμα μικρών σταγονιδίων ($d_{\text{σταγ}} \sim 10 \mu\text{m}$). Όταν χρησιμοποιείται αργό ως φέρον αέριο η πίεση στην οποία τα άτομα του αερίου κινούνται με την ταχύτητα του ήχου είναι $p = 2 \text{ bar}$. Τα άτομα του φέροντος αερίου κατά την κίνηση τους αλληλεπιδρούν με το υγρό στην περιοχή του ακροφυσίου δημιουργώντας επιφανειακά κύματα τα οποία σταδιακά αποσταθεροποιούν το υγρό και το μετατρέπουν σε σταγονίδια όπως φαίνεται

στην εικόνα 3.4. Αποτελεσματική αλληλεπίδραση αερίου-υγρού οδηγεί στο σχηματισμό μικρού μεγέθους σταγονιδίων.



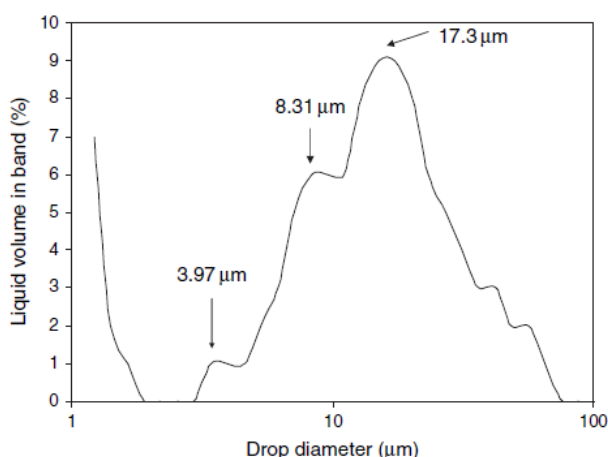
Εικόνα 3.4. Παραγωγή κυμάτων στην έξοδο ενός πνευματικού εκνεφωτή συγκεντρωτικού τύπου [57].

Παροχή διαλύματος αναλύτη : Η ικανότητα ελεύθερης αναρρόφησης του διαλύματος από τον εκνεφωτή οφείλεται στον σχηματισμό ενός ρεύματος Venturi στο ακροφύσιο του εκνεφωτή. Η παρουσία του ρεύματος Venturi δημιουργεί διαφορά πίεσης η οποία προκαλεί αναρρόφηση του διαλύματος. Η ροή του διαλύματος (παροχή) υπολογίζεται από το νόμο του Poiseuille:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi R^4 \Delta P}{8 \eta L}$$

όπου: dV/dt : ροή υγρού με ιξώδες η , που διέρχεται μέσω κυλινδρικού αγωγού μήκους L και ακτίνας R , όταν υφίσταται διαφορά πίεσης ΔP στα άκρα του αγωγού.

Κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων: Η κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων είναι πολυτροπική και παρουσιάζει τοπικά μέγιστα τα οποία υποδηλώνουν τα σταθερότερα σταγονίδια που σχηματίζονται. Η τιμή της διαμέτρου των σταγονιδίων στο ολικό μέγιστο της κατανομής επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η ροή του φέροντος αερίου, η φύση του διαλύματος και ο σχεδιασμός του εκνεφωτή.



Σχήμα 3.3. Τυπική κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων που ψεκάζονται από εκνεφωτή συγκεντρωτικού τύπου [57].

Ειδικότερα η αύξηση στη ροή του φέροντος αερίου οδηγεί στον σχηματισμό σταγονιδίων μικρότερου μεγέθους καθώς αυξάνει ο ρυθμός μεταφοράς ενέργειας. Ο διαφορετικός σχεδιασμός ενός εκνεφωτή οδηγεί στη δημιουργία σταγονιδίων ελαφρώς διαφορετικού μεγέθους. Η επίδραση αυτή οφείλεται στο τριχοειδές που χρησιμοποιείται για τη μεταφορά του διαλύματος στο ακροφύσιο του εκνεφωτή. Η διαφοροποίηση της διαμέτρου του τριχοειδούς αλλά και του πάχους των τοιχωμάτων επηρεάζει τον σχηματισμό των σταγονιδίων. Όσο μικρότερη είναι η διάμετρος του τριχοειδούς τόσο μικρότερα είναι τα σταγονίδια που ψεκάζονται. Γενικά η κατανομή μεγέθους των σταγονιδίων επηρεάζεται σημαντικά μόνο από τη ροή του φέροντος αερίου.

3.2.2 Λέιζερ

Το λέιζερ είναι ένα από τα σημαντικότερα τμήματα της πειραματικής διάταξης. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε ένα παλμικό λέιζερ Nd:YAG τύπου Q-Switched, αντλούμενο από λυχνίες έκλαμψης (B. M. Industries, 5000 Series). Το λέιζερ λειτουργεί στη θεμελιώδη συχνότητα, που αντιστοιχεί σε μήκος κύματος $\lambda = 1064 \text{ nm}$. Η πόλωση της ακτινοβολίας λέιζερ είναι γραμμική. Το χρονικό εύρος του παλμού μετρούμενο στο FWHM είναι $\tau_p = 8 \text{ ns}$. Η μέγιστη ενέργεια ανά παλμό είναι $E = 200 \text{ mJ}$ ενώ ο ρυθμός επανάληψης (repetition rate) των λυχνιών είναι $f = 10 \text{ Hz}$. Με κατάλληλο έλεγχο του κυκλώματος ενεργοποίησης του Q-Switch είναι εφικτή η παραγωγή παλμών σε ρυθμό επανάληψης f/N , όπου $N = 1, 2, \dots, 9$.

3.2.3 Οπτικά

Κάτοπτρα:

Για την κατεύθυνση της δέσμης από το λέιζερ προς την πειραματική διάταξη χρησιμοποιούνται διηλεκτρικά κάτοπτρα. Στα κάτοπτρα αυτά υπάρχει μια βάση άμορφου οξειδίου του πυριτίου (SiO_2) υψηλής καθαρότητας επί της οποίας εναποτίθενται λεπτά στρώματα διηλεκτρικού υλικού, που αποτελούν την οπτική επίστρωση (optical coating). Το πάχος και το είδος του υλικού που χρησιμοποιείται καθορίζει τις οπτικές ιδιότητες του κατόπτρου, δηλαδή τη σχετική ανακλαστικότητα του κατόπτρου στα διάφορα μήκη κύματος και τη βέλτιστη γωνία πρόσπτωσης.

Φακοί:

Φακός είναι το οπτικό στοιχείο το οποίο έχει την ικανότητα να εστιάζει ή να απεστιάζει μία προσπίπτουσα δέσμη φωτός. Η ικανότητα αυτή των φακών βασίζεται στο φαινόμενο της διάθλασης. Οι φακοί ανάλογα με την ικανότητα εστίασης ή απεστίασης μιας δέσμης φωτός χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τους συγκλίνοντες και τους αποκλίνοντες φακούς. Μία χαρακτηριστική παράμετρος που διαχωρίζει τους φακούς μεταξύ τους είναι η

εστιακή απόσταση. Η εστιακή απόσταση ενός φακού ορίζεται η απόσταση από το κέντρο του φακού στο οποίο το πλάτος της διαθλώμενης δέσμης φωτός είναι ελάχιστο, η περιοχή αυτή ονομάζεται θέση εστίασης. Ένας συγκλίνοντας φακός έχει θετική εστιακή απόσταση ενώ ένας αποκλίνοντας φακός αρνητική.

Οπτική ίνα:

Μία οπτική ίνα αποτελείται από ένα πολύ λεπτό νήμα διοξειδίου του πυριτίου σε κρυσταλλική ή άμορφη μορφή. Το κεντρικό νήμα (πυρήνας) είναι επικαλυμμένο με μία επίστρωση κατάλληλου υλικού το οποίο εμφανίζει μικρότερο δείκτη διάθλασης. Οι οπτικές ίνες χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά του φωτός. Όταν το φως εισέλθει στην οπτική ίνα υφίσταται ολική ανάκλαση στα τοιχώματα επιτρέποντας τη διάδοση του διαμέσου της χωρίς απώλειες. Η διάμετρος του πυρήνα της οπτικής ίνας που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της παρούσας εργασίας είναι 200 μm .

3.2.4. Φωτοδίοδος

Η φωτοδίοδος έχει την ικανότητα μετατροπής του φωτός σε ηλεκτρικό ρεύμα. Η ικανότητα της αυτή οφείλεται στην παρουσία ενός ημιαγωγικού υλικού που χρησιμεύει ως αισθητήρας. Όταν η συχνότητα φωτός που προσπίπτει στην επιφάνεια του ημιαγωγικού υλικού υπερβαίνει το ενεργειακό χάσμα του ημιαγωγού προκαλείται ηλεκτρονική διέγερση στο υλικό και μεταφορά ηλεκτρονίων από τη ζώνη σθένους του υλικού στη ζώνη αγωγιμότητας. Για κάθε ηλεκτρόνιο που μεταφέρεται στην ζώνη αγωγιμότητας δημιουργείται μια οπή στην ζώνη σθένους. Η σύνδεση του αισθητήρα με κατάλληλο ηλεκτρονικό κύκλωμα επιτρέπει τη μέτρηση των ηλεκτρονίων που δημιουργούνται, μέσω της μέτρησης της έντασης του ρεύματος στο υλικό. Η μετρούμενη ένταση του ρεύματος είναι ανάλογη του αριθμού των φωτονίων που προσπίπτουν στο ημιαγωγικό υλικό. Το ηλεκτρονικό κύκλωμα στο οποίο είναι συνδεδεμένο το ημιαγωγικό υλικό αλλά και τα χαρακτηριστικά του αισθητήρα καθορίζουν το χρόνο απόκρισης της φωτοδίοδου (ο χρόνος απόκρισης (τ) είναι το γινόμενο της αντίστασης (R) επί τη χωρητικότητα (C) του κυκλώματος $\tau = RC$).

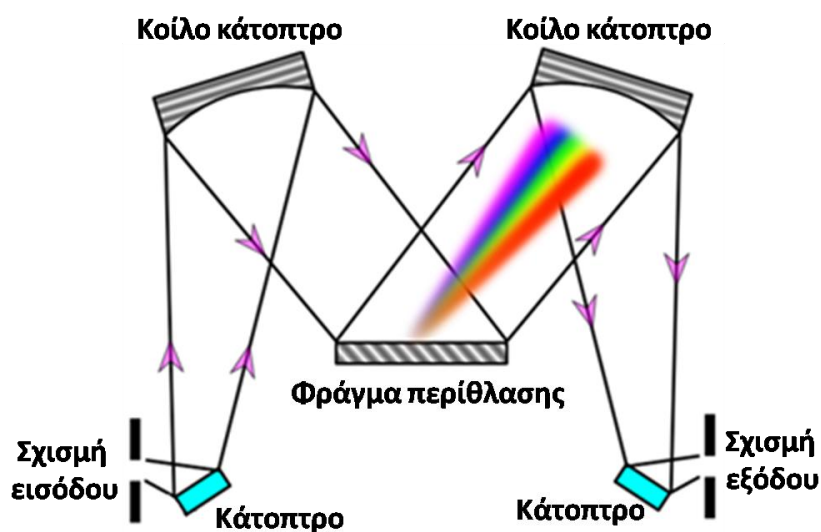
3.2.5. Παλμογεννήτρια

Η παλμογεννήτρια χρησιμοποιείται για το συγχρονισμό του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Στα πειράματα της παρούσας εργασίας χρησιμοποιήθηκε η παλμογεννήτρια DG 535 της εταιρίας Stanford Research Systems. Αυτή αποτελείται από ένα ηλεκτρονικό κύκλωμα το οποίο είναι προγραμματισμένο να παρέχει τέσσερις ηλεκτρονικούς παλμούς (logic transition) υψηλής χρονικής ακρίβειας, ή δύο παλμούς των οποίων το χρονικό εύρος

ελέγχεται με ακρίβεια ± 5 ps, παρέχοντας τη δυνατότητα εισαγωγής χρονικής καθυστέρησης (τ_D) ως προς ένα σήμα σκανδαλισμού (trigger). Το εύρος των παραγόμενων παλμών κυμαίνεται από 1 πικο-δευτερόλεπτο ($1\text{ps} = 10^{-12}\text{s}$) έως 999 s, και εντός της περιοχής αυτής επιλέγεται ο χρόνος καθυστέρησης (τ_D) και ο χρόνος ολοκλήρωσης (τ_G) του ανιχνευτή. Η παλμογεννήτρια παρέχει παλμούς τύπου TTL (Transistor Transistor Logic), NIM (Nuclear Instrumentation Module) και ECL (Emitter Coupled Logic).

3.2.6. Φασματογράφος

Η ανάλυση της συλλεγόμενης ακτινοβολίας γίνεται από απεικονιστικό φασματογράφο φράγματος περίθλασης. Στην Εικόνα 3.5 φαίνεται σχηματικά η αρχή λειτουργίας του φασματογράφου. Ο φασματογράφος που χρησιμοποιήθηκε είναι τύπου Czerny-Turner εστιακής απόστασης $f=19\text{ cm}$. Η ακτινοβολία που συλλέγεται από το πλάσμα μεταφέρεται μέσω της οπτικής ίνας στη σχισμή εισόδου του φασματογράφου. Η σχισμή εισόδου παίζει το ρόλο σημειακής πηγής φωτός. Η δέσμη του φωτός διερχόμενη από τη σχισμή εισόδου ανακλάται σε επίπεδο κάτοπτρο και στη συνέχεια κατευθύνεται προς κοίλο κάτοπτρο όπου παραλληλίζεται και κατευθύνεται στο φράγμα περίθλασης. Για την αξιόπιστη ανάλυση του φωτός η προσπίπτουσα στο φράγμα πρέπει να είναι παραλληλισμένη. Οι χρωματικές συνιστώσες της αναλυμένης δέσμης κατευθύνονται σε ένα δεύτερο κοίλο κάτοπτρο, το οποίο τις εστιάζει στο επίπεδο απεικόνισης του φασματογράφου. Κάθε μήκος κύματος της αναλυμένης ακτινοβολίας εστιάζεται σε διαφορετική θέση επάνω στην επιφάνεια του ανιχνευτή, οποίος τοποθετείται στο εστιακό επίπεδο του φασματογράφου υπό κατάλληλη γωνία.



Εικόνα 3.5. Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας ενός φασματογράφου τύπου Czerny-Turner.

Μια σημαντική παράμετρος που επηρεάζει την ποιότητα των φασμάτων είναι η διακριτική ικανότητα του φασματογράφου, η οποία καθορίζεται από τα χαρακτηριστικά του φράγματος περίθλασης, το εύρος της σχισμής εισόδου καθώς και από το εστιακό μήκος του φασματογράφου. Η διακριτική ικανότητα (R) ορίζεται ως:

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda} = n_d N$$

Όπου λ είναι το κεντρικό μήκος κύματος της γραμμής που αναλύεται, $\Delta\lambda$ είναι η διαφορά στο μήκος κύματος μεταξύ δύο γραμμών, n_d είναι η τάξη της περίθλασης και N ο αριθμός των αυλακώσεων του φράγματος περίθλασης. Η ικανότητα ανάλυσης εξαρτάται από το μήκος κύματος και αυξάνεται με τη φασματική τάξη.

Μια άλλη σημαντική παράμετρος που υπεισέρχεται είναι η απόδοση του φασματογράφου. Η απόδοση του φασματογράφου επηρεάζεται κυρίως από το υλικό των κατόπτρων καθώς και από φράγμα περίθλασης. Η απόδοση ενός φράγματος περίθλασης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως την ειδική επίστρωση που διαθέτει, την γωνία χάραξης και την πόλωση του φωτός που αναλύεται. Τυπικές τιμές απόδοσης για ένα φράγμα περίθλασης κυμαίνονται μεταξύ του 45-80 % ανάλογα με την τάξη περίθλασης που χρησιμοποιείται.

3.2.7. Ανιχνευτής

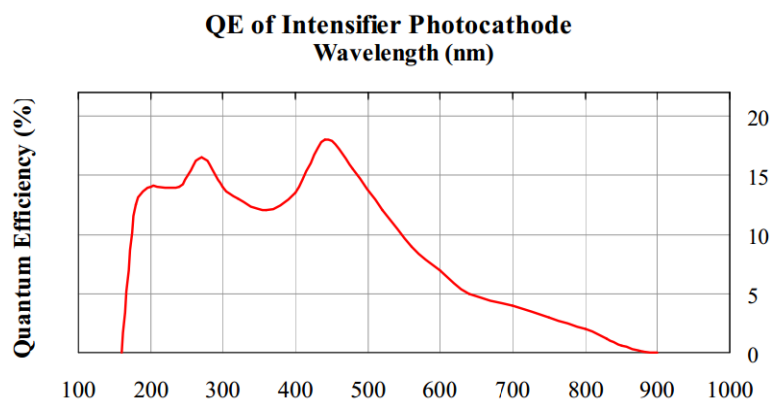
Για την καταγραφή του φάσματος χρησιμοποιείται ανιχνευτής τύπου σύζευξης φορτίου με ενισχυτή εικόνας (Intensified Charged Coupled Device, ICCD) της Andor το μοντέλο iStar DHS-720. Μια συσκευή σύζευξης φορτίου (CCD) είναι ένας πολύ ευαίσθητος ανιχνευτής, που αποτελείται από μία δισδιάστατη επιφάνεια μικροσκοπικών φωτοαισθητήρων (pixel), οι οποίοι έχουν την ικανότητα αποθήκευσης φορτίου. Τα pixel είναι διατεταγμένα κατάλληλα σχηματίζοντας οριζόντιες σειρές και κατακόρυφες στήλες, στον ανιχνευτή που χρησιμοποιείται στο πείραμα η διάταξη αποτελείται από 1024 σειρές και 512 στήλες. Κάθε φωτοαισθητήρας αποτελείται από μία δίοδο p-ντοπαρισμένου πυριτίου σε n-ντοπαρισμένο υπόστρωμα. Κάθε αισθητήρας καλύπτεται από ένα λεπτό φιλμ διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) επάνω στο οποίο τοποθετούνται αγωγίμα ηλεκτρόδια πυριτίου. Το φως με το οποίο ακτινοβολείται ο ανιχνευτή απορροφάται από την p-ντοπαρισμένη περιοχή προκαλώντας ηλεκτρονιακή διέγερση στο υλικό. Η ηλεκτρονιακή διέγερση προκαλεί τη μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από την ζώνη σθένους στην ζώνη αγωγιμότητας. Στην ζώνη σθένους σχηματίζεται μία σπή ενώ στην ζώνη αγωγιμότητας εισέρχεται ένα ηλεκτρόνιο. Το ηλεκτρόνιο στην ζώνη αγωγιμότητας κινείται ελεύθερα προς

το θετικά φορτισμένο ηλεκτρόδιο όπου και αποθηκεύεται. Η οπή μετακινείται προς το η-νοτοπαρισμένο υπόστρωμα όπου και συνδέεται με ένα ηλεκτρόνιο.

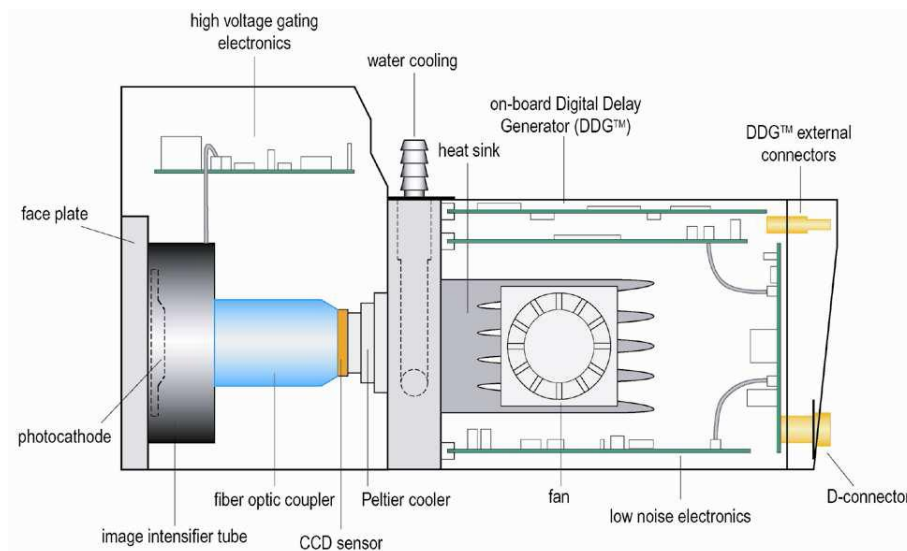
Η διαφορά του ICCD έγκειται κυρίως στον ενισχυτή εικόνας, όπου τοποθετείται πριν από τη συστοιχία CCD και αποτελείται από τη φωτοκάθοδο, το μικροκαναλικό πλακίδιο (Microchannel Plate-MCP) και την οθόνη φωσφόρου. Ο ενισχυτής εικόνας αυξάνει την ευαισθησία του ανιχνευτή κατά 10^4 φορές. Τα φωτόνια της ακτινοβολίας που προβάλλεται επάνω στον ενισχυτή εικόνας προσπίπτουν στη φωτοκάθοδο παράγοντας φωτοηλεκτρόνια. Η φωτοκάθοδος είναι αρνητικά φορτισμένη, οπότε τα φωτοηλεκτρόνια που παράγονται επιταχύνονται από το ηλεκτρικό πεδίο και κινούνται προς το μικροκαναλικό πλακίδιο. Στο μικροκαναλικό πλακίδιο εφαρμόζεται υψηλή διαφορά δυναμικού της τάξης των 500- 1000 V. Η διέλευση των φωτοηλεκτρονίων από το μικροκαναλικό πλακίδιο οδηγεί σε παραγωγή δευτερευόντων ηλεκτρονίων. Το αποτέλεσμα της διεργασίας είναι η παραγωγή ενός νέφους ηλεκτρονίων το οποίο, επιταχύνεται από δυναμικό μερικών χιλιάδων Volt και κατευθύνεται προς την οθόνη φωσφόρου. Τα ηλεκτρόνια που προσπίπτουν στην οθόνη φωσφόρου προκαλούν διέγερση των ατόμων του φωσφόρου. Κατά την αποδιέγερση τους τα άτομα του φωσφόρου εκπέμπουν χαρακτηριστική ακτινοβολία η οποία καταγράφεται από το πλακίδιο CCD.

Ο ενισχυτής, εκτός από το να ενισχύει το σήμα, έχει τη δυνατότητα πολύ υψηλής χρονικής απόκρισης και λειτουργεί ως ένας ταχύτατος φωτοφράκτης. Η λειτουργία του ενισχυτή ως φωτοφράκτη βασίζεται στην ικανότητα μεταβολής του δυναμικού που εφαρμόζεται από θετικό σε αρνητικό. Όταν στη φωτοκάθοδο εφαρμοστεί θετικό δυναμικό, τα φωτοηλεκτρόνια δεν αποκτούν ικανή κινητική ενέργεια για να εισέλθουν στο μικροκαναλικό πλακίδιο, οπότε ο ενισχυτής εικόνας είναι κλειστός. Το CCD είναι μια συσκευή αργής σάρωσης, η παρουσία του ενισχυτή εικόνας αυξάνει τη χρονική απόκριση και την ευαισθησία του αισθητήρα.

Μια βασική παράμετρος που χαρακτηρίζει τη χρήσιμη φασματική περιοχή του ανιχνευτή είναι η κβαντική απόδοση του ενισχυτή, η οποία εξαρτάται από τα φωτοηλεκτρικά χαρακτηριστικά του υλικού της φωτοκαθόδου και ως επί τούτου παρουσιάζει εξάρτηση από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.4.



Σχήμα 3.4. Τυπικό διάγραμμα κβαντικής απόδοσης της φωτοκαθόδου συναρτήσει του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.



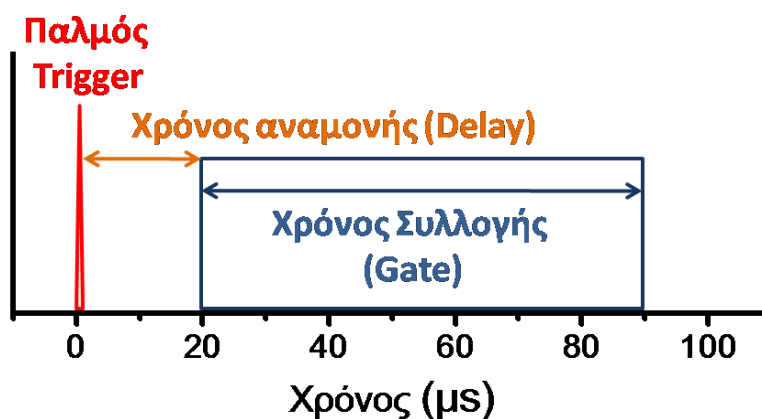
Εικόνα 3.6. Πλάγια όψη ανιχνευτή τύπου ICCD [58].

3.3. Συγχρονισμός συστημάτων

Ο συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή είναι σημαντικό στοιχείο της πειραματικής διαδικασίας, διότι μέσω του συγχρονισμού των δύο συστημάτων είναι εφικτή η εισαγωγή της απαραίτητης χρονικής καθυστέρησης (τ_d) για τη λήψη αξιόπιστων φασμάτων LIBS. Στο Σχήμα 3.5 παρουσιάζεται η αλληλουχία των σημάτων συγχρονισμού του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Για το συγχρονισμό των δύο συστημάτων είναι απαραίτητη η χρήση ενός σήματος που θα καθορίζει τη χρονική στιγμή μηδέν (trigger, $\tau = 0$), δηλαδή ένα χρονικό σημείο αναφοράς. Η χρονική στιγμή μηδέν μπορεί να καθοριστεί είτε από το λέιζερ είτε από τον ανιχνευτή. Όταν το λέιζερ είναι αυτό που καθορίζει τη χρονική στιγμή μηδέν τότε το λέιζερ είναι σε λειτουργία internal trigger ενώ ο ανιχνευτής βρίσκεται σε λειτουργία

external trigger. Εάν ο ανιχνευτής καθορίζει τη χρονική στιγμή μηδέν τότε ισχύει το αντίθετο.

Ο συγχρονισμός των οργάνων γίνεται από το σήμα trigger, το οποίο στην πραγματικότητα είναι ένα ηλεκτρικός παλμός που μπορεί να προέρχεται από μια φωτοδίοδο που ανιχνεύει τον οπτικό παλμό όταν το λέιζερ είναι σε λειτουργία internal trigger, ενώ όταν το λέιζερ βρίσκεται σε λειτουργία external trigger είναι ένα παλμός TTL που προέρχεται από τον ανιχνευτή προς το λέιζερ.

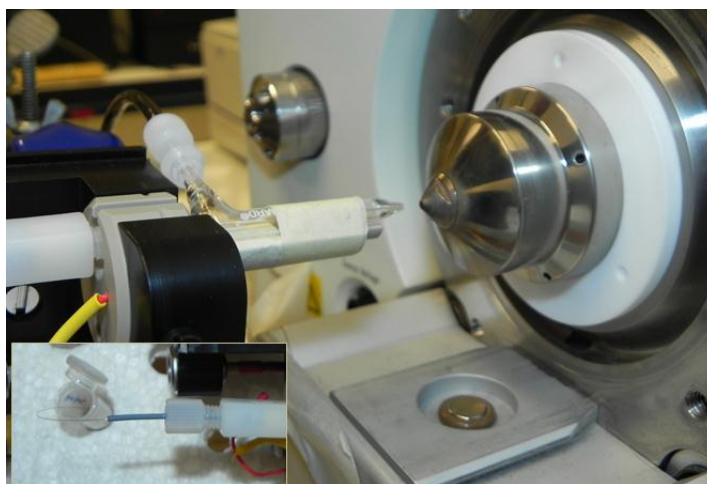


Σχήμα 3.5. Διάγραμμα συγχρονισμού λέιζερ ανιχνευτή.

Όταν ο ανιχνευτής βρίσκεται σε λειτουργία external trigger γίνεται διαμεσολάβηση παλμογεννήτριας που επιτρέπει το συγχρονισμό του με το λέιζερ. Η παλμογεννήτρια λαμβάνει το σήμα trigger και αποστέλλει τον κατάλληλο ηλεκτρονικό παλμό προς τον ανιχνευτή καθορίζοντας το χρόνο αναμονής (τ_D) και το χρόνο συλλογής (τ_G). Ο χρόνος αναμονής ελέγχεται από την παλμογεννήτρια και αναφέρεται στο χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την άφιξη του σήματος trigger έως τη στιγμή αποστολής του ηλεκτρονικού παλμού στον ανιχνευτή. Ο χρόνος συλλογής ελέγχεται επίσης από την παλμογεννήτρια και αναφέρεται στο χρονικό διάστημα που γίνεται η συλλογή και καταγραφή του φάσματος.

3.4. Πειραματική διάταξη SSI-MS

Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται στην τεχνική SSI-MS αποτελείται από ένα πνευματικό εκνεφωτή συγκεντρωτικού τύπου όμοιο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα LIBS και το φασματογράφο μάζας. Ο εκνεφωτής τοποθετείται σε κατάλληλη θέση στην είσοδο του φασματογράφου μάζας ομοαξονικά με τον κώνο δειγματοληψίας όπως παρουσιάζεται στη Εικόνα 3.7.



Εικόνα 3.7. Πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται στη φασματομετρία μάζας υπερηχητικής εκνέφωσης.

3.5. Οργανολογία SSI-MS

3.5.1. Πηγή ιοντισμού

Ως πηγή ιοντισμού στην τεχνική SSI-MS χρησιμοποιείται πνευματικός εκνεφωτής συγκεντρωτικού τύπου, όμοιος με τον εκνεφωτή που χρησιμοποιήθηκε στην τεχνική LIBS (βλ.3.2.1). Ο ρόλος του εκνεφωτή στην τεχνική SSI-MS είναι διπλός καθώς χρησιμοποιείται ως σύστημα εισαγωγής του δείγματος στο φασματογράφο μάζας καθώς και ως πηγή ιοντισμού των μορίων του αναλύτη.

3.5.2. Φασματογράφος Μάζας

Το φασματόμετρο μάζας που χρησιμοποιήθηκε είναι το Thermo Finnigan LCQ Advantage, το οποίο είναι εξοπλισμένο με αντλία σύριγγας, θερμαινόμενη μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης, σύστημα υψηλού κενού και ηλεκτροστατικά συστήματα εστίασης ιόντων. Ως αναλυτής μαζών χρησιμοποιείται ιοντική παγίδα. Στο όργανο αυτό παρέχεται η δυνατότητα σύνδεσης με πηγή ηλεκτροψεκασμού (ESI) ή πηγή υπερηχητικής εκνέφωσης (SSI).

3.6. Πειραματική διαδικασία

3.6.1. Λήψη φάσματος LIBS

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθείται για τη λήψη των φασμάτων LIBS είναι απλή και περιλαμβάνει δύο στάδια. Το πρώτο στάδιο αφορά στον καθορισμό των βασικών παραμέτρων συγχρονισμού που υπεισέρχονται στις μετρήσεις δηλαδή το χρόνο καθυστέρησης (τ_D) και το χρόνο συλλογής (τ_G), ενώ το δεύτερο στάδιο αφορά τον τρόπο

καταγραφής των φασμάτων. Ο τρόπος καταγραφής των φασμάτων LIBS εξαρτάται από τις απαιτήσεις της μελέτης που διεξάγεται. Το λογισμικό ελέγχου του ανιχνευτή προσφέρει τέσσερεις διαφορετικούς τρόπους καταγραφής των φασμάτων οι οποίοι αναφέρονται ως Single scan, Real time, Accumulate και Kinetic series.

Ο ανιχνευτής σε λειτουργία Single scan καταγράφει ένα φάσμα που αντιστοιχεί σε ένα μεμονωμένο συμβάν δημιουργίας πλάσματος από έναν παλμό λέιζερ. Στη λειτουργία Real time γίνεται συνεχής καταγραφή σε πραγματικό χρόνο φασμάτων, και κάθε φάσμα αποτελεί μια μεμονωμένη μέτρηση Single scan.

Στη λειτουργία Accumulate ο ανιχνευτής καταγράφει ένα αριθμό φασμάτων που καθορίζεται από το χρήστη, και κάθε φάσμα που καταγράφεται προστίθεται στο προηγούμενο φάσμα. Το αποτέλεσμα της μέτρησης είναι το άθροισμα ενός συνόλου φασμάτων που ορίστηκε από το χρήστη, ουσιαστικά λαμβάνεται ο μέσος όρος N μεμονωμένων φασμάτων. Η λειτουργία αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη επειδή αυξάνει σημαντικά ο λόγος του σήματος προς το θόρυβο (S/N). Ο θόρυβος στις μετρήσεις μειώνεται κατά $N^{1/2}$ όπου N είναι ο αριθμός των φασμάτων που προστέθηκαν.

Στη λειτουργία Kinetic series γίνεται συνεχής καταγραφή μιας ακολουθίας φασμάτων. Κάθε φάσμα της ακολουθίας μπορεί να αντιπροσωπεύει είτε ένα μεμονωμένο γεγονός δημιουργίας πλάσματος είτε το άθροισμα ενός συνόλου φασμάτων. Η λειτουργία αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη διότι επιτρέπει την καταγραφή των φασμάτων LIBS μιας ακολουθίας της τάξης των χιλίων παλμών λέιζερ γρήγορα και αποτελεσματικά.

Μία άλλη παράμετρος λειτουργίας του ανιχνευτή που επηρεάζει σημαντικά την ευαισθησία της μέτρησης είναι η τάση που εφαρμόζεται στη φωτοκάθοδο του ενισχυτή εικόνας. Η τάση που εφαρμόζεται αναφέρεται ως V_{Gain} ή Gain και προσδιορίζει το βαθμό ενίσχυσης του σήματος της φωτοκαθόδου. Στα πειράματα που διεξήχθησαν στην παρούσα εργασία το Gain του ανιχνευτή ρυθμίστηκε στο 200 και αντιστοιχεί σε ενίσχυση του σήματος κατά 1×10^7 φορές σε σχέση με την περίπτωση Gain = 0.

Το λογισμικό ελέγχου του ανιχνευτή παρέχει τη δυνατότητα ανάπτυξης λογισμικού με βάση το οποίο ελέγχεται ο τρόπος διεξαγωγής της μέτρησης και πραγματοποιείται η επεξεργασία των φασματικών δεδομένων. Η ανάπτυξη των προγραμμάτων γίνεται σε ειδική γλώσσα προγραμματισμού τύπου Basic προσαρμοσμένη στο λογισμικό ελέγχου του ανιχνευτή. Η ανάπτυξη αλγορίθμων μέσω των οποίων γίνεται αυτόματα η επεξεργασία των δεδομένων συμβάλλει σημαντικά στη μείωση του χρόνου που απαιτείται για την επεξεργασία των δεδομένων.

3.6.2. Λήψη φάσματος μάζας

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθείται για τη λήψη ενός φάσματος μάζας είναι αρκετά απλή. Αρχικά γίνεται βελτιστοποίηση της σχετικής θέσης του εκνεφωτή ως προς τον κώνο δειγματοληψίας. Η βέλτιστη θέση προσδιορίζεται μέσω της σχετικής έντασης των γραμμών στο φάσμα μάζας ενός πρότυπου δείγματος ως προς το υπόβαθρο. Στη συνέχεια ρυθμίζεται η θερμοκρασία της στήλης ενδιάμεσης πίεσης και η διαφορά δυναμικού που χρησιμοποιείται για την κατεύθυνση των ιόντων στον αναλυτή μαζών. Για την καταγραφή του φάσματος μάζας πρέπει να οριστεί ο χρόνος παραμονής των ιόντων στην ιοντική παγίδα, παράμετρος που επηρεάζει άμεσα την ευαισθησία της μέτρησης. Ο χρόνος συλλογής των ιόντων στις μετρήσεις που διεξήχθησαν ρυθμίστηκε στα 400 ms.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η ανάπτυξη μιας υβριδικής αναλυτικής τεχνικής, η οποία θα συνδυάζει την ατομική φασματοσκοπία με τη μοριακή φασματομετρία μάζας για την ανίχνευση μεταλλικών ιόντων σε βιομόρια και σύμπλοκα. Για το λόγο αυτό μελετήθηκε ο συνδυασμός της φασματομετρίας μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry, SSI-MS) με τη φασματοσκοπία πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS), με απώτερο σκοπό την πλήρη ενσωμάτωση τους με τη χρήση ενός μόνο πνευματικού εκνεφωτή και για τις δύο.

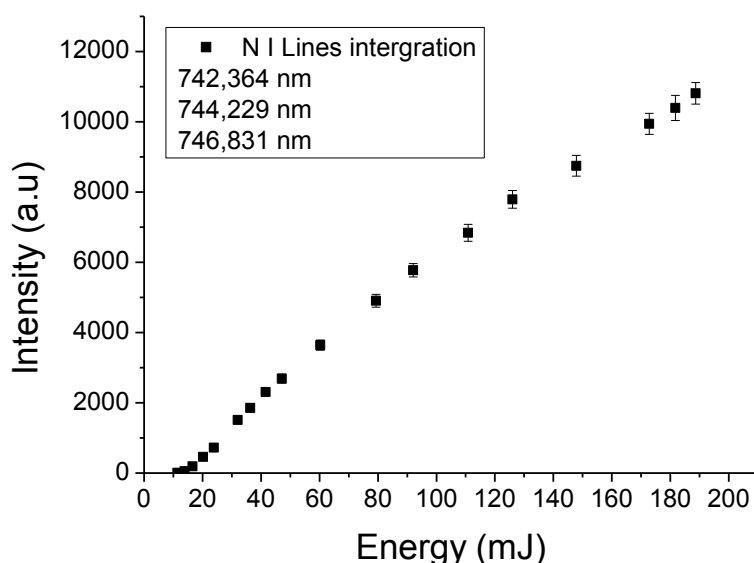
Για την επίτευξη του στόχου της εργασίας είναι απαραίτητη η εφαρμογή της φασματοσκοπίας πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (LIBS) στην ανίχνευση και ποσοτικό προσδιορισμό μεταλλικών ιόντων σε εκνεφώματα υδατικών διαλυμάτων που παράγονται από πνευματικό εκνεφωτή που χρησιμοποιείται στη φασματομετρία μάζας. Η ευαισθησία και η ακρίβεια του ποσοτικού προσδιορισμού της τεχνικής LIBS είναι ο παράγοντας που καθορίζει κατά πόσο είναι εφικτός ο συνδυασμός των δύο τεχνικών καθώς τα όρια ανίχνευσης της τεχνικής SSI-MS είναι της τάξης των $\mu\text{g/mL}$ για μεγαλομόρια όπως οι πρωτεΐνες.

Γενικότερα μελετήθηκαν και βελτιστοποιήθηκαν οι παράγοντες που υπεισέρχονται και επηρεάζουν την ευαισθησία της τεχνικής LIBS. Κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς για τα στοιχεία που μελετήθηκαν στις βέλτιστες συνθήκες μέτρησης και πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης. Στη συνέχεια έγινε ποσοτικός προσδιορισμός των μεταλλικών ιόντων που περιέχονται σε υδατικά διαλύματα μεταλλοπρωτεϊνών γνωστής περιεκτικότητας με την τεχνική LIBS, ενώ παράλληλα έγινε προσδιορισμός του μοριακού βάρους με την τεχνική SSI-MS.

4.1. Φωτοαποδόμηση του αέρα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ

Η ενέργεια του παλμού λέιζερ είναι μια από τις σημαντικότερες παραμέτρους που υπεισέρχεται στις μετρήσεις καθώς επηρεάζει τη θερμοκρασία, την ηλεκτρονική πυκνότητα και τη μάζα του υλικού που θα μεταφερθεί στο πλάσμα. Η ενέργεια του παλμού που θα χρησιμοποιηθεί σε ένα πείραμα LIBS εξαρτάται από τις απαιτήσεις κάθε μέτρησης, γενικά η ευαισθησία της τεχνικής εξαρτάται από τη μάζα του υλικού που θα μεταφερθεί στο πλάσμα.

Για να διερευνηθεί η επίδραση της ενέργειας του παλμού λέιζερ στο σχηματισμό πλάσματος πραγματοποιήθηκε μελέτη της εκπομπής από την κατάσταση 4S στην κατάσταση 4P (βλ. Πίνακα 2.1) των ουδετέρων ατόμων αζώτου κατά τη δημιουργία πλάσματος στον εργαστηριακό αέρα. Οι παράμετροι των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν είναι οι ακόλουθες: $\tau_D=2$ μs , $\tau_G=1$ μs και διατηρήθηκαν σταθερές. Το εύρος τιμών ενεργειών ανά παλμό λέιζερ κυμαίνεται από 10 mJ έως 200 mJ. Στο Σχήμα 4.1 παρουσιάζεται η εξάρτηση του σήματος LIBS συναρτήσει της ενέργειας του παλμού λέιζερ.



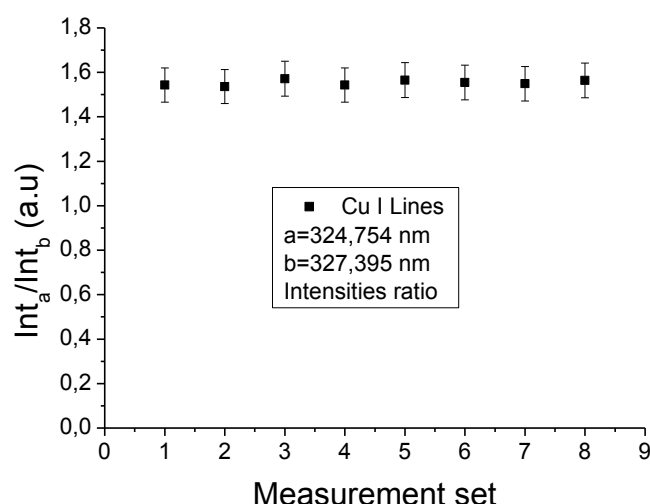
Σχήμα 4.1. Εξάρτηση της έντασης της εκπομπής των ατόμων N στο πλάσμα που δημιουργείται στον ατμοσφαιρικό αέρα από την ενέργεια του παλμού λέιζερ.

Με βάση τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούμε να συμπεράνουμε ότι σε τιμές ενέργειας της τάξης των 200 mJ η εκπομπή από τα άτομα του αζώτου παρουσιάζει μέγιστο οπότε επιτυγχάνεται υψηλότερη ευαισθησία. Επίσης είναι εμφανής η ύπαρξη ενός κατωφλίου ($E_{thr} \sim 10$ mJ) άνω του οποίου είναι εφικτός ο σχηματισμός πλάσματος. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνιστούν τη χρήση παλμών ενέργειας της τάξης των 200 mJ για τη δημιουργία πλάσματος έτσι ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη δυνατή ευαισθησία.

4.2. Σταθερότητα σήματος LIBS

Η σταθερότητα του καταγραφόμενου σήματος καθορίζει την επαναληψιμότητα και αξιοπιστία της τεχνικής. Παράγοντες που επηρεάζουν τη σταθερότητα του σήματος σχετίζονται με την ενέργεια του παλμού λέιζερ, την ομοιογένεια και τις φυσικοχημικές ιδιότητες του στόχου. Η διακύμανση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί σε μεταβολές στη σύσταση και τη θερμοκρασία του πλάσματος. Η μεταβολή της θερμοκρασίας προκαλεί μεταβολή των σχετικών εντάσεων των φασματικών γραμμών όπως περιγράφεται από την κατανομή Boltzmann. Η διακύμανση της ποσότητας του δείγματος που μεταφέρεται στο δημιουργούμενο πλάσμα προκαλεί μεταβολή στην ένταση φασματικών των γραμμών που οφείλεται στη μεταβολή του συνολικού πληθυσμού των ατόμων στο πλάσμα. Είναι αδύνατον να διαχωριστεί η συνεισφορά κάθε παράγοντα επειδή δρουν αθροιστικά, κατά συνέπεια η αβεβαιότητα που προκαλείται στις μετρήσεις εισάγει σφάλματα που επηρεάζουν την ακρίβεια της τεχνικής στην ποσοτική χημική ανάλυση.

Η εξάρτηση του σήματος LIBS από τη θερμοκρασία του πλάσματος αλλά και από το συνολικό πληθυσμό των ατόμων του αναλύτη στο πλάσμα μπορεί να εξαλειφθεί όταν μελετηθεί ο λόγος ατομικών γραμμών εκπομπής που προέρχονται από την ίδια αρχική κατάσταση ή γραμμών εκπομπής που περιγράφουν καταστάσεις η ενέργεια των οποίων διαφοροποιείται λόγω σύζευξης σπιν-τροχιάς επειδή είναι παραπλήσιες ενεργειακά. Ο λόγος των εντάσεων τέτοιων φασματικών γραμμών οφείλει να είναι σταθερός σε κάθε περίπτωση. Η οποιαδήποτε διακύμανση του λόγου σχετίζεται με εξωγενείς παράγοντες που υπεισέρχονται σε μία μέτρηση και οδηγούν σε σοβαρά συστηματικά σφάλματα.



Σχήμα 4.2. Λόγος των φασματικών γραμμών που αντιπροσωπεύουν τις μεταβάσεις μεταξύ των φασματοσκοπικών όρων 2P και 2S των ουδετέρων ατόμων του χαλκού.

Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν οι γραμμές εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του χαλκού που περιγράφουν τις μεταβάσεις από τα ενεργειακά επίπεδα της κατάστασης $(4p)^1 ({}^2P_{1/2})$ και $(4p)^1 ({}^2P_{3/2})$ στην κατάσταση $(4s)^1 ({}^2S_{1/2})$ (βλ. Πίνακα 2.1). Οι παράμετροι των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή της μελέτης είναι οι ακόλουθες: Συγκέντρωση ιόντων χαλκού: 1×10^{-4} M, $\tau_D=20$ μ s, $\tau_G=100$ μ s, Ενέργεια: 200 mJ, $d = 2$ mm, $h = 2$ mm. Στο Σχήμα 4.2 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα των μετρήσεων, όπου κάθε σημείο του διαγράμματος αντιπροσωπεύει τη μέση τιμή 5 σετ των 200 φασμάτων.

Η σχετική τυπική απόκλιση κάθε μέτρησης του Σχήματος 4.2 είναι της τάξης του 5 % ενώ η τυπική απόκλιση των διαδοχικών σετ μετρήσεων είναι της τάξης του 0,8 %. Παρατηρούμε ότι οι μετρήσεις παρουσιάζουν υψηλή επαναληψιμότητα. Ο συγκεκριμένος τρόπος καταγραφής των φασμάτων οδηγεί στη λήψη φασμάτων με μεγαλύτερο λόγο S/N.

4.3. Γεωμετρία πειραματικής διάταξης

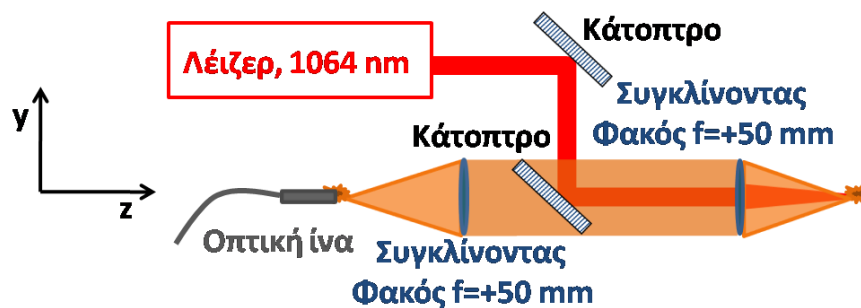
Η γεωμετρία της πειραματικής διάταξης αναφέρεται σε όλες τις γεωμετρικές παραμέτρους που υπεισέρχονται στην πειραματική διάταξη και επηρεάζουν το αποτέλεσμα των μετρήσεων. Οι παράμετροι αυτές σχετίζονται με την γωνία απεικόνισης του πλάσματος ως προς τον άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ, την απόσταση d του ακροφύσιου του εκνεφωτή από τη θέση δημιουργίας πλάσματος, καθώς και με τη σχετική θέση του άξονα ψεκασμού ως προς το φακό εστίασης. Η επίδραση κάθε παραμέτρου μελετήθηκε και βελτιστοποιήθηκε έτσι ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή ευαισθησία.

4.3.1. Γωνία απεικόνισης πλάσματος

Το πλάσμα που δημιουργείται από την εστίαση μιας δέσμης λέιζερ εμφανίζει κυλινδρική συμμετρία κατά μήκος του άξονα διάδοσης του λέιζερ, χωρίς όμως να υπάρχει χωρική ομοιογένεια ως προς τη σύσταση του. Η ανομοιογένεια αυτή οφείλεται στη χωρική κατανομή της θερμοκρασίας, της ηλεκτρονιακής πυκνότητας και της πυκνότητας των ατόμων και των ιόντων στο πλάσμα και παρουσιάζει σημαντικές διαβαθμίσεις όπου εξελίσσονται με την πάροδο του χρόνου. Όταν το πλάσμα μεταβεί σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας η μεταβολή αυτών των μεγεθών αυτών γίνεται με πιο ομαλό ρυθμό. Όταν το πλάσμα βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας η θερμοκρασία και η σύσταση του παρουσιάζουν ομοιογένεια σε όλη την έκταση του. Το πλάσμα όμως δεν είναι στατικό αλλά συνεχώς εκτονώνεται αυξάνοντας τον όγκο του. Κατά τη διαδικασία της εκτόνωσης υπάρχει μη αντιστρεπτή μεταφορά μάζας από τον πυρήνα του πλάσματος προς τα εξωτερικά στρώματα προκαλώντας μείωση της ομοιογένειας [59].

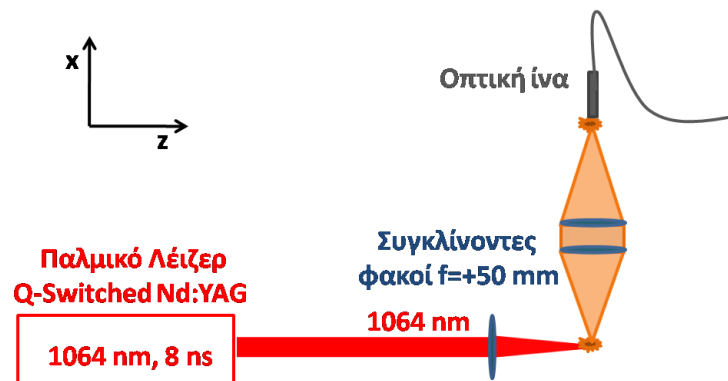
Η απεικόνιση του πλάσματος μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε κάθετα ως προς τον άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ είτε κατά μήκος αυτού. Η απεικόνιση του πλάσματος σε οποιαδήποτε γωνία κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης παρέχει ισοδύναμη πληροφορία λόγω της κυλινδρικής συμμετρίας του πλάσματος.

Για την απεικόνιση του πλάσματος κατά μήκος του άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ χρησιμοποιείται συγκεντρωτικός φακός που τοποθετείται πίσω από το κάτοπτρο που κατευθύνει τη δέσμη λέιζερ προς το φακό εστίασης όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.1. Ο φακός εστίασης χρησιμοποιείται για την εστίαση του παλμού λέιζερ αλλά και για τη συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα. Η συλλεγόμενη ακτινοβολία διέρχεται μέσα από το κάτοπτρο και εστιάζεται μέσω του συγκλίνοντα φακού εστιακής απόστασης $f=+50\text{ mm}$ στην οπτική ίνα επιτυγχάνοντας 1:1 απεικόνιση του πλάσματος.



Εικόνα 4.1. Απεικόνιση του πλάσματος παράλληλα στον άξονα διάδοσης της δέσμης.

Το βασικό μειονέκτημα που παρουσιάζεται κατά την απεικόνιση του πλάσματος κατά μήκος του άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ είναι η αναπόφευκτη απώλεια ποσοστού της συλλεγόμενης ακτινοβολίας κατά τη διέλευση της μέσα από το κάτοπτρο. Επίσης, επειδή η εκτόνωση του πλάσματος γίνεται παράλληλα στον άξονα διάδοσης της δέσμης, η συλλεγόμενη ακτινοβολία είναι πλούσια σε πληροφορίες σχετικές με το περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος.



Εικόνα 4.2. Απεικόνιση του πλάσματος κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης.

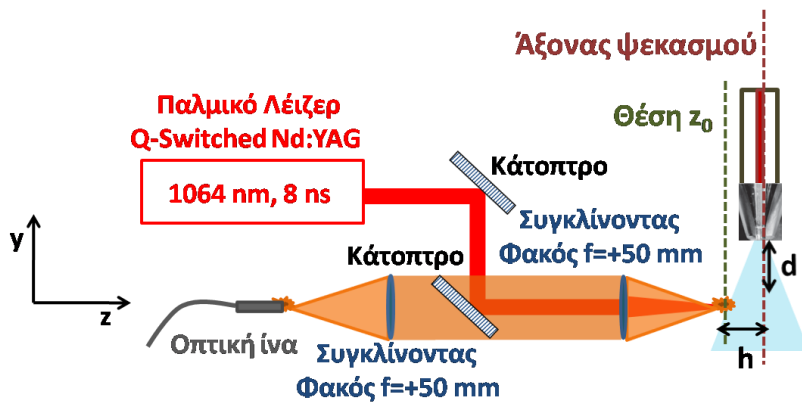
Στη δεύτερη προσέγγιση, η απεικόνιση του πλάσματος γίνεται κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ, από κατάλληλο σύστημα συγκεντρωτικών φακών (τηλεσκόπιο). Η εστιακή απόσταση των φακών που χρησιμοποιούνται για την απεικόνιση είναι $f=+50$ mm, έτσι ώστε να επιτυγχάνεται 1:1 απεικόνιση του πλάσματος. Στην Εικόνα 4.2 φαίνεται σχηματικό διάγραμμα της πειραματικής διάταξης.

Η απεικόνιση κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ προτιμήθηκε επειδή παρέχει περισσότερους βαθμούς ελευθερίας καθώς επιτρέπει τη χωρική ανάλυση της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα. Επειδή όπως έχει ήδη αναφερθεί η καταγραφή του φάσματος LIBS γίνεται σε καθορισμένο χρονικό διάστημα μετά την άφιξη του παλμού λέιζερ απαιτείται εύρεση της θέσης με τη μεγαλύτερη ευαισθησία. Η εύρεση της βέλτιστης περιοχής απεικόνισης γίνεται σαρώνοντας με την οπτική ίνα το επίπεδο zy. Η επιλογή της κατάλληλης περιοχής γίνεται με βάση την ένταση του σήματος LIBS που καταγράφεται όταν στο πλάσμα υπάρχει συγκεκριμένη ποσότητα του αναλύτη.

4.3.2. Σχετική θέση εκνεφωτή ως προς τη θέση δημιουργίας πλάσματος

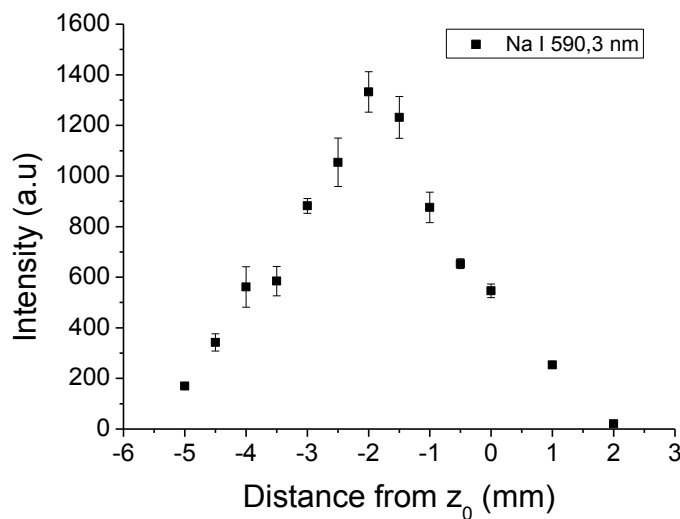
Ο σχηματισμός του πλάσματος είναι εφικτός όταν η πυκνότητα οπτικής ισχύος του παλμού λέιζερ υπερβεί μία τιμή κατωφλίου χαρακτηριστική του υλικού του στόχου. Η δημιουργία πλάσματος είναι εφικτή σε περιοχές πέραν της περιοχής εστίασης της δέσμης όταν η ροή ισχύος είναι υψηλότερη από το κατώφλι δημιουργίας πλάσματος του υλικού. Η χρήση παλμών λέιζερ υψηλής ενέργειας ευνοεί το σχηματισμό πλάσματος πέραν της θέσης εστίασης του φακού. Η απόσταση του εκνεφωτή από το φακό εστίασης καθορίζει το χώρο αλληλεπίδρασης της δέσμης λέιζερ με το αερόλυμα. Η παρουσία σταγονιδίων μειώνει το κατώφλι δημιουργίας του πλάσματος έτσι είναι εφικτός ο σχηματισμός πλάσματος και σε θέσεις εκτός εστίασης.

Για να προσδιοριστεί η βέλτιστη απόσταση του άξονα ψεκασμού από το φακό εστίασης πρέπει να οριστεί η θέση μηδέν (z_0), η οποία είναι το σημείο εστίασης της δέσμης λέιζερ. Στη θέση αυτή η ροή ισχύος είναι η μέγιστη δυνατή για δεδομένη ενέργεια της δέσμης λέιζερ. Όταν η ενέργεια της δέσμης λέιζερ είναι κοντά στην τιμή κατωφλίου ο σχηματισμός πλάσματος συμβαίνει μόνο στη θέση εστίασης, με αυτό τον τρόπο προσδιορίζεται η θέση z_0 . Στην εικόνα 4.4 παρουσιάζεται σχηματικά η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή της μελέτης. Η απεικόνιση του πλάσματος γίνεται κατά μήκος του άξονα διάδοσης της δέσμης λέιζερ.



Εικόνα 4.3. Σχηματική απεικόνιση πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της βέλτιστης απόστασης εκνεφωτή πλάσματος.

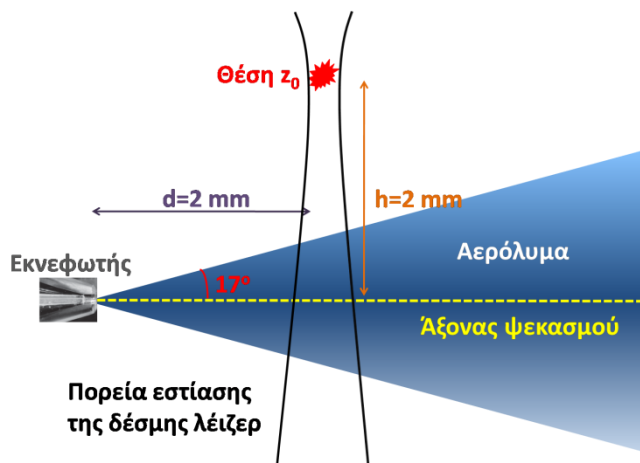
Για τη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα χλωριούχου νατρίου συγκέντρωσης 800 ppm, ενώ οι παράμετροι χρονισμού είναι οι ακόλουθες: $\tau_D = 10 \mu s$, $\tau_G = 20 \mu s$, Ενέργεια: 200 mJ, $d = 2 \text{ mm}$. Στο Σχήμα 4.3 παρουσιάζεται η εξάρτηση του σήματος LIBS από την απόσταση h του άξονα ψεκασμού από τη θέση z_0 . Από τα δεδομένα του Σχήματος 4.3 συμπεραίνουμε ότι υψηλότερο σήμα LIBS καταγράφεται όταν ο εκνεφωτής είναι μετατοπισμένος προς το φακό κατά δύο χιλιοστά από τη θέση z_0 ($h = z_0 - 2 \text{ mm}$).



Σχήμα 4.3. Εξάρτηση σήματος LIBS από τη σχετική θέση του άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή ως προς τη θέση εστίασης της δέσμης λέιζερ.

Στη θέση αυτή ο παλμός λέιζερ αλληλεπιδρά πρώτα με τα σταγονίδια του αερολύματος και στη συνέχεια με τον αέρα στην περιοχή εστίασης όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4.4. Στη συγκεκριμένη θέση το μεγαλύτερο μέρος της ενέργειας καταναλώνεται για τη δημιουργία πλάσματος στα σταγονίδια του αερολύματος. Κατά την απομάκρυνση του εκνεφωτή από το φακό εστίασης παρατηρείται μείωση του καταγραφόμενου σήματος LIBS.

Η μείωση αυτή είναι αναμενόμενη επειδή στη θέση εστίασης γίνεται σχηματισμός πλάσματος στον αέρα και το εναπομένει μέρος της δέσμης αλληλεπιδρά με τα σταγονίδια του αερολύματος. Επίσης υπάρχει μείωση του όγκου αλληλεπίδρασης της δέσμης λέιζερ με τα σταγονίδια του αερολύματος.



Εικόνα 4.4. Σχηματική απεικόνιση της περιοχής αλληλεπίδρασης του εκνεφώματος με το λέιζερ. Γίνεται αναπαράσταση του σχήματος του εκνεφώματος καθώς και της πορείας εστίασης του λέιζερ σε κλίμακα.

Με βάση τα παραπάνω για τη διεξαγωγή μετρήσεων η βέλτιστη απόσταση του εκνεφωτή από το φακό εστίασης είναι $h \approx 2$ mm. Στη θέση αυτή ο ρυθμός δειγματοληψίας των σταγονιδίων είναι 100 %.

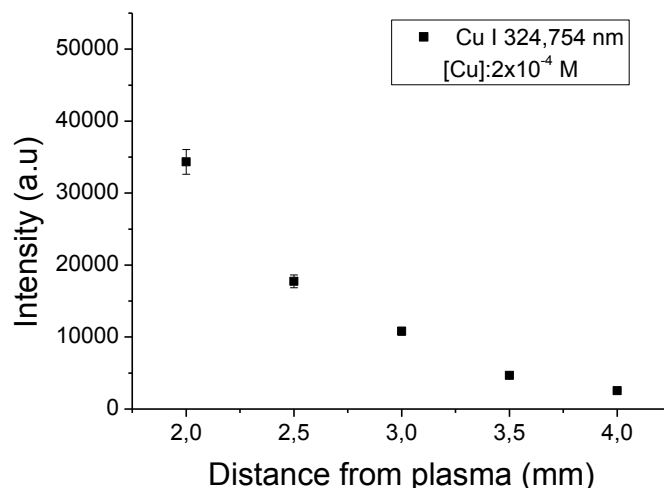
4.3.3. Απόσταση ακροφύσιου εκνεφωτή από το πλάσμα

Το αερόλυμα κατά τη διάδοση του κινούμενο κατά μήκος του άξονα ψεκασμού απλώνεται ομοιόμορφα στο χώρο σχηματίζοντας εκνέφωμα κωνικού σχήματος. Ο εκνεφωτής που χρησιμοποιείται είναι συγκεντρωτικού τύπου, με αποτέλεσμα να διατηρεί τα σταγονίδια στον άξονα ψεκασμού αποτρέποντας το ανεξέλεγκτο άπλωμα του αερολύματος. Η πυκνότητα των σταγονιδίων μειώνεται όσο απομακρυνόμαστε από τον εκνεφωτή κατά μήκος του άξονα ψεκασμού, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.5.

Γίνεται φανερό ότι η βέλτιστη απόσταση του εκνεφωτή από το πλάσμα για τη διεξαγωγή μετρήσεων είναι εκείνη στην οποία η πυκνότητα των σταγονιδίων είναι η μέγιστη δυνατή, δηλαδή δίπλα στο ακροφύσιο του εκνεφωτή, έτσι ώστε η πιθανότητα δειγματοληψίας να είναι μέγιστη. Όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται πολύ κοντά στο πλάσμα γίνεται εναπόθεση στην επιφάνεια του εκνεφωτή διαφόρων μορίων που σχηματίζονται κατά τη ψύξη του πλάσματος με αποτέλεσμα την πιθανή πρόκληση βλάβης. Γίνεται λοιπόν αναγκαία η διεξαγωγή μετρήσεων σε μια απόσταση ασφαλείας η οποία ορίζεται στα $d = 2$ mm. Περιορισμοί στην απόσταση εκνεφωτή-πλάσματος υπεισέρχονται και από τη

γεωμετρία στο φασματόμετρο μάζας επειδή ο διαθέσιμος χώρος μεταξύ του εκνεφωτή και της εισόδου στο φασματόμετρο μάζας είναι της τάξης των 5 mm.

Στο Σχήμα 4.4 φαίνεται η εξάρτηση του σήματος εκπομπής LIBS συναρτήσει της απόστασης του πλάσματος από τον εκνεφωτή. Η απόσταση του φακού εστίασης από τον εκνεφωτή διατηρείται σταθερή, $h = z_0 - 2$ mm πριν τη θέση εστίασης του παλμού λέιζερ. Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα ιόντων χαλκού σε συγκέντρωση $C = 2,0 \times 10^{-4}$ M.



Σχήμα 4.4. Εξάρτηση σήματος LIBS συναρτήσει της απόστασης εκνεφωτή πλάσματος με βάση την γραμμή εκπομπής του χαλκού στα 324,754 nm.

Παρατηρείται ότι στο εύρος των αποστάσεων που μελετήθηκαν υπάρχει ισχυρή εξάρτηση του σήματος LIBS από την απόσταση εκνεφωτή-πλάσματος. Η συμπεριφορά αυτή οφείλεται στα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του εκνεφώματος το οποίο όπως έχει ήδη αναφερθεί έχει κωνικό σχήμα. Η αύξηση της απόστασης από τον εκνεφωτή ακολουθείται από αύξηση του συνολικού όγκου που «καταλαμβάνεται» από τα σταγονίδια του εκνεφώματος. Επειδή όμως η ροή των σταγονιδίων που ψεκάζονται από τον εκνεφωτή είναι σταθερή, αύξηση της απόστασης από τον εκνεφωτή οδηγεί σε μείωση της πυκνότητας των σταγονιδίων και συνεπώς σε μείωση του καταγραφόμενου σήματος LIBS. Σημειώνεται επίσης ότι η δημιουργία του πλάσματος δεν λαμβάνει χώρα σε όλο το εύρος του αερολύματος αλλά σε ένα τμήμα αυτού. Το αποτέλεσμα της μελέτης συνιστά την τοποθέτηση του εκνεφωτή σε απόσταση $d=2$ mm κάθετα στον άξονα διάδοσης του λέιζερ (βλ. Εικόνα 4.4) από τη θέση σχηματισμού του πλάσματος.

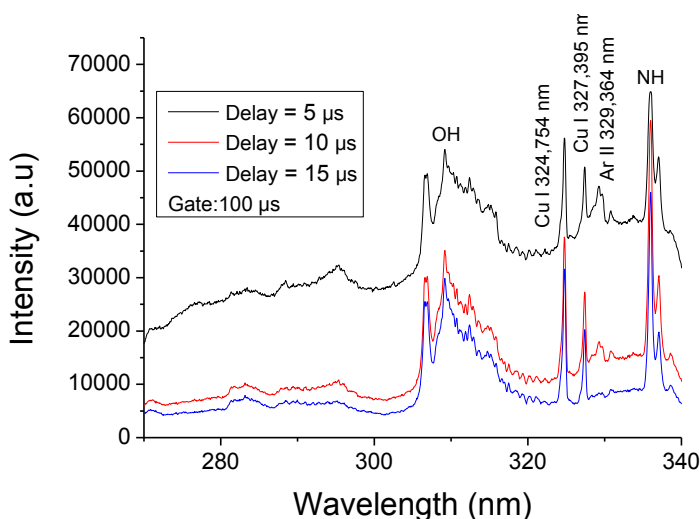
4.4. Χρονική εξέλιξη εκπομπής πλάσματος

Η γνώση της χρονικής εξέλιξης της εκπεμπόμενης από το πλάσμα ακτινοβολίας είναι απαραίτητη για τη διεξαγωγή αξιόπιστων και επαναλήψιμων μετρήσεων. Η μελέτη

αυτή καθορίζει τη βέλτιστη τιμή του χρόνου αναμονής (τ_D) καθώς και του χρόνου ολοκλήρωσης (τ_G) που χρησιμοποιούνται στις μετρήσεις.

Ένας βασικός παράγοντας που υπεισέρχεται και κάνει σημαντικό τον καθορισμό του χρονικού παραθύρου κάθε μέτρησης είναι η ακτινοβολία πέδησης, η οποία στην τεχνική LIBS θεωρείται ως ακτινοβολία υποβάθρου. Η ακτινοβολία πέδησης εξαρτάται ισχυρά από την ενέργεια του παλμού λέιζερ και το μηχανισμό δημιουργίας του πλάσματος και είναι πολύ έντονη στα πρώτα στάδια της σχηματισμού του πλάσματος. Υψηλές τιμές έντασης της ακτινοβολίας πέδησης φανερώνουν ότι το πλάσμα έχει πολύ υψηλή ηλεκτρονιακή πυκνότητα με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα να μη βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας. Οι συνθήκες αυτές είναι ακατάλληλες για τη διεξαγωγή ποσοτικών επειδή το πλάσμα δεν είναι οπτικά λεπτό, υπάρχει έντονη διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark των γραμμών εκπομπής όπου σε συνδυασμό με την υψηλή ένταση της ακτινοβολίας πέδησης μειώνουν την ευκρίνεια των φασματικών γραμμών. Γενικά στις συνθήκες αυτές ο λόγος του σήματος προς το υπόβαθρο είναι χαμηλός ($S/B < 3$) επειδή υπερισχύει η ακτινοβολία υποβάθρου.

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής από το πλάσμα παρουσία ιόντων χαλκού σε συγκέντρωση $C = 1 \times 10^{-4}$ M στη βέλτιστη θέση καταγραφής όπως έχει οριστεί παραπάνω. Τυπικά φάσματα LIBS παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.5.

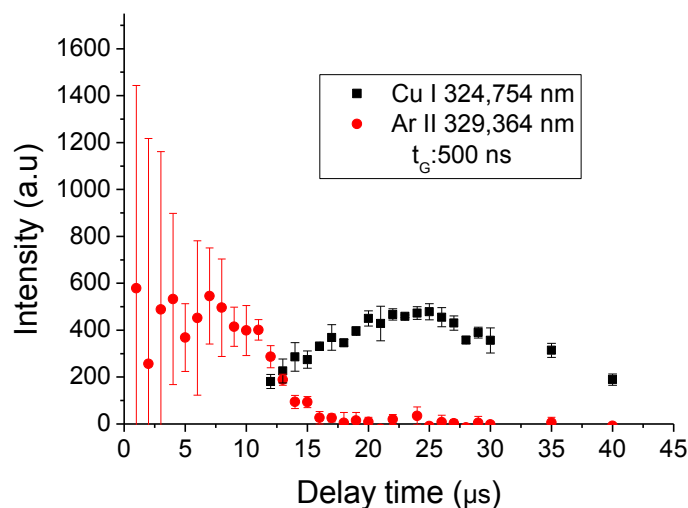


Σχήμα 4.5. Τυπικά φάσματα LIBS που έχουν ληφθεί σε $\tau_D = 5 \mu s$, $10 \mu s$ και $15 \mu s$ με $\tau_G = 100 \mu s$.

Οι παράμετροι των μετρήσεων στη συγκεκριμένη μελέτη είναι οι ακόλουθες: $\tau_G = 500$ ns/100 μs, Gain: 200, $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, Ενέργεια: 200 mJ/ παλμό, Kinetic series: 3 - Accumulate: 200. Στο Σχήμα 4.6 παρουσιάζεται η εξάρτηση του σήματος εκπομπής από ατομικά ιόντα αργού και ουδέτερα άτομα χαλκού συναρτήσει του χρόνου καθυστέρησης με

$\tau_G=500$ ns. Παρατηρούμε ότι εκπομπή από τα ιόντα αργού εμφανίζεται σε $\tau_D= 5$ μ s ενώ η εκπομπή από τα ουδέτερα άτομα χαλκού εμφανίζεται σε $\tau_D= 12$ μ s.

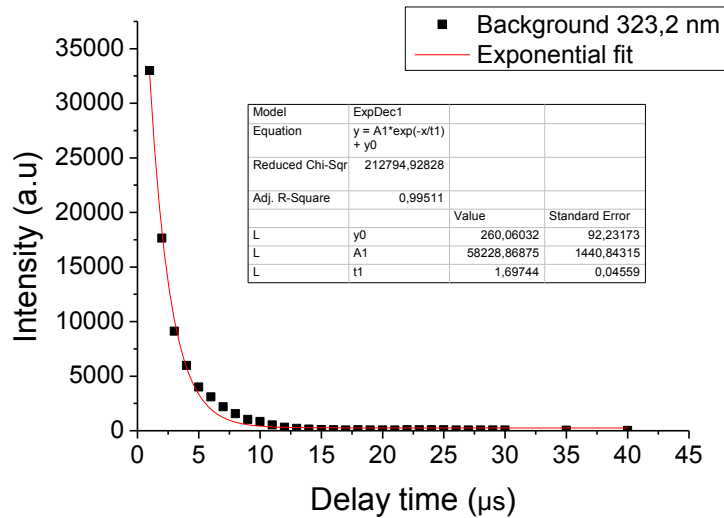
Η απουσία των γραμμών εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του χαλκού σε χρόνο τ_D μικρότερο των 12 μ s υποδηλώνει ότι η θερμοκρασία και η πυκνότητα του πλάσματος είναι αρκετά υψηλή το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα με αποτέλεσμα να μην ευνοείται η εκπομπή από ουδέτερα άτομα.



Διάγραμμα 4.6. Χρονική εξέλιξη της γραμμής εκπομπής του χαλκού στα 324,754 nm.

Το χρονικό διάστημα από $\tau_D= 12$ μ s έως $\tau_D= 25$ μ s παρατηρείται σταδιακή αύξηση στην ένταση της εκπομπής από τα ουδέτερα άτομα χαλκού που υποδηλώνει το ρυθμό που μειώνεται η θερμοκρασία και η πυκνότητα του πλάσματος. Η παρατηρούμενη αύξηση στην ένταση της εκπομπής από τα ιόντα χαλκού οφείλεται στην αύξηση του πληθυσμού των ουδετέρων ατόμων, ο οποίος εξαρτάται από το ρυθμό που λαμβάνουν χώρα οι διαδικασίες επανασύνδεσης των ηλεκτρονίων με τα ατομικά ιόντα. Η ένταση της εκπομπής των ουδετέρων ατόμων χαλκού εμφανίζει μέγιστο περίπου σε $\tau_D= 25$ μ s, ενώ στη συνέχεια παρουσιάζει βαθμιαία πτώση που οφείλεται στη ραγδαία μείωση της θερμοκρασίας η οποία πλέον δεν επαρκεί για επαρκή διέγερση του συνολικού πληθυσμού των ατόμων χαλκού.

Στο Σχήμα 4.7 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της ακτινοβολίας πέδησης (φαινόμενο Bremsstrahlung). Παρατηρούμε ότι η εκπομπή παρουσιάζει εκθετική πτώση και για $\tau_D = 15$ μ s έχει σχεδόν μηδενιστεί η ένταση της στην συγκεκριμένη περιοχή μηκών κύματος που μελετήθηκε όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.5. Εάν θεωρήσουμε ότι η εκπομπή λόγω φαινομένου Bremsstrahlung ακολουθεί κινητική πρώτης ή ψευδοπρώτης τάξης και με βάση προσαρμογή της καμπύλης $I(t)$ σε εκθετική συνάρτηση ($I_t=I_0e^{-t/\tau}$), είναι εφικτό να εκτιμήσουμε ότι ο χρόνος ζωής της εκπομπής συνεχούς είναι περίπου $\tau_B = 1,7$ μ s.



Σχήμα 4.7. Χρονική εξέλιξη της ακτινοβολίας πέδησης (υποβάθρο).

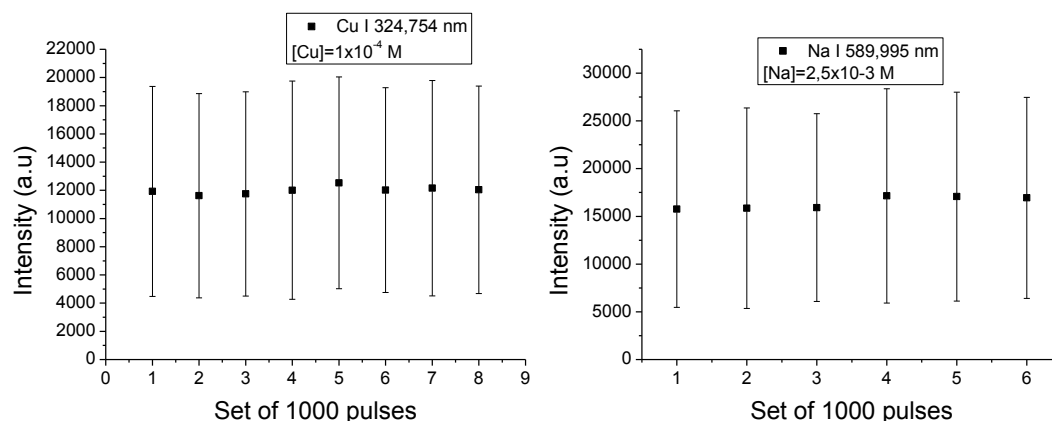
Η ευαισθησία της τεχνικής LIBS εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις παραμέτρους χρονισμού του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Η χρήση ενός χρονικού παράθυρου συλλογής υψηλής διάρκειας επιτρέπει την παρακολούθηση ολόκληρου του φαινομένου με αποτέλεσμα να παρουσιάζει υψηλότερη ευαισθησία. Με βάση τα δεδομένα του Σχήματος 4.6 η τιμή του χρόνου καθυστέρησης (τ_D) για τη διεξαγωγή μετρήσεων ορίζεται στα 20 μs , ενώ η τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης (τ_G) ορίζεται στα 100 μs .

4.5. Χαρακτηρισμός εκνεφωτή

Οι πνευματικοί εκνεφωτές χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή του δείγματος στους πυρσούς επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος, ICP (Inductively Coupled Plasma). Τα σταγονίδια που ψεκάζονται από τους εκνεφωτές αυτού του τύπου δεν είναι όλα του ίδιου μεγέθους, αλλά παρουσιάζουν κατανομή ως προς το μέγεθος τους. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της κατασκευής ενός εκνεφωτή είναι εκείνα που καθορίζουν το μέγεθος των σταγονιδίων που παράγονται. Ένας πυρσός ICP μπορεί να εκμεταλλευτεί πλήρως σωματίδια με διάμετρο 10 μm ή μικρότερη, με αποτέλεσμα η γεωμετρία του εκνεφωτή να βελτιστοποιείται έτσι ώστε να δημιουργούνται κυρίως σταγονίδια διαμέτρου της τάξης των 10 μm [57].

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε υδατικά διαλύματα ιόντων νατρίου και χαλκού σε συγκεντρώσεις $2,5 \times 10^{-3}$ M και 1×10^{-4} M αντίστοιχα. Κάθε μέτρηση αποτελείται από μια ακολουθία 1000 φασμάτων και κάθε φάσμα LIBS αντιστοιχεί σε ένα μεμονωμένο γεγονός δημιουργίας πλάσματος (Single-Shot). Οι παράμετροι των μετρήσεων για τη συγκεκριμένη μελέτη είναι οι ακόλουθες: $\tau_D = 20 \mu\text{s}$, $\tau_G = 50 \mu\text{s}$, Gain: 200, $d = 2 \text{ mm}$, $h = 2 \text{ mm}$, Ενέργεια: 200 mJ. Οι μετρήσεις παρουσίασαν τεράστια σχετική τυπική απόκλιση της τάξης του 60%

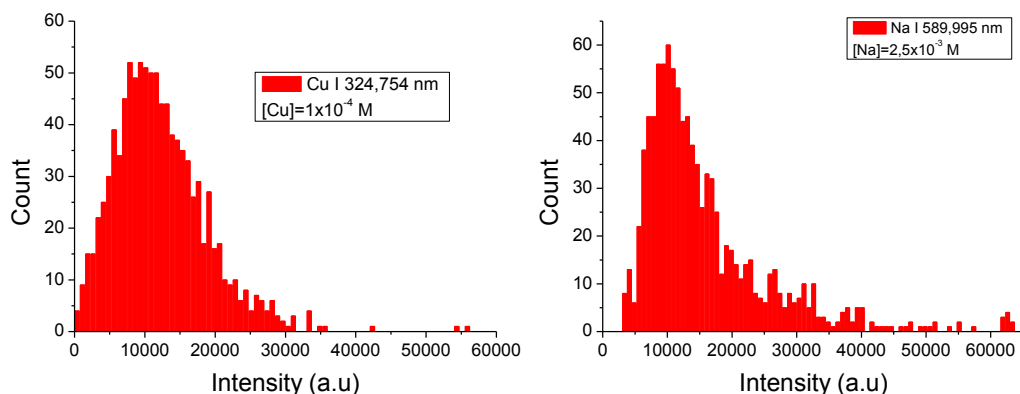
όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.8. Η τυπική απόκλιση κάθε σει μετρήσεων είναι ιδιαίτερα υψηλή όμως παρατηρείται σταθεροποίηση της μέσης τιμής. Η σχετική τυπική απόκλιση της μέσης τιμής των διαδοχικών σει μετρήσεων είναι της τάξης του 5%. Η μεγάλη τυπική απόκλιση που εμφανίζει κάθε σει μετρήσεων οφείλεται στη δειγματοληψία σταγονιδίων διαφορετικού μεγέθους. Η ποσότητα σε mol (n) των ατόμων του αναλύτη σε κάθε σωματίδιο είναι ανάλογη του όγκου του σωματιδίου ($n=CV$) που είναι συνάρτηση του μεγέθους του σταγονιδίου ($V=\pi d^3/6$ όπου d η διάμετρος του σταγονιδίου).



Σχήμα 4.8. Μετρήσεις πρότυπων διαλυμάτων Cu και Na συγκέντρωσης 1×10^{-4} M και $2,5 \times 10^{-3}$ M αντίστοιχα.

Η σταθερότητα που εμφανίζει η μέση τιμή διαδοχικών σει μετρήσεων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι σε κάθε μέτρηση ο όγκος των σταγονιδίων που μετράται παραμένει σταθερός, με αποτέλεσμα το μέσο σήμα που καταγράφεται να είναι αντιπροσωπευτικό της συγκέντρωσης του αναλύτη στο διάλυμα.

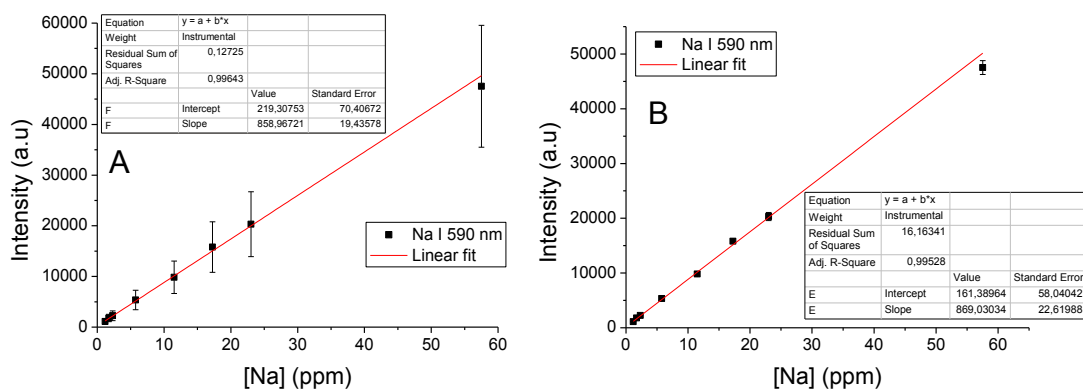
Τα ιστογράμματα που παρουσιάζονται στο Σχήμα 4.9 φανερώνουν τη συχνότητα εμφάνισης τιμών του μετρούμενου σήματος για τους δύο αναλύτες. Παρατηρείται ότι η κατανομή του σήματος μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά με την καμπύλη Gauss. Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα σταγονίδια που ψεκάζονται από εκνεφωτές αυτού του τύπου παρουσιάζουν κατανομή ως προς το μέγεθος τους. Θεωρώντας ότι κάθε παλμός λέιζερ αλληλεπιδρά με ένα μόνο σταγονίδιο η κατανομή της έντασης που μετράται οφείλεται στη δειγματοληψία σωματιδίων διαφορετικού μεγέθους και η ουρά που εμφανίζεται στα ιστογράμματα περιγράφει την ενδεχόμενη δειγματοληψία πολλαπλών σταγονιδίων.



Σχήμα 4.9. Ιστογράμματα που φανερώνουν τη συχνότητα εμφάνισης της τιμής της έντασης της γραμμής εκπομπής του χαλκού στα 324,754 nm και του νατρίου στα 590 nm αντίστοιχα.

Στις συνθήκες που επιλέγονται για τη διεξαγωγή των μετρήσεων ο ρυθμός δειγματοληψίας είναι 100%, οπότε η πιθανότητα δειγματοληψίας πολλαπλών σταγονιδίων αυξάνει.

Από τη μέτρηση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων νατρίου είναι δυνατή η κατασκευή καμπύλης αναφοράς με βάση τη μέση μετρούμενη ένταση των γραμμών εκπομπής των ατόμων νατρίου στα 588,995 nm και 589,592 nm, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.11. Οι παράμετροι των μετρήσεων για τη συγκεκριμένη μελέτη είναι οι ακόλουθες: $\tau_D = 20 \mu s$, $\tau_G = 50 \mu s$, Gain: 200, $d = 2 \text{ mm}$, $h = 2 \text{ mm}$, Ενέργεια: 200 mJ. Στο Σχήμα 4.10 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς που καταρτίζεται με βάση τη μέση τιμή 1000 φασμάτων.



Σχήμα 4.10. Καμπύλη αναφοράς Na με βάση την γραμμή εκπομπής στα 590 nm για ένα εύρος συγκεντρώσεων από 1-60 ppm, α) κάθε σημείο στην καμπύλη είναι αποτέλεσμα μέσου όρου 1000 φασμάτων, β) κάθε σημείο στην καμπύλη είναι αποτέλεσμα μέσου όρου 5 μετρήσεων όπου κάθε μέτρηση αποτελεί το μέσο όρο 200 φασμάτων.

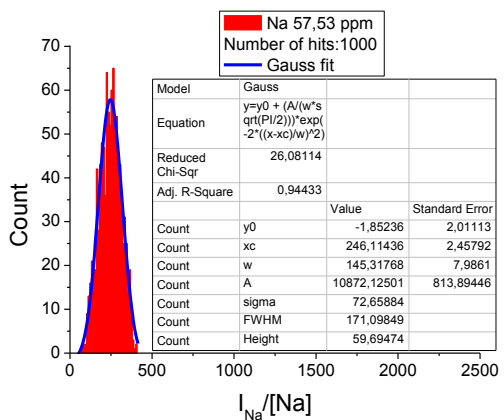
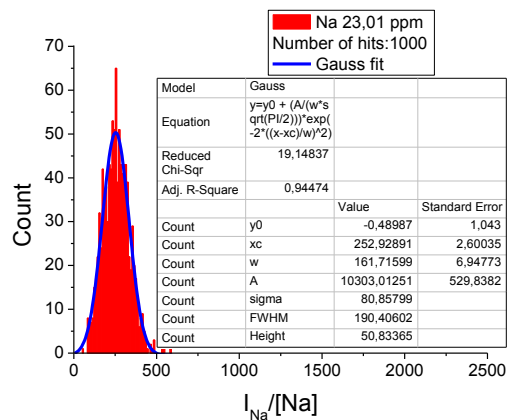
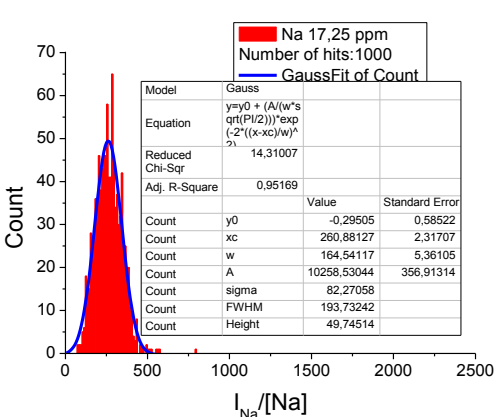
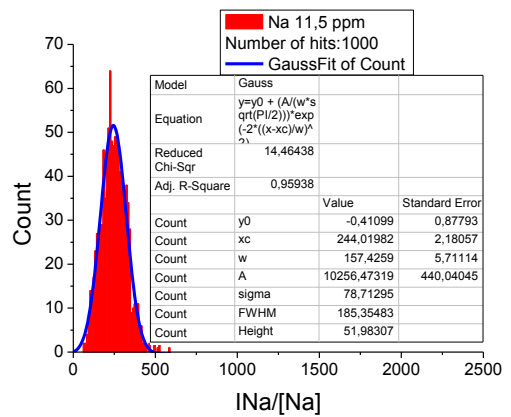
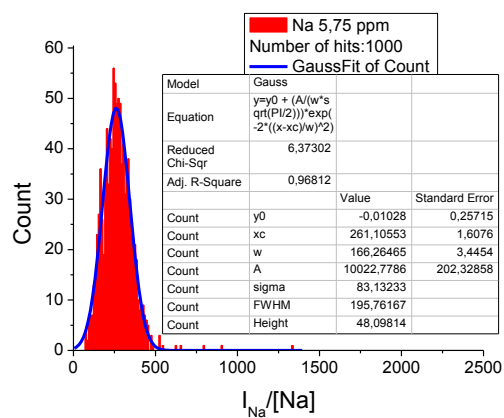
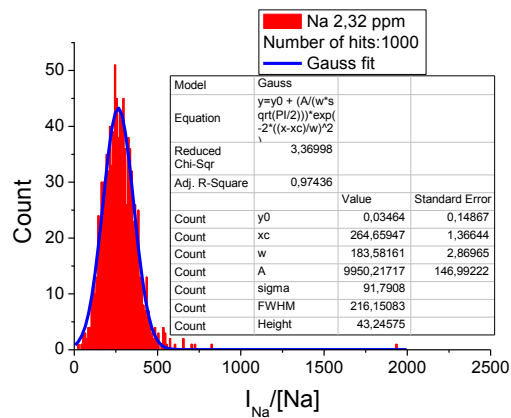
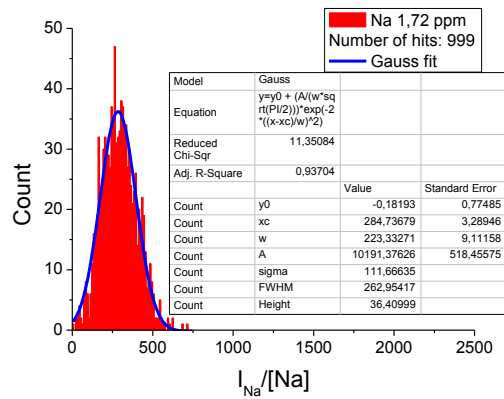
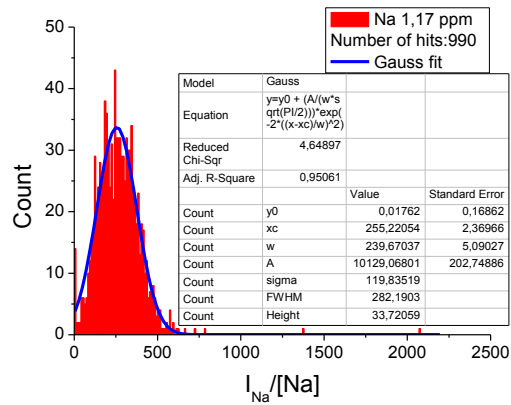
Η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς είναι πολύ ικανοποιητική δεδομένης της υψηλής τυπικής απόκλισης που εμφανίζουν οι μετρήσεις. Επιλέγοντας ένα διαφορετικό πρωτόκολλο επεξεργασίας των δεδομένων, δηλαδή χρήση της μέσης τιμής διαδοχικών σετ

μετρήσεων 200 φασμάτων είναι εφικτή η μείωση της τυπικής απόκλισης κάθε μέτρησης όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω.

Εάν θεωρηθεί ότι η ένταση της εκπομπής από τα άτομα του νατρίου είναι ανάλογη του πληθυσμού των ατόμων στη διεγερμένη κατάσταση που εκτελούν τη μετάβαση $I_{Na} \sim N_{δ_{IEY}}$. Ο πληθυσμός των ατόμων του νατρίου στη διεγερμένη κατάσταση είναι ανάλογος του συνολικού πληθυσμού των ατόμων του νατρίου στο πλάσμα και υπολογίζεται μέσω της κατανομής Boltzmann. Η συγκέντρωση ενός διαλύματος δίνεται από τη σχέση $C=n/V$ όπου n ο αριθμός των mole της ουσίας και V ο όγκος του διαλύματος. Λύνοντας την εξίσωση ως προς τον όγκο και θεωρώντας ότι η ένταση της εκπομπής είναι αντιπροσωπευτική του συνολικού πληθυσμού των ατόμων του νατρίου στο πλάσμα και κατ'επέκταση στο διάλυμα ($I_{Na} \sim N_{δ_{IEY}} \sim n$), τότε ο λόγος I_{Na}/C είναι ανάλογος του όγκου. Στο Σχήμα 4.11 φαίνονται τυπικά ιστογράμματα του λόγου I_{Na}/C των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς που παρουσιάστηκε στο Σχήμα 4.10.

Παρατηρείται ότι η κατανομή του λόγου I_{Na}/C είναι σταθερή και ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του νατρίου. Με βάση την υπόθεση ύπαρξης ενός σταγονιδίου στο πλάσμα η κατανομή του λόγου I_{Na}/C είναι αντιπροσωπευτική της κατανομής του όγκου των σταγονιδίων και συνεπώς του μεγέθους τους ($V=\pi d^3/6$ όπου d η διάμετρος του σταγονιδίου).

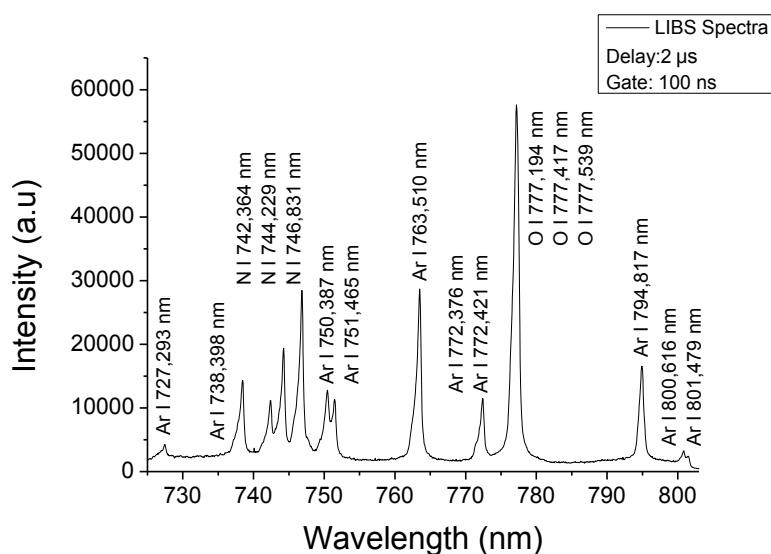
Η ευαισθησία της τεχνικής LIBS καθορίζεται σε μεγάλο βαθμό από τη συγκέντρωση του αναλύτη στο πλάσμα, η οποία στη συγκεκριμένη περίπτωση εξαρτάται από τον όγκο του σταγονιδίου που βρίσκεται στην περιοχή εστίασης. Εάν θεωρήσουμε ότι πραγματοποιείται δειγματοληψία σταγονιδίων διαμέτρου $d = 10 \mu m$, η μάζα του νατρίου που περιέχεται σε ένα σταγονίδιο είναι της τάξης του $1,2 \text{ fg } 1 \times 10^{-6} \text{ M}$ όταν η συγκέντρωση του νατρίου στο διάλυμα είναι $C = 1 \times 10^{-4} \text{ M}$.



Σχήμα 4.11. Ιστογράμματα που φανερώνουν την κατανομή του λόγου του σήματος εκπομπής της γραμμής του Na στα 590 nm προς τη συγκέντρωση των ιόντων νατρίου στο διάλυμα. Κάθε ιστόγραμμα προκύπτει από τη μέτρηση διαλύματος ιόντων νατρίου διαφορετικής συγκέντρωσης.

4.6. Φέρον αέριο

Το πλάσμα που δημιουργείται από την εστίαση του παλμού λέιζερ επηρεάζεται σημαντικά από το είδος και την πίεση του αερίου που το περιβάλλει. Στην παρούσα εργασία ως φέρον αέριο στον πνευματικό εκνεφωτή χρησιμοποιήθηκε το αργό. Κατά την εκνέφωση γίνεται εκτόνωση του αργού σε ατμοσφαιρικές συνθήκες με αποτέλεσμα να υπάρχει ανάμιξη του με τον ατμοσφαιρικό αέρα. Η παρουσία αργού στο περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος προκαλεί αύξηση στην ένταση των γραμμών εκπομπής άρα και στην ευαισθησία της τεχνικής LIBS. Η ικανότητα εκμετάλλευσης των σταγονιδίων του αερολύματος αυξάνει σε περιβάλλον αργού λόγω της μεγάλης ενεργού διατομής κρούσης. Το αποτέλεσμα αυτής της αλληλεπίδρασης είναι η δημιουργία πλάσματος με υψηλότερη θερμοκρασία και ηλεκτρονιακή πυκνότητα (βλ. 2.4.5). Η αύξηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πλάσματος συμβάλλει σημαντικά στην επιμήκυνση του χρόνου ζωής του πλάσματος αλλά ταυτόχρονα οδηγεί σε διαπλάτυνση των γραμμών εκπομπής, που οφείλεται στην αύξηση της ισχύος του φαινομένου Stark.



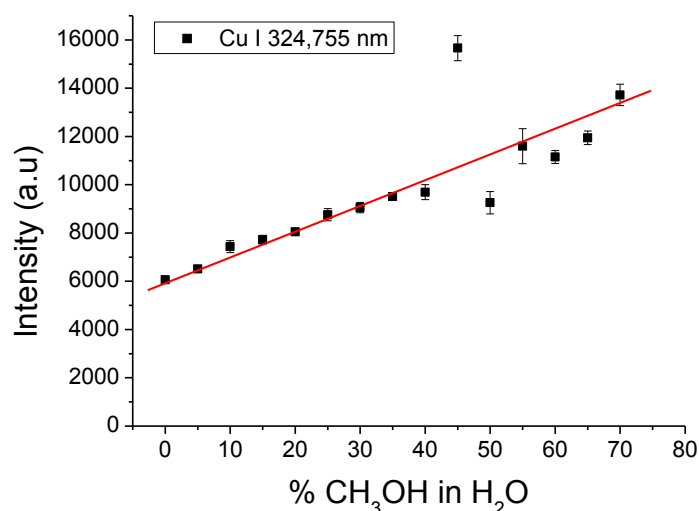
Σχήμα 4.12. Τυπικό φάσμα LIBS με τον εκνεφωτή σε λειτουργία όπου παρουσιάζονται οι ατομικές γραμμές εκπομπής του αργού (Ar), του αζώτου (N) και του οξυγόνου (O).

Επειδή η δημιουργία του πλάσματος δεν λαμβάνει χώρα σε ένα κλειστό θάλαμο, όπου το περιβάλλον είναι απόλυτα ελεγχόμενο, αλλά σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, στο πλάσμα υπάρχει συνεισφορά και από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Στο Σχήμα 4.12 παρουσιάζεται τυπικό φάσμα LIBS στο οποίο είναι εμφανείς οι ατομικές γραμμές εκπομπής του αργού, του αζώτου και του οξυγόνου. Σημειώνεται ότι η ασυμμετρία που εμφανίζουν οι γραμμές οφείλεται στη χρωματική εκτροπή του οπτικού συστήματος του φασματογράφου.

4.7. Μελέτη φαινομένων μήτρας

Επειδή ο απώτερος στόχος της εργασίας είναι η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός μεταλλικών ιόντων σε μόρια μεταλλοπρωτεϊνών, έγινε μελέτη της επίδρασης που έχει η παρουσία οργανικού άνθρακα ως συστατικού της μήτρας των διαλυμάτων. Το μεγαλύτερο ποσοστό του βάρους ενός μορίου πρωτεΐνης καταλαμβάνει ο άνθρακας, με αποτέλεσμα τα μεταλλικά ιόντα να βρίσκονται σε μία μήτρα άνθρακα. Για τη μελέτη της επίδρασης της οργανικής μήτρας στην ανίχνευση των μεταλλικών ιόντων παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα καθορισμένης συγκέντρωσης ως προς το μεταλλικό ιόν αλλά μεταβαλλόμενης μήτρας. Η μεταβολή της μήτρας γίνεται μέσω προσθήκης καθορισμένης ποσότητας οργανικού διαλύτη.

Για τη μελέτη αυτή παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα ιόντων χαλκού συγκέντρωσης 5×10^{-4} M σε μήτρα μεθανόλης μεταβλητής συγκέντρωσης.



Σχήμα 4.13. Εξάρτηση του σήματος LIBS των ατόμων χαλκού, με βάση την γραμμή εκπομπής του χαλκού 324,754 nm, συναρτήσει της συγκέντρωσης της μεθανόλης στο διάλυμα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μ s, τ_G : 100 μ s, $d=2$ mm, $h=2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Στο Σχήμα 4.13 παρουσιάζεται η ένταση του σήματος εκπομπής από τα άτομα του χαλκού συναρτήσει της συγκέντρωσης της μεθανόλης στο διάλυμα. Παρατηρούμε ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση της συγκέντρωσης της μεθανόλης με την ένταση της εκπομπής από τα άτομα του χαλκού στο πλάσμα, η οποία έχει αυξητική τάση περίπου κατά ένα παράγοντα του 2 στο όριο των συγκεντρώσεων που μελετήθηκαν. Η αλλαγή της μήτρας του διαλύματος μέσω της προσθήκης μεθανόλης μεταβάλλει το ιξώδες του διαλύματος. Από το νόμο του Poiseuille είναι γνωστό ότι η ροή υγρού με ιξώδες η , που διέρχεται μέσω

ενός κυλινδρικού αγωγού μήκους L και ακτίνας R, όταν υφίσταται μια διαφορά πίεσης ΔP δίνεται από τη σχέση:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi R^4 \Delta P}{8\eta L} \quad (4.1)$$

Επομένως η ροή είναι αντιστρόφως ανάλογη του ιξώδους του διαλύματος. Το ιξώδες του νερού έχει τιμή $8,9 \times 10^{-4}$ Pas, ενώ της μεθανόλης $5,9 \times 10^{-4}$ Pas. Σημειώνεται ότι μελέτες του συστήματος νερό-μεθανόλη έχουν δείξει ότι ανάμιξη των δύο ουσιών οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους του διαλύματος [60] με επακόλουθη μείωση της ροής του. Η μείωση της ροής του διαλύματος οδηγεί σε μείωση της διαθέσιμης μάζας ανά μονάδα χρόνου. Η ποσότητα του αναλύτη στο πλάσμα μειώνεται οπότε το μετρούμενο σήμα LIBS αναμένεται να παρουσιάσει μείωση. Στο Σχήμα 4.13 όμως παρουσιάζεται η αντίστροφη συμπεριφορά με βαθμιαία αύξηση της εκπομπής όταν στο νερό προστίθεται μεθανόλη. Το μίγμα μεθανόλης – νερού (βλ. Πίνακα 4.1) παρουσιάζει μικρότερη ενθαλπία εξάτμισης σε σχέση με αυτή του καθαρού νερού, με αποτέλεσμα να απαιτείται μικρότερο ποσοστό ενέργειας για την εξάτμιση των σταγονιδίων και συνεπώς να αυξάνει η διαθέσιμη ενέργεια για τη διέγερση των ατόμων του αναλύτη.

Πίνακας 4.1. Ενθαλπία εξάτμισης του μίγματος μεθανόλης νερού. Με x συμβολίζεται το γραμμομοριακό κλάσμα της μεθανόλης στο μίγμα [61].

x	ΔH _v (kJ/mol)	p (kPa)	x	ΔH _v (kJ/mol)	p (kPa)
Μίγμα: (1-x)H₂O + xCH₃OH					
0	40,63	101,68	0,457	40,23	98,13
0,059	41,47	100,07	0,566	39,55	97,08
0,120	41,82	99,99	0,672	38,53	99,35
0,179	42,01	99,17	0,684	38,38	99,35
0,266	41,83	100,19	0,829	37,23	100,23
0,351	41,28	98,86	1	35,30	99,48

4.8. Ανάλυση μεταλλοϊόντων σε υδατικά διαλύματα με την τεχνική LIBS

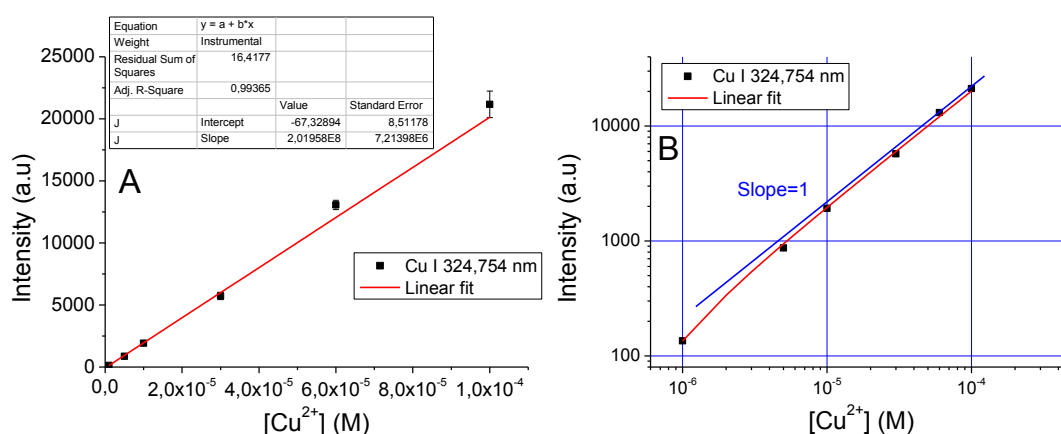
Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλοϊόντων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς, η οποία καταρτίστηκε με βάση την πιο ισχυρή γραμμή εκπομπής κάθε στοιχείου που μελετήθηκε. Η καμπύλη αναφοράς είναι η συνάρτηση που συσχετίζει την ένταση του μετρούμενου σήματος του αναλύτη με τη συγκέντρωση του στο δείγμα. Στην ιδανική καμπύλη αναφοράς το μετρούμενο σήμα (I_{meas}) είναι ευθέως ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη (C_{an}) δηλαδή $I_{meas} \sim C_{an}$ (βλ. 2.7.3).

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα του αναλύτη σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε μήτρα όμοια με αυτή του αγνώστου δείγματος, έτσι ώστε να περιοριστεί η επίδραση των φαινομένων μήτρας στο ποσοτικό προσδιορισμό.

4.8.1. Ανάλυση ιόντων Χαλκού (Cu^{2+})

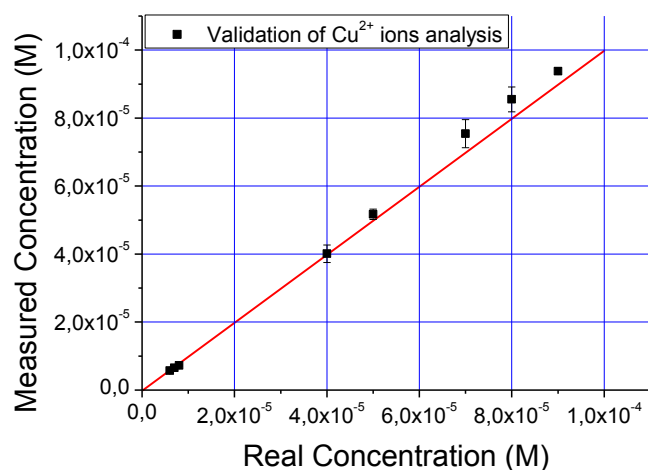
Η ανάλυση των ιόντων χαλκού (Cu^{2+}) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα CuSO_4 σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό, για μια περιοχή συγκεντρώσεων από 1×10^{-6} M έως 1×10^{-4} M. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του χαλκού στα 324,754 nm (βλ. Πίνακα 2.1).

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,99$) στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.14. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της εξίσωσης 2.13 είναι $C_L=1,06 \times 10^{-6}$ M ή 67 ppb.



Σχήμα 4.14. Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu^{2+}) σε διάλυμα 50% v/v μεθανόλης σε νερό α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Για τον προσδιορισμό της πιστότητας της τεχνικής πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς πρότυπων διαλυμάτων των οποίων η συγκέντρωση προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.2 και σε μορφή διαγράμματος στο Σχήμα 4.15. Το σφάλμα κάθε τιμής υπολογίζεται με βάση το όριο εμπιστοσύνης στο 1σ της καμπύλης Gauss. Η ακρίβεια της τεχνικής στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων κυμαίνεται από 92 % έως 100 %.

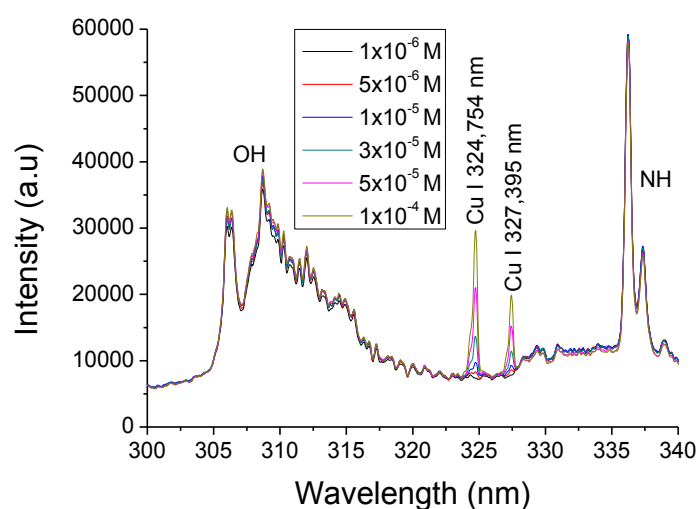


Σχήμα 4.15. Διάγραμμα επικύρωσης καμπύλης αναφοράς ιόντων χαλκού.

Πίνακας 4.2. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων χαλκού (Cu²⁺).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Πραγματική συγκέντρωση (ppm)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	6x10 ⁻⁶	0,4	(5,72 ± 0,15) × 10 ⁻⁶	-4,58
2	7x10 ⁻⁶	0,5	(6,53 ± 0,12) × 10 ⁻⁶	-6,68
3	8x10 ⁻⁶	0,5	(7,25 ± 0,20) × 10 ⁻⁶	-9,42
4	4x10 ⁻⁵	2,5	(4,01 ± 0,26) × 10 ⁻⁵	0,34
5	5x10 ⁻⁵	3,2	(5,17 ± 0,16) × 10 ⁻⁵	3,32
6	7x10 ⁻⁵	4,5	(7,54 ± 0,41) × 10 ⁻⁵	7,74
7	8x10 ⁻⁵	5,1	(8,55 ± 0,37) × 10 ⁻⁵	6,84
8	9x10 ⁻⁵	5,7	(9,38 ± 0,10) × 10 ⁻⁵	4,18

Στο Σχήμα 4.16 παρουσιάζονται τυπικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων ιόντων χαλκού που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς.



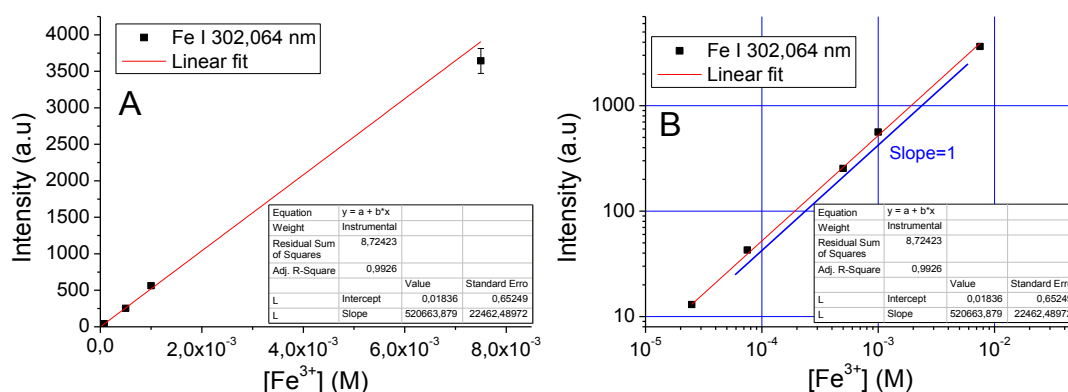
Σχήμα 4.16. Τυπικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων ιόντων χαλκού (Cu²⁺) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Στα φάσματα LIBS πέραν των ατομικών γραμμών εκπομπής του χαλκού εμφανίζεται η εκπομπή φθορισμού από τα διατομικά μόρια OH ($A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$) και NH ($A^3\Pi \rightarrow X^3\Sigma$) τα οποία σχηματίζονται στο πλάσμα. Παρατηρείται σε όλα τα φάσματα ότι το υπόβαθρο παραμένει σταθερό και δεν επηρεάζεται από τη συγκέντρωση του χαλκού στο πλάσμα, με αποτέλεσμα να μην απαιτείται η χρήση εσωτερικών προτύπων.

4.8.2. Ανάλυση ιόντων Σιδήρου (Fe^{3+})

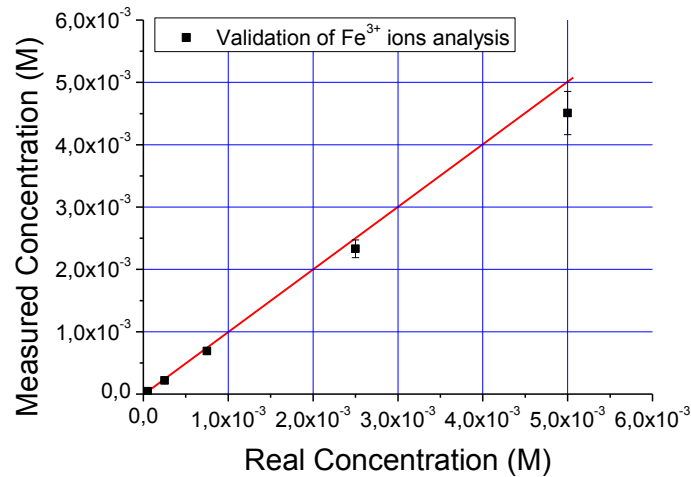
Η ανάλυση των ιόντων σιδήρου (Fe^{3+}) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα $FeCl_3$ σε μήτρα 40% v/v μεθανόλης σε νερό, για μια περιοχή συγκεντρώσεων από 2×10^{-5} M έως 1×10^{-4} M. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του σιδήρου στα 302,064 nm (βλ. Πίνακα 2.1)..

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,99$) στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.17. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της εξίσωσης 2.13 είναι $C_L=1,29 \times 10^{-4}$ M ή 7,2 ppm.



Σχήμα 4.17. Καμπύλη αναφοράς ιόντων σιδήρου (Fe^{3+}) σε διάλυμα 40% v/v μεθανόλης σε νερό, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , d = 2 mm, h = 2 mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

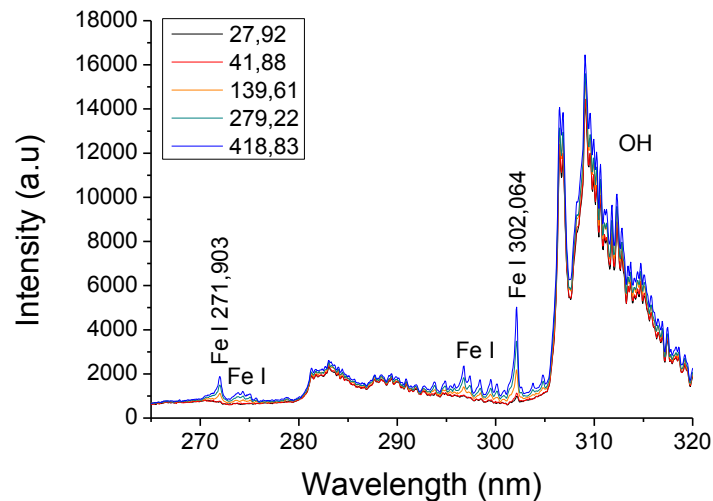
Για τον προσδιορισμό της ακρίβειας της τεχνικής πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς πρότυπων διαλυμάτων η συγκέντρωση των οποίων προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3 και στο Σχήμα 4.18, η απόκλιση κάθε τιμής υπολογίζεται στο 1σ της καμπύλης Gauss. Η ακρίβεια της μεθόδου στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων κυμαίνεται μεταξύ 93% και 87 %.



Σχήμα 4.18. Δεδομένα επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων σιδήρου.

Πίνακας 4.3. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων σιδήρου(Fe³⁺).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Πραγματική συγκέντρωση (ppm)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	5 × 10 ⁻⁵	2,8	(4,57 ± 0,18) × 10 ⁻⁵	-8,69
2	2,5 × 10 ⁻⁴	14,0	(2,18 ± 0,19) × 10 ⁻⁴	-12,90
3	7,5 × 10 ⁻⁴	41,9	(6,89 ± 0,19) × 10 ⁻⁴	-8,09
4	2,5 × 10 ⁻³	139,6	(2,33 ± 0,14) × 10 ⁻³	-6,80
5	5 × 10 ⁻³	279,2	(4,51 ± 0,35) × 10 ⁻³	-9,80



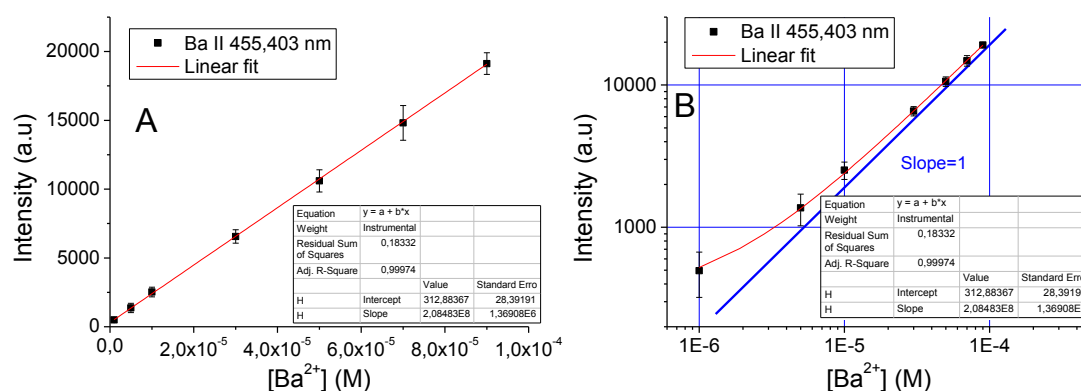
Σχήμα 4.19. Τυπικά φάσματα LIBS ιόντων σιδήρου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

Στο Σχήμα 4.19 παρουσιάζονται τυπικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων ιόντων σιδήρου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στα φάσματα εμφανίζονται πέραν των ατομικών γραμμών εκπομπής του σιδήρου η εκπομπή φθορισμού από τα διατομικά μόρια OH ($A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$).

4.8.3. Ανάλυση ιόντων Βαρίου (Ba^{2+})

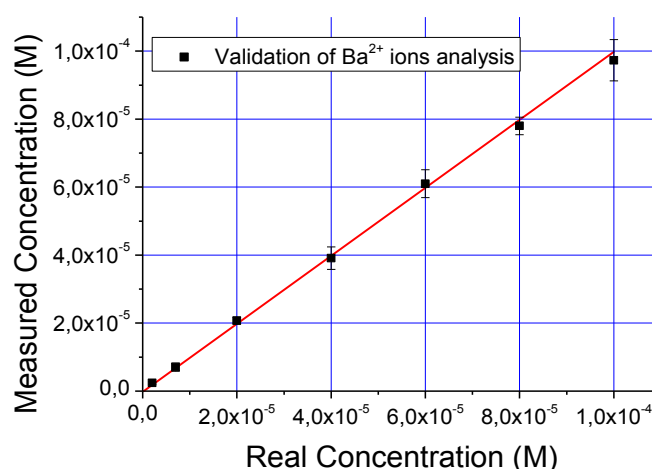
Η ανάλυση των ιόντων βαρίου (Ba^{2+}) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα $Ba(NO_3)_2$ σε νερό, για ένα εύρος συγκεντρώσεων από 1×10^{-6} M έως 1×10^{-4} M. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η γραμμή εκπομπής των ατομικών ιόντων του βαρίου στα 455,403 nm (βλ. Πίνακα 2.1).

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,999$) στο εύρος των συγκεντρώσεων που μελετήθηκαν και παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.20. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της Εξίσωσης 2.13 είναι $C_L=1,97 \times 10^{-7}$ M ή 27 ppb.



Σχήμα 4.20. Καμπύλη αναφοράς ιόντων βαρίου (Ba^{2+}) νερό, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Για τον προσδιορισμό της πιστότητας της τεχνικής πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς πρότυπων διαλυμάτων των οποίων η συγκέντρωση προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς.



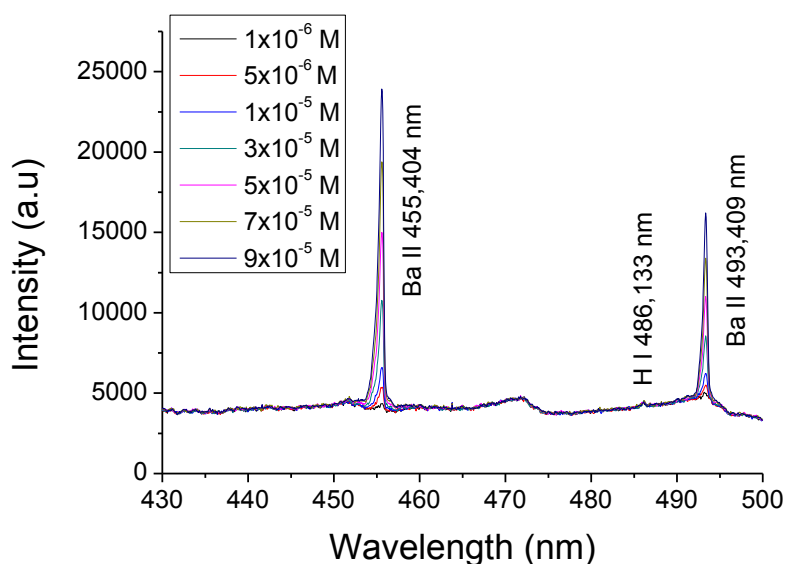
Σχήμα 4.21. Δεδομένα επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων βαρίου.

Τα αποτελέσματα της μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.4 και σε μορφή διαγράμματος στο Σχήμα 4.21, η απόκλιση κάθε τιμής υπολογίζεται με βάση στο 1σ της καμπύλης Gauss. Η ακρίβεια της τεχνικής στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων είναι της 97% με 99%.

Στο Σχήμα 4.22 παρουσιάζονται τυπικά φάσματα LIBS των ιόντων βαρίου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στα φάσματα γίνεται εμφανής η δεύτερη γραμμή εκπομπής της σειράς Balmer του υδρογόνου στα 486,133 nm.

Πίνακας 4.4. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων βαρίου (Ba^{2+}).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Πραγματική συγκέντρωση (ppm)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	%Απόκλιση
1	2×10^{-6}	0,3	$(2,40 \pm 0,36) \times 10^{-6}$	19,78
2	7×10^{-6}	1,0	$(7,05 \pm 1,18) \times 10^{-6}$	0,67
3	2×10^{-5}	2,8	$(2,07 \pm 0,10) \times 10^{-5}$	3,28
4	4×10^{-5}	5,5	$(3,91 \pm 0,33) \times 10^{-5}$	-2,32
5	6×10^{-5}	8,3	$(6,10 \pm 0,41) \times 10^{-5}$	1,61
16	8×10^{-5}	11,0	$(7,80 \pm 0,26) \times 10^{-5}$	-2,50
7	1×10^{-5}	13,8	$(9,73 \pm 0,61) \times 10^{-5}$	-2,70



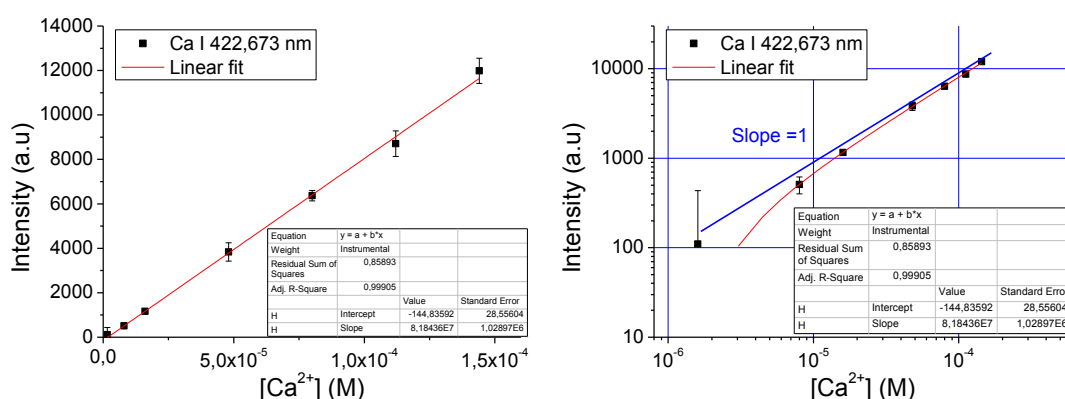
Σχήμα 4.22. Τυπικά φάσματα LIBS ιόντων βαρίου (Ba^{2+}) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

4.8.4 Ανάλυση ιόντων Ασβεστίου (Ca^{2+})

Η ανάλυση των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα $CaCl_2$ σε νερό, για ένα εύρος συγκεντρώσεων από $1,6 \times 10^{-6}$ M έως $1,6 \times 10^{-4}$ M. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς

χρησιμοποιήθηκε η γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του ασβεστίου στα 422,673 nm (βλ. Πίνακα 2.1). Στο νερό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων ανιχνεύτηκε ποσότητα ασβεστίου. Το σήμα εκπομπής από το νερό αφαιρέθηκε από το σήμα εκπομπής των πρότυπων διαλυμάτων.

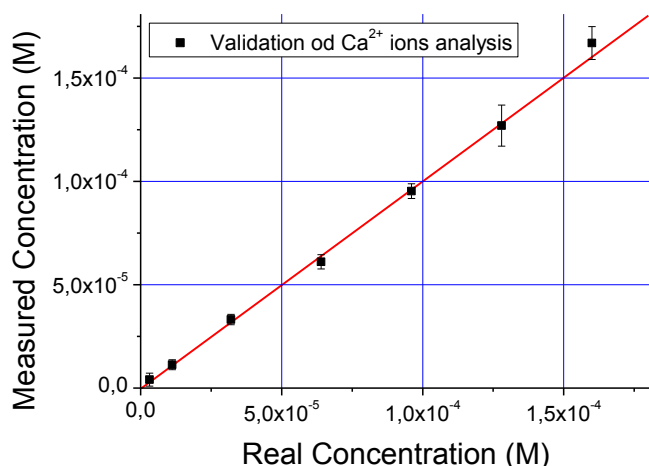
Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,999$) στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων όπως φαίνεται στο Σχήμα 4.23. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της εξίσωσης 2.13 είναι $C_L=3,77 \times 10^{-7}$ M ή 15 ppb.



Σχήμα 4.23. Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) σε νερό, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Για τον προσδιορισμό της ακρίβειας της τεχνικής πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς πρότυπων διαλυμάτων των οποίων η συγκέντρωση προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.5 και σε μορφή διαγράμματος στο Σχήμα 4.24, η τυπική απόκλιση κάθε τιμής υπολογίστηκε στο 1σ της καμπύλης Gauss. Η ακρίβεια της μεθόδου στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων κυμαίνεται μεταξύ 95% και 100 %.

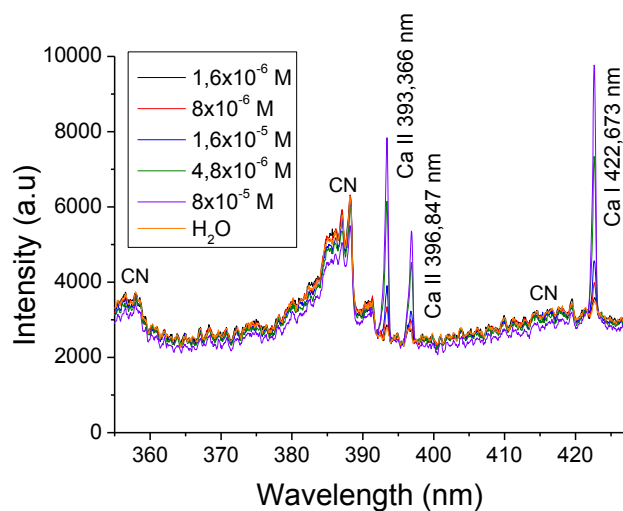
Ο ποσοτικός προσδιορισμός σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες των 1×10^{-5} M είναι ανακριβής και οφείλεται στο χαμηλό σήμα εκπομπής. Στην περίπτωση αυτή υπάρχει έντονη επίδραση από το υπόβαθρο. Στο Σχήμα 4.25 παρουσιάζονται τυπικά φάσματα LIBS των ιόντων ασβεστίου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Στα φάσμα LIBS πέραν των γραμμών εκπομπής του ασβεστίου παρατηρείται και εκπομπή από διεγερμένα μόρια CN. Η παρουσία του άνθρακα στο πλάσμα οφείλεται στο διοξείδιο του άνθρακα της ατμόσφαιρας, καθώς η μήτρα των διαλυμάτων αποτελείται από νερό. Επίσης παρουσιάζεται το φάσμα του νερού που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των διαλυμάτων, στο οποίο είναι εμφανής οι γραμμές εκπομπής του ασβεστίου.



Σχήμα 4.24. Διαγραμματική απεικόνιση αποτελεσμάτων επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}).

Πίνακας 4.5. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Πραγματική συγκέντρωση (ppm)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	$3,20 \times 10^{-6}$	0,1	$(2,39 \pm 3,2) \times 10^{-6}$	26,84
2	$1,12 \times 10^{-5}$	0,5	$(1,13 \pm 0,24) \times 10^{-5}$	1,17
3	$3,20 \times 10^{-5}$	1,3	$(3,32 \pm 0,25) \times 10^{-5}$	3,63
4	$6,40 \times 10^{-5}$	2,6	$(6,11 \pm 0,35) \times 10^{-5}$	-4,53
5	$9,60 \times 10^{-5}$	3,8	$(9,53 \pm 0,35) \times 10^{-5}$	-0,71
6	$1,28 \times 10^{-4}$	5,1	$(1,27 \pm 0,01) \times 10^{-4}$	-0,48
7	$1,60 \times 10^{-4}$	6,4	$(1,67 \pm 0,08) \times 10^{-4}$	4,63



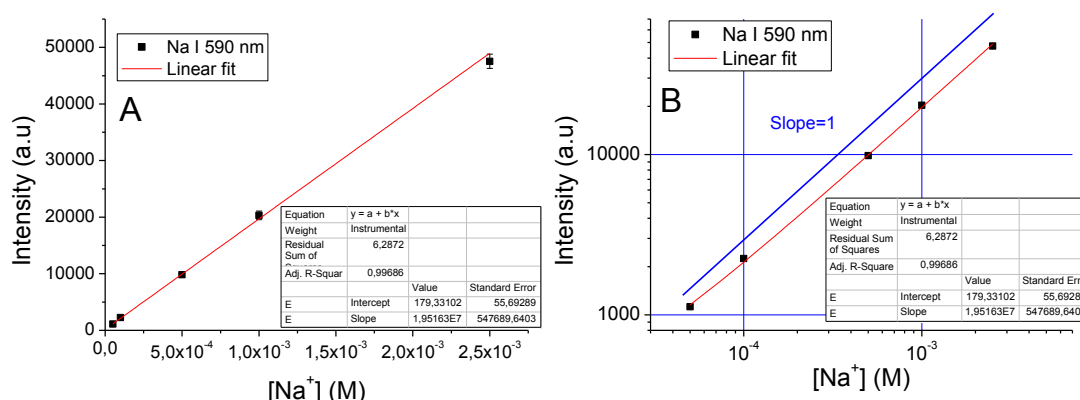
Σχήμα 4.25. Τυπικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων ιόντων ασβεστίου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και του νερού που χρησιμοποιήθηκε για την Παρασκευή των διαλυμάτων.

4.8.5 Ανάλυση ιόντων νατρίου (Na^+)

Η ανάλυση των ιόντων νατρίου (Na^+) πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα NaCl σε νερό, για ένα εύρος

συγκεντρώσεων από 5×10^{-5} M έως $2,5 \times 10^{-3}$ M. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η διπλή γραμμή εκπομπής των ουδετέρων ατόμων του νατρίου στα 590 nm (βλ Πίνακα 2.1). Στο νερό που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων ανιχνεύτηκε ποσότητα νατρίου. Το σήμα εκπομπής από το νερό αφαιρέθηκε από το σήμα εκπομπής των πρότυπων διαλυμάτων.

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,99$) για το εύρος συγκεντρώσεων που μελετήθηκε όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.26. Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της Εξίσωσης 2.13 είναι $C_L=8,24 \times 10^{-6}$ M ή 78 ppb.

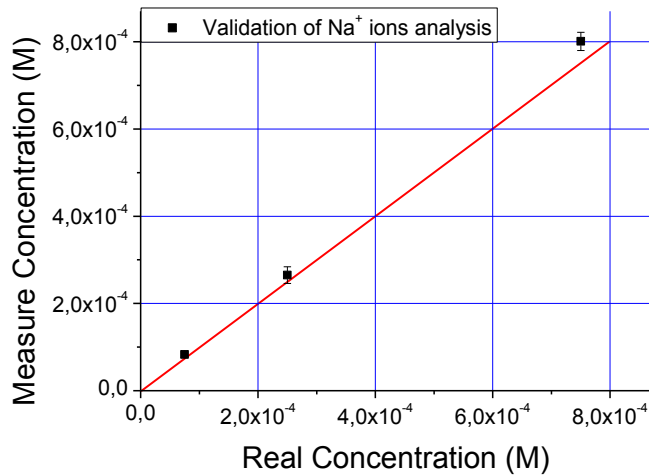


Σχήμα 4.26 Καμπύλη αναφοράς ιόντων νατρίου (Na^+) σε νερό, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_C : 15 μs , $d=2$ mm, $h=2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Για τον προσδιορισμό της ακρίβειας της τεχνικής πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς πρότυπων διαλυμάτων των οποίων η συγκέντρωση προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.6 και σε μορφή διαγράμματος στο Σχήμα 4.27, η απόκλιση κάθε τιμής υπολογίζεται στο 1 σ της καμπύλης Gauss. Η ακρίβεια της μεθόδου στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων κυμαίνεται μεταξύ 89 % και 94 %.

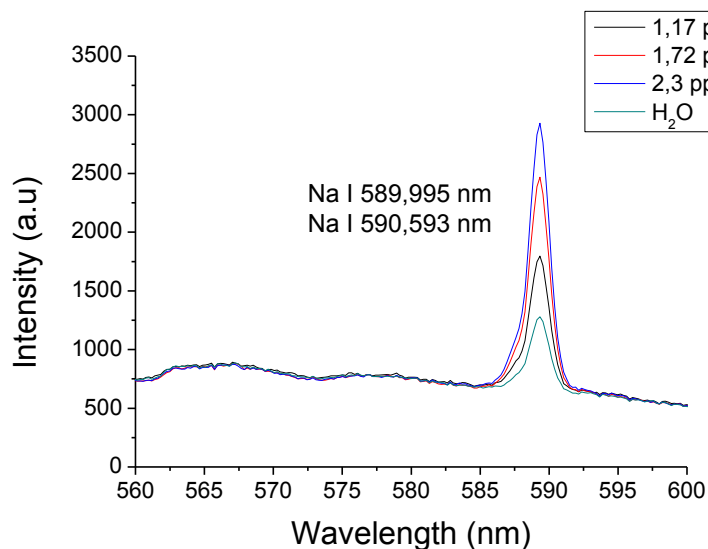
Πίνακας 4.6. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων νατρίου (Na^+).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Πραγματική συγκέντρωση (ppm)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	$7,5 \times 10^{-5}$	1,7	$(8,31 \pm 0,34) \times 10^{-5}$	10,77
2	$2,5 \times 10^{-4}$	5,8	$(2,65 \pm 0,19) \times 10^{-4}$	5,96
3	$7,5 \times 10^{-4}$	17,3	$(8,01 \pm 0,21) \times 10^{-4}$	6,78



Σχήμα 4.27. Διαγραμματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων νατρίου(Na⁺).

Στο διάγραμμα 4.28 παρουσιάζονται τυπικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων ιόντων νατρίου (Na⁺) σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Να σημειωθεί ότι λόγω της χαμηλής διακριτικής ικανότητας του φράγματος περίθλασης που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη η διπλή γραμμή εκπομπής του νατρίου στα 590 nm φαίνεται σαν μία γραμμή.



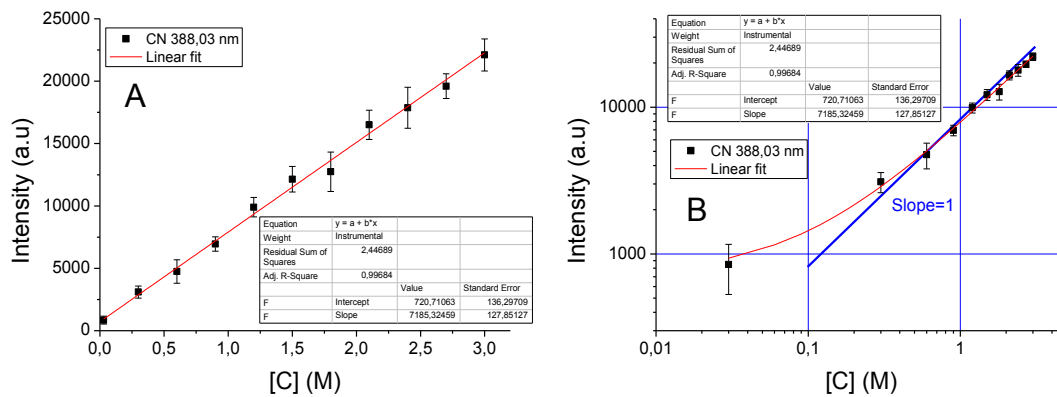
Διάγραμμα 4.28. Τυπικά φάσματα LIBS ιόντων νατρίου σε διαφορετικές συγκεντρώσεις.

4.9. Ανάλυση οργανικού άνθρακα (C)

Η ανίχνευση του άνθρακα με την τεχνική LIBS γίνεται συνήθως έμμεσα μέσω της εκπομπής από το CN ή το C₂ διατομικά μόρια που σχηματίζονται όταν στο πλάσμα περιέχεται άνθρακας. Οι ισχυρότερες γραμμές εκπομπής του άνθρακα βρίσκονται στην υπεριώδη περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος η οποία είναι αδύνατον να

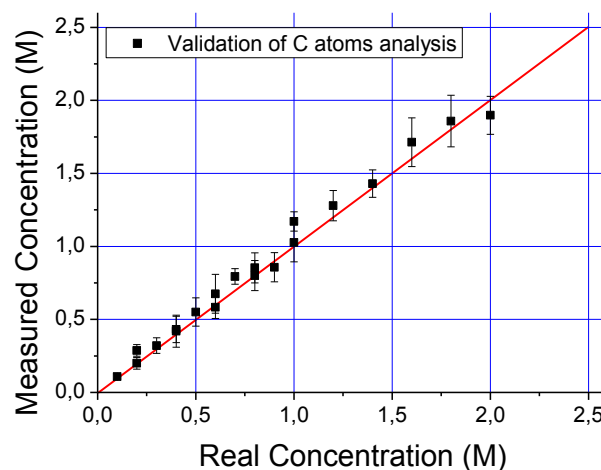
καταγράφει σε ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης, η ενέργεια των διεγερμένων καταστάσεων είναι αρκετά υψηλή ($E \sim 10^5 \text{ cm}^{-1}$) και σε συνδυασμό με τις χαμηλές τιμές των συντελεστών Einstein καθιστούν σχετικά δύσκολη την ανίχνευση του σε ένα τυπικό πείραμα LIBS.

Η καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό του άνθρακα καταρτίστηκε με βάση τη γραμμή εκπομπής των διεγερμένων μορίων CN στα 388,03 nm, με τον άνθρακα να προέρχεται από μόρια 1-προπανόλης. Στο Σχήμα 4.29 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς για ένα εύρος συγκεντρώσεων άνθρακα από 0,03 έως 3 M.



Σχήμα 4.29 Καμπύλη αναφοράς οργανικού άνθρακα σε νερό, α) σε γραμμική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , $d = 2 \text{ mm}$, $h = 2 \text{ mm}$, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Στο φάσμα LIBS εμφανίζεται η εκπομπή από το CN κατά τη μέτρηση αμιγώς υδατικών διαλυμάτων αλλά και όταν ο εκνεφωτής τεθεί εκτός λειτουργίας. Η εμφάνιση της εκπομπής από το CN αποδίδεται στην παρουσία διοξειδίου του άνθρακα που υπάρχει στην ατμόσφαιρα, η συγκέντρωση του οποίου είναι της τάξεως των 400 ppm.



Σχήμα 4.30. Διαγραμματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς για τον άνθρακα (C).

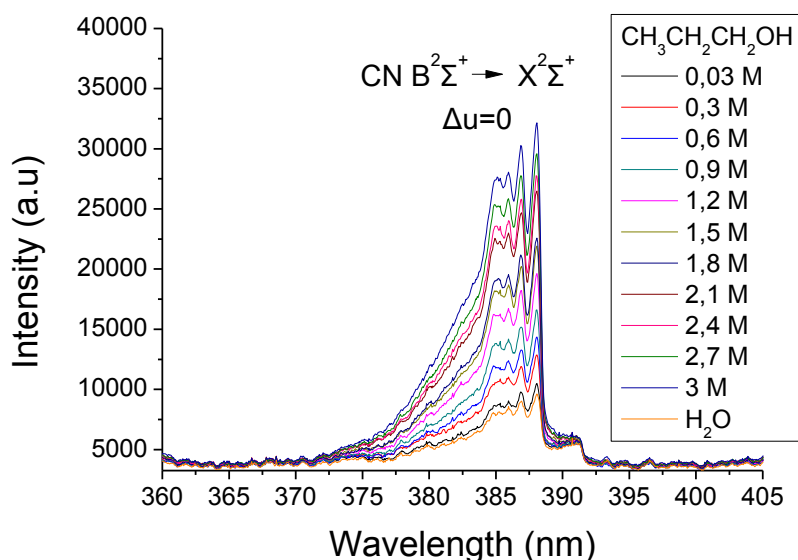
Κάθε μέτρηση διορθώθηκε με βάση την ένταση της εκπομπής του CN στο νερό. Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά στο για συγκεντρώσεις από 0,1 M έως 3 M. Το όριο ανίχνευσης για τον άνθρακα υπολογίζεται από την καμπύλη αναφοράς μέσω της εξίσωσης 2.13 και είναι $C_L=5,34 \times 10^{-3}$ M ή 64 ppm.

Για την επικύρωση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα μεθανόλης και αιθανόλης έτσι ώστε να εξεταστεί η οποιαδήποτε επίδραση από τη φύση του μορίου που προέρχεται ο άνθρακας. Στον πίνακα 4.7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μέτρησης ενώ στο Σχήμα 4.30 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα σε μορφή διαγράμματος.

Πίνακας 4.7. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων οργανικού άνθρακα (C).

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Περιεκτικότητα (% v/v)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
Δείγματα αιθανόλης				
1	0,2	0,58	0,29 ± 0,04	43,82%
2	0,4	1,15	0,42 ± 0,11	4,93%
3	0,6	1,73	0,58 ± 0,08	-2,87%
4	0,8	2,30	0,85 ± 0,10	6,63%
5	1	2,88	1,17 ± 0,07	17,09%
6	1,2	3,45	1,28 ± 0,10	6,58%
7	1,4	4,03	1,43 ± 0,09	2,14%
8	1,6	4,60	1,71 ± 0,17	7,09%
9	1,8	5,18	1,86 ± 0,18	3,24%
10	2	5,75	1,90 ± 0,13	-5,12%
Δείγματα μεθανόλης				
11	0,1	0,40	0,11 ± 0,02	8,00%
12	0,2	0,80	0,20 ± 0,04	-0,29%
13	0,3	1,20	0,32 ± 0,05	6,80%
14	0,4	1,60	0,43 ± 0,09	7,83%
15	0,5	2,00	0,55 ± 0,10	10,07%
16	0,6	2,40	0,68 ± 0,13	12,55%
17	0,7	2,80	0,79 ± 0,05	13,37%
18	0,8	3,20	0,80 ± 0,10	0,02%
19	0,9	3,60	0,86 ± 0,10	-4,76%
20	1	4,00	1,02 ± 0,13	2,71%

Στο Σχήμα 4.31 παρουσιάζονται συγκριτικά τα φάσματα LIBS των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης. Παρατηρείται ότι το υπόβαθρο παραμένει σταθερό στο σύνολο των μετρήσεων γεγονός που υποδηλώνει τη σταθερότητα των συνθηκών μέτρησης.



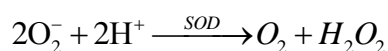
Σχήμα 4.31. Φάσματα LIBS των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης για τον άνθρακα.

4.10. Ανάλυση Μεταλλοπρωτεΐνων

Η μελέτη βιολογικών μακρομορίων όπως τα μεταλλοπρωτεϊνικά σύμπλοκα (σύμπλοκα πρωτεϊνών με μεταλλικά ιόντα στα οποία το μεταλλικό ιόν είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένο με την πρωτεΐνη) είναι ιδιαίτερα σημαντική. Τα μεταλλοπρωτεϊνικά σύμπλοκα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στα μεταβολικά μονοπάτια όλων των έμβιων οργανισμών. Ο προσδιορισμός του μοριακού βάρους και της στοιχειακής σύστασης των συμπλόκων αυτών είναι αρκετά δύσκολος και απαιτητικός, καθώς προϋποθέτει την ανάπτυξη κατάλληλης μεθοδολογίας για την απομόνωση τους, ενώ για το χαρακτηρισμό τους απαιτείται συνδυασμός πολλαπλών τεχνικών. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν πρότυπα διαλύματα μεταλλοπρωτεϊνικών συμπλόκων με σκοπό τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των μεταλλοϊόντων με τη μέθοδο LIBS και του μοριακού τους βάρους με τη μέθοδο SSI-MS. Από την τιμή του λόγου της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης προς τη συγκέντρωση του μεταλλικού ιόντος είναι εφικτός ο προσδιορισμός του αριθμού των μεταλλικών ιόντων που περιέχονται σε ένα μόριο πρωτεΐνης. Τα μεταλλοπρωτεϊνικά σύμπλοκα που μελετήθηκαν είναι η σουπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase, SOD) και η α-λακταλβουμίνη (Lactalbumin-a ,LALBA).

4.10.1. Σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD)

Η SOD είναι μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 32,5 kDa που συναντάται στους ιστούς των θηλαστικών και έχει ενζυματική δράση. Η SOD καταλύει τη μετατροπή των ριζών σουπεροξειδίου σε υπεροξειδίο του υδρογόνου και μοριακό οξυγόνο.

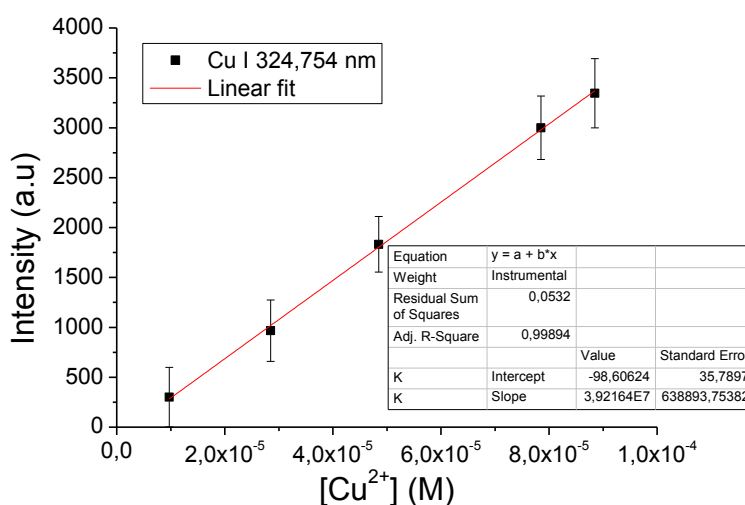


Ο ρόλος της SOD είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς αποτελεί βασικό στοιχείο του μηχανισμού άμυνας απέναντι στις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου και τις τοξικές επιδράσεις αυτών. Ειδικότερα, η SOD ανταγωνίζεται τις ρίζες NO οι οποίες αντιδρούν με τις ρίζες οξυγόνου προς σχηματισμό υπεροξειδίου του αζώτου (NO₃), το οποίο προκαλεί πληθώρα προβλημάτων στους οργανισμούς.

Η πρωτεΐνη αποτελείται από δύο ίδιες υπομονάδες μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες. Κάθε μονομερές της πρωτεΐνης αποτελείται από 151 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 16,3 kDa και περιέχει ένα ιόν χαλκού (Cu²⁺) και ένα ιόν ψευδαργύρου (Zn²⁺).

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού με την τεχνική LIBS

Πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού σε διάλυμα της πρωτεΐνης με περιεκτικότητας 1,66 mg/ml σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Ως πρότυπα χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα CuSO₄ σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό καλύπτοντας μια περιοχή συγκεντρώσεων από 1×10⁻⁵ M έως 1×10⁻⁴ M.



Σχήμα 4.32. Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu²⁺) σε διάλυμα 50% v/v μεθανόλης σε νερό. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D: 20 μs, τ_G: 100 μs, d = 2 mm, h = 2 mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

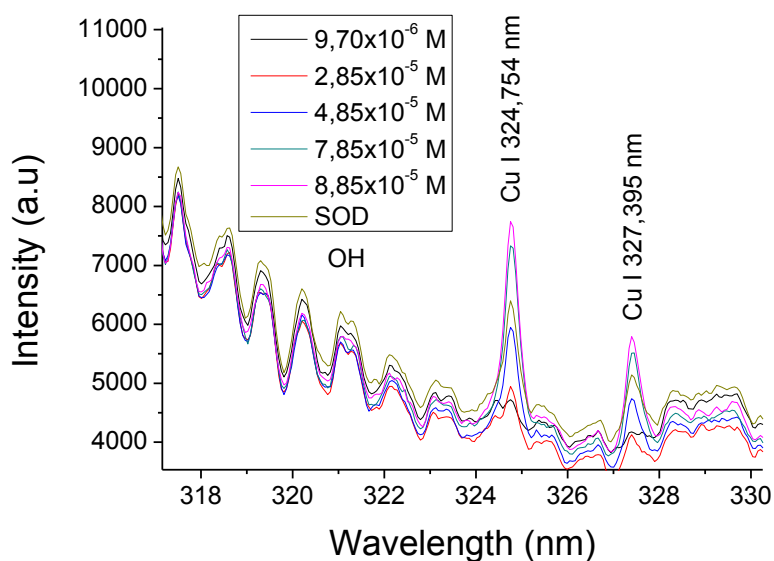
Η καμπύλη αναφοράς που καταρτίστηκε για το προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού (Cu^{2+}) στο διάλυμα της πρωτεΐνης παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά ($R^2=0,9989$) και παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.32. Η ακρίβεια του ποσοτικού προσδιορισμού ελέγχτηκε μέσω της ανάλυσης μιας σειράς από πρότυπα διαλύματα ιόντων χαλκού η συγκέντρωση των οποίων προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.8.

Πίνακας 4.8. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων Cu^{2+} και διαλύματος SOD

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	$1,85 \times 10^{-5}$	$(1,78 \pm 0,46) \times 10^{-5}$	-3,78
2	$5,85 \times 10^{-5}$	$(5,82 \pm 0,64) \times 10^{-5}$	-0,51
3	$9,85 \times 10^{-5}$	$(1,07 \pm 0,11) \times 10^{-4}$	8,51
SOD (1,66 mg/ml)	$5,11 \times 10^{-5}$	$(4,91 \pm 0,96) \times 10^{-5}$	-3,83

Από τις μετρήσεις προκύπτει ότι ο λόγος της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού στο διάλυμα της SOD, $C_{\text{Cu}} = 4,91 \times 10^{-5} \text{ M}$, ως προς τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης, $C_p = 5,1 \times 10^{-5} \text{ M}$ είναι περίπου 1. Οπότε εξαγεται το συμπέρασμα ότι περιέχεται 1 άτομο χαλκού σε κάθε μόριο της SOD, παρατήρηση που συμφωνεί με τα βιβλιογραφικά δεδομένα [62].

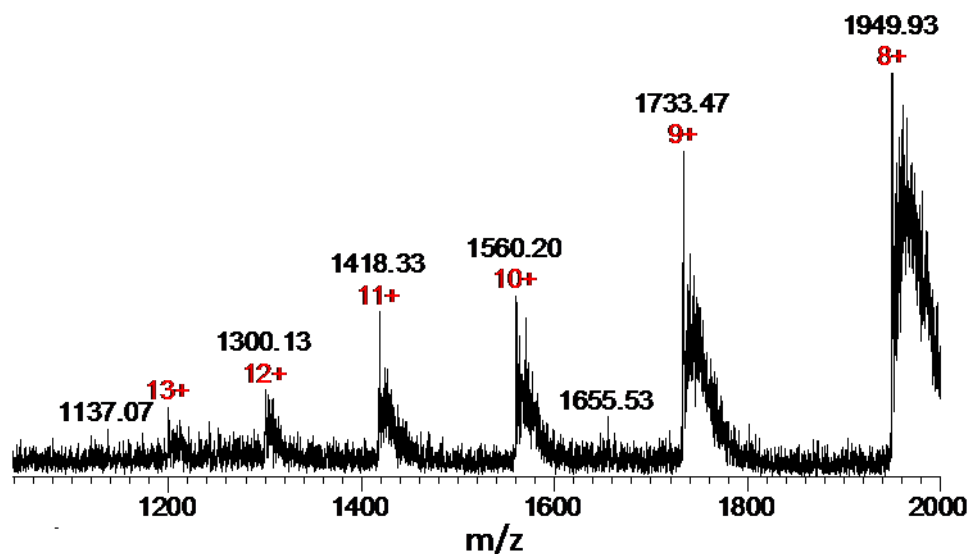
Στο Σχήμα 4.33 παρουσιάζονται τα φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς καθώς και το φάσμα που καταγράφηκε κατά την ανάλυση του διαλύματος της SOD.



Σχήμα 4.33. Φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων και της SOD.

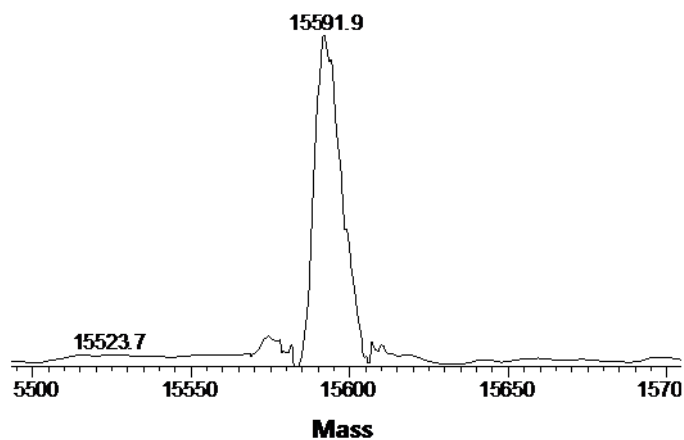
Προσδιορισμός μοριακού βάρους με την τεχνική SSI-MS

Για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους της πρωτεΐνης πραγματοποιήθηκε παρασκευή πρότυπου διαλύματος της SOD σε διάλυμα 50 % v/v μεθανόλης σε νερό με 6% οξικό οξύ. Το οξικό οξύ χρησιμοποιείται για την πρωτονίωση των βασικών αμινοξέων της πρωτεΐνης ώστε ο λόγος m/z της SOD να βρίσκεται στο εύρος λειτουργίας του φασματογράφου μάζας. Στο Σχήμα 4.34 παρουσιάζεται το φάσμα μάζας της SOD.



Σχήμα 4.34. Φάσμα μάζας της SOD.

Από την ανάλυση του φάσματος μάζας επιτυγχάνεται ο υπολογισμός του μοριακού βάρους της SOD με βάση τις κορυφές οι οποίες παρουσιάζουν υψηλότερη αφθονία στο φάσμα μάζας, το αποτέλεσμα του υπολογισμού φαίνεται στο Σχήμα 4.35.



Σχήμα 4.35. Αποτέλεσμα από τον υπολογισμό του μοριακού βάρους της SOD.

Η τιμή του μοριακού βάρους της μίας υπομονάδας της SOD που προσδιορίζεται είναι 15591,9 Da, ενώ η αντίστοιχη τιμή που αναφέρεται στη βιβλιογραφία είναι 16250 kDa [62]. Η SOD είναι γνωστό ότι αποτελείται από δύο όμοιες υπομονάδες μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες μεταξύ τους. Η προσθήκη του οξικού οξέος προκαλεί διάσπαση του μορίου της SOD στις υπομονάδες και απώλεια των μεταλλικών ιόντων, με αποτέλεσμα στο φάσμα μάζας να εμφανίζονται οι υπομονάδες της SOD.

Στο μοριακό βάρος που μετρήθηκε πρέπει να προστεθεί το μοριακό βάρος του χαλκού και του ψευδαργύρου γιατί όπως είναι γνωστό σε ένα μόριο της SOD περιέχεται ένα ιόν χαλκού και ένα ιόν ψευδαργύρου. Η παρουσία του χαλκού επιβεβαιώθηκε και με τη τεχνική LIBS ενώ η παρουσία ψευδαργύρου δεν μελετήθηκε.

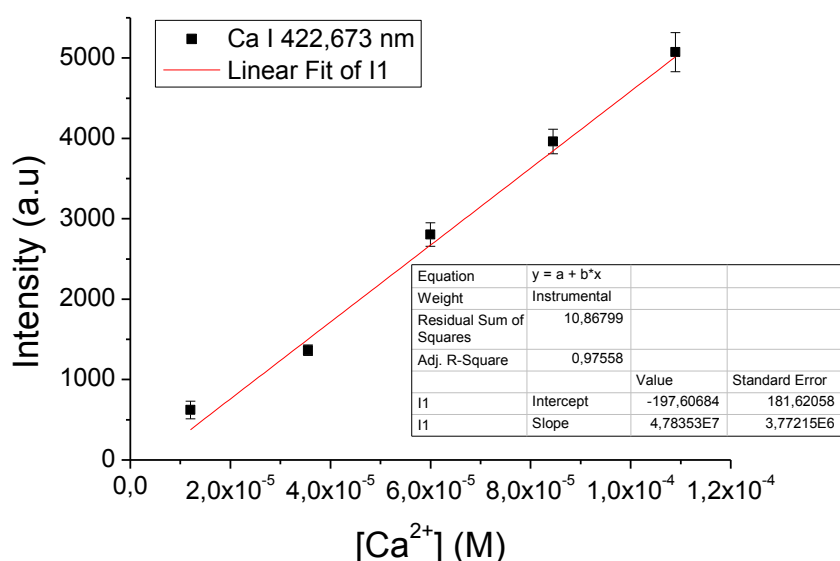
4.10.2. α-Λακταλβουμίνη (LALBA)

Η α-λακταλβουμίνη είναι μια μικρή σφαιρική μεταλλοπρωτεΐνη που συναντάται στο γάλα. Αποτελείται από μία μόνο πολυπεπτιδική αλυσίδα και το μοριακό βάρος της είναι 14 kDa περίπου. Η LALBA ενώνεται με τη β-1,4-γαλακτοτρανσφεράση σχηματίζοντας τη συνθάση της λακτόζης, ένα ένζυμο που ρυθμίζει τη βιοσύνθεση της λακτόζης. Επίσης σχηματίζει πολυμερικές αλυσίδες στις οποίες συνδέονται ισχυρά ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}) και ψευδαργύρου (Zn^{2+}), σε στοιχειομετρία 1:1. Οι αλυσίδες αυτές παρουσιάζουν αντιβακτηριδιακή δράση.

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου με LIBS

Παρασκευάστηκε διάλυμα της πρωτεΐνης με συγκέντρωση με περιεκτικότητα 0,62 mg/ml σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου στο διάλυμα της πρωτεΐνης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα CaCl_2 σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό για ένα εύρος συγκεντρώσεων από 1×10^{-5} M έως 1×10^{-4} M όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.36.

Η πιστότητα της καμπύλης αναφοράς πραγματοποιήθηκε ανάλυση μιας σειράς από πρότυπα διαλύματα ιόντων ασβεστίου, η συγκέντρωση των οποίων προσδιορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.9. Η ακρίβεια του ποσοτικού προσδιορισμού κυμαίνεται από 95% έως 99%.



Σχήμα 4.36. Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}) σε διάλυμα 50% v/v μεθανόλης σε νερό. Οι παράμετροι των μετρήσεων LIBS είναι οι ακόλουθες: τ_D : 20 μs , τ_G : 100 μs , $d = 2$ mm, $h = 2$ mm, Ενέργεια/παλμό: 200 mJ, Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.

Πίνακας 4.9. Ανάλυση πρότυπων διαλυμάτων ιόντων Ca^{2+} και διαλύματος LALBA.

Δείγμα	Πραγματική συγκέντρωση (M)	Μετρούμενη συγκέντρωση (M)	% Απόκλιση
1	$2,33 \times 10^{-5}$	$(2,40 \pm 0,25) \times 10^{-5}$	3,33
2	$4,78 \times 10^{-5}$	$(4,88 \pm 0,78) \times 10^{-5}$	2,30
3	$7,22 \times 10^{-5}$	$(7,18 \pm 0,33) \times 10^{-5}$	-0,54
4	$9,67 \times 10^{-5}$	$(9,50 \pm 0,48) \times 10^{-5}$	-1,82
5	$1,21 \times 10^{-4}$	$(1,28 \pm 0,07) \times 10^{-4}$	5,73
LALBA (0,62 mg/ml)	$4,37 \times 10^{-5}$	$(8,17 \pm 0,32) \times 10^{-5}$	86,96

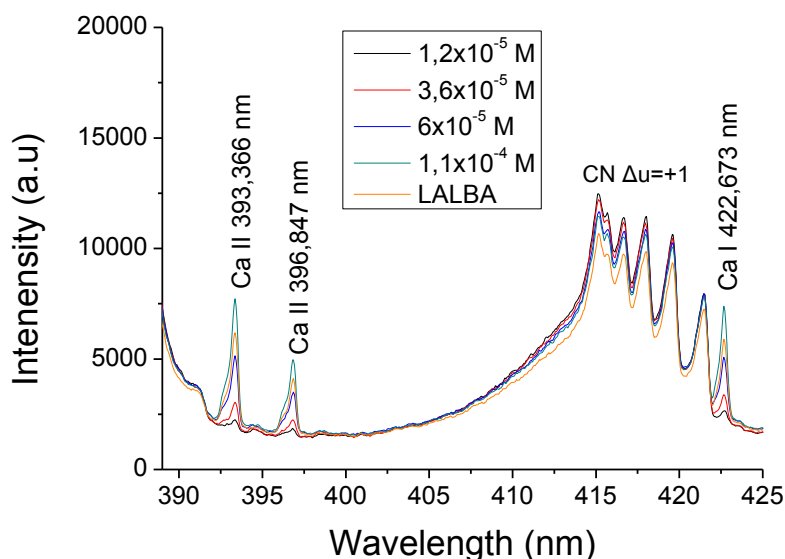
Ο λόγος της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου ως προς τη συγκέντρωση του διαλύματος LALBA είναι περίπου 2:1 οπότε συμπεραίνουμε ότι σε κάθε μόριο της LALBA είναι συνδεδεμένα 2 ιόντα ασβεστίου σε αντίθεση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα [63].

Η ασυμφωνία αυτή ενδεχομένως να οφείλεται στο δείγμα της LALBA που αγοράστηκε και χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του πρότυπου διαλύματος. Το δείγμα LALBA έχει καθαρότητα ≥ 86 % σύμφωνα με στοιχεία από τον προμηθευτή (Sigma Aldrich) και είναι κορεσμένο σε ασβέστιο οπότε ενδέχεται να υπάρχει περίσσεια ιόντων ασβεστίου στο δείγμα της LALBA έτσι ώστε να εξασφαλιστεί ο κορεσμός της πρωτεΐνης σε ασβέστιο.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των αγνώστων δειγμάτων είναι αρκετά ακριβής και υποδεικνύει την παρουσία συστηματικού σφάλματος κατά τον

ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου στο διάλυμα της πρωτεΐνης.

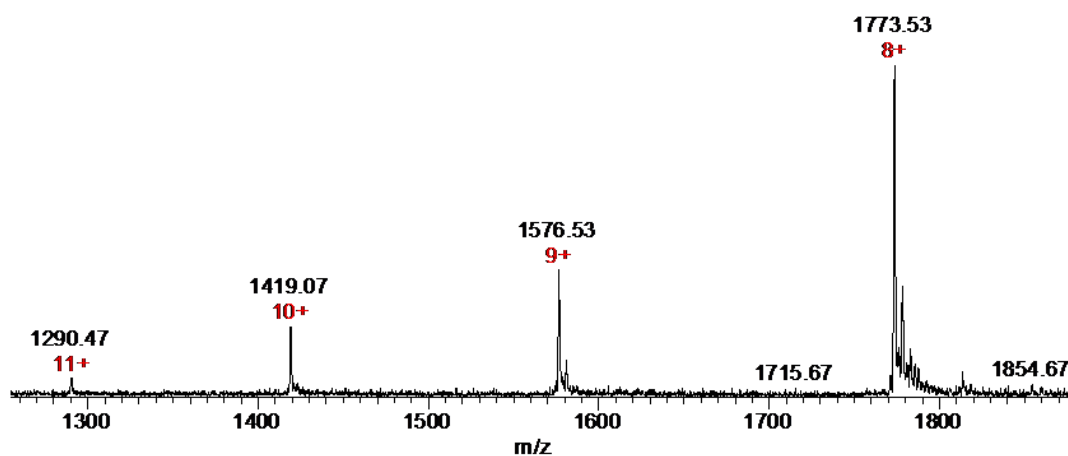
Στο Σχήμα 4.37 παρουσιάζονται τα φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς καθώς και το φάσμα που καταγράφηκε κατά την ανάλυση του διαλύματος της LALBA.



Σχήμα 4.37. Φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς και της LALBA.

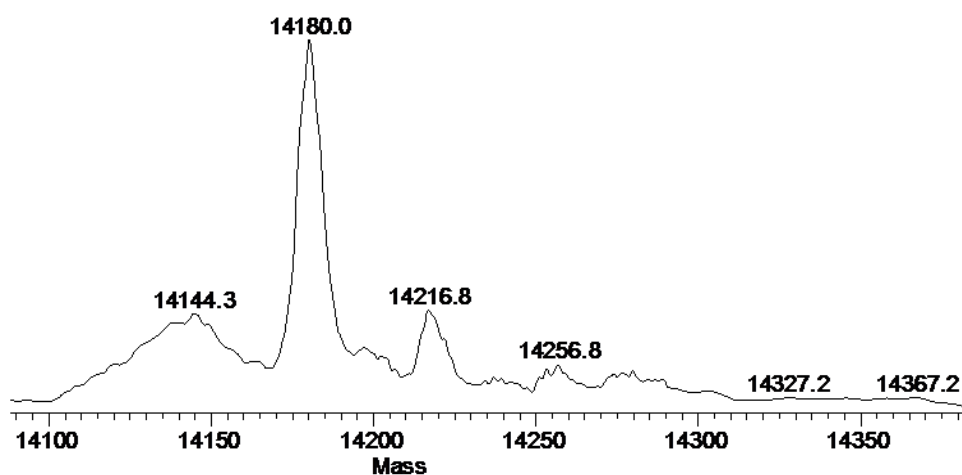
Προσδιορισμός μοριακού βάρους με SSI-MS

Για τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους της πρωτεΐνης πραγματοποιήθηκε παρασκευή πρότυπου διαλύματος σε μήτρα 50% v/v μεθανόλης σε νερό με 10% v/v οξικό οξύ. Στο Σχήμα 4.44 παρουσιάζεται το φάσμα μάζας της πρωτεΐνης.



Σχήμα 4.44. Διάγραμμα μάζας της LALBA.

Από την ανάλυση του φάσματος μάζας επιτυγχάνεται ο υπολογισμός του μοριακού βάρους της LALBA, με βάση τις κορυφές με τη μεγαλύτερη αφθονία στο φάσμα μάζας. Το αποτέλεσμα του υπολογισμού παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.45.



Σχήμα 4.45. Αποτέλεσμα από τον υπολογισμό του μοριακού βάρους της LALBA.

Η τιμή του μοριακού βάρους της LALBA είναι 14180 Da και συμφωνεί με την αντίστοιχη τιμή που αναφέρεται στη βιβλιογραφία 14178 [63]. Η προσθήκη του οξικού οξέος στη συγκεκριμένη πρωτεΐνη δεν οδήγησε σε απώλεια του μεταλλικού ιόντος καθώς τα ιόντα ασβεστίου συγκρατούνται αρκετά ισχυρά από την πρωτεΐνη, οπότε το μοριακό βάρος που υπολογίζεται είναι αυτό της πρωτεΐνης με το ασβέστιο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα ερευνητική εργασία μελετήθηκε η δυνατότητα εφαρμογής της τεχνικής LIBS στον ποσοτικό προσδιορισμό των μεταλλικών ιόντων, που περιέχονται σε εκνεφώματα αμιγώς υδατικών διαλυμάτων αλλά και διαλυμάτων βιομορίων όπως οι μεταλλοπρωτεΐνες με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Ο στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η ανάδειξη της ικανότητας συνδυασμού της τεχνικής LIBS με τη τεχνική SSI-MS, μέσω ενός πνευματικού εκνεφωτή κοινού και για τις δύο τεχνικές.

Πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη κατάλληλης πειραματικής διάταξης για την τεχνική LIBS που να επιτρέπει τον σχηματισμό πλάσματος στα σταγονίδια του εκνεφώματος και εκτενής μελέτη και βελτιστοποίηση των παραμέτρων που υπεισέρχονται στις μετρήσεις LIBS. Ειδικότερα η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε παρουσίασε αξιοσημείωτη ακρίβεια, υψηλή ευαισθησία και επαναληψιμότητα στον ποσοτικό προσδιορισμό των μεταλλοϊόντων στο αερόλυμα που παράγεται από τον πνευματικό εκνεφωτή. Οι βέλτιστες τιμές των παραμέτρων του πρωτοκόλλου που αναπτύχθηκε είναι οι ακόλουθοι:

Χρόνος αναμονής τ_D : 20 \mu s, *Χρόνος συλλογής τ_G : 100 \mu s*, *Απόσταση εκνεφωτή από τη θέση εστίασης $d = -2 \text{ mm}$* , *Απόσταση εκνεφωτή από τον άξονα διάδοσης του παλμού λέιζερ $h = 2 \text{ mm}$* , *Ενέργεια παλμού λέιζερ: 200 mJ*, *Διαδικασία μέτρησης Kinetic series: 5 - Accumulate: 200.*

Οι καμπύλες αναφοράς των μεταλλοϊόντων που μελετήθηκαν παρουσίασαν γραμμική συμπεριφορά στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης (R^2) να κυμαίνεται από 0,9926 έως 0,9997. Η ακρίβεια του ποσοτικού προσδιορισμού κυμάνθηκε μεταξύ από 87 έως 100 %. Τα όρια ανίχνευσης για τα μεταλλικά ιόντα που μελετήθηκαν είναι της τάξης των μερικών δεκάδων ppb και παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.1.

Πίνακας 5.1. Όρια ανίχνευσης της τεχνικής LIBS για τα στοιχεία που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Στοιχείο	Παρούσα εργασία (ppm)	Εκνέφωση με υπέρηχους (ppm) [22]	Εκνέφωση με ηλεκτροψεκασμό (ppm) [23]	Απευθείας στο υγρό (ppm) [64]
Cu	0,067	1,99	---	0,78
Fe	7,2	---	---	30
Ca	0,015	1,83	0,6	0,01
Ba	0,027	---	0,7	0,08
Na	0,078	0,45	---	0,0009
C	64	---	---	---

Η σύγκριση των ορίων ανίχνευσης της τεχνικής LIBS στην παρούσα εργασία με τα αντίστοιχα δεδομένα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία φανερώνει ότι η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε παρέχει υψηλότερη ευαισθησία κατά περίπου μία τάξη μεγέθους σε σχέση με αντίστοιχη μεθοδολογία που προτείνεται στη βιβλιογραφία [22,23]. Ο λόγος που συμβαίνει αυτό σχετίζεται με το μέγεθος των σταγονιδίων που ψεκάζονται από τον πνευματικό εκνεφωτή που χρησιμοποιήθηκε και την εκτεταμένη βελτιστοποίηση των πειραματικών παραμέτρων που υπεισέρχονται στις μετρήσεις.

Η μεθοδολογία που αναπτύχθηκε εφαρμόστηκε με επιτυχία στη μέτρηση της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων που περιέχονται σε πρότυπα υδατικά διαλύματα μεταλλοπρωτεϊνικών συμπλόκων γνωστής περιεκτικότητας. Οι μεταλλοπρωτεΐνες που μελετήθηκαν είναι η σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD), στην οποία πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός των ιόντων χαλκού (Cu^{2+}), και η α -λακταλβουμίνη (LALBA), στην οποία πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός των ιόντων ασβεστίου (Ca^{2+}).

Οι μεταλλοπρωτεΐνες αυτές μελετήθηκαν και με την τεχνική SSI-MS για τον προσδιορισμό του μοριακού τους βάρους. Τα αποτελέσματα της συνδυασμένης μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.2.

Πίνακας 5.2. Σύγκριση πειραματικών αποτελεσμάτων με τα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Πρωτεΐνη	Πραγματικό βάρος (Da)	Μετρούμενο βάρος (Da)	Πραγματική αναλογία ιόντος/πρωτεΐνης	Μετρούμενη αναλογία ιόντος/πρωτεΐνης
LALBA	14178 [63]	14180	1:1	2:1 LIBS* 1:1 SSI-MS
SOD	2x(16250) [62]	2x(15655)	1:1	1:1 LIBS

* Στα πειράματα χρησιμοποιήθηκε α -λακταλβουμίνη κορεσμένη σε ασβέστιο, οπότε ίσως να έχει προστεθεί περίσσεια ασβεστίου από την εταιρία παραγωγής για την εξασφάλιση του κορεσμού της πρωτεΐνης σε ασβέστιο.

Ο συνδυασμός των δύο τεχνικών μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά στον χαρακτηρισμό βιολογικών μακρομορίων. Τα αποτελέσματα των μελετών φανερώνουν ότι οι

δύο τεχνικές δρουν συμπληρωματικά με ακρίβεια. Επίσης σημαντικό πλεονέκτημα του συνδυασμού των δυο τεχνικών αποτελεί ο μικρός χρόνος μέτρησης, ο οποίος είναι της τάξης των 3 λεπτών ανά δείγμα. Επίσης η ποσότητα του δείγματος που καταναλώνεται κατά την ανάλυση είναι της τάξης των 100 μl.

Ο χρόνος που απαιτείται για μια μέτρηση LIBS με βάση το πρωτόκολλο που αναπτύχθηκε (δηλαδή λήψη 1000 φασμάτων με ρυθμό 5 Hz) είναι περίπου 3 λεπτά και καθορίζεται από τη δυνατότητα συγχρονισμού του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Ο χρόνος αυτός μπορεί να μειωθεί σημαντικά όταν ο συνδυασμός λέιζερ ανιχνευτή που χρησιμοποιείται επιτρέπει την καταγραφή φασμάτων σε ρυθμό μεγαλύτερο των 10 Hz. Όπως γίνεται φανερό είναι εφικτή η εφαρμογή της τεχνικής LIBS ως ένα ευαίσθητο ανιχνευτή για την παρακολούθηση διεργασιών στις οποίες υπάρχει μεταβολή της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων σε πραγματικό χρόνο. Επίσης είναι εφικτός ο συνδυασμός της τεχνικής LIBS με την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) καθώς η χρήση της HPLC είναι συνήθως απαραίτητη για την ανάλυση βιολογικών μιγμάτων.

Επόμενος στόχος της εργασίας είναι η ανάπτυξη της πειραματικής διάταξης LIBS επάνω στο φασματοόμετρο μάζας έτσι ώστε να γίνεται ταυτόχρονη λήψη των φασμάτων μάζας και LIBS. Θα πρέπει να εξεταστεί κατά πόσο επηρεάζεται το φάσμα μάζας από το πλάσμα που δημιουργείται και εάν είναι εφικτή η ανίχνευση ατομικών ιόντων από το φασματογράφο μάζας. Επίσης πρέπει να μελετηθεί η επίδραση που έχει στην ευαισθησία της τεχνικής LIBS η παρουσία πιο πολύπλοκης μήτρας, καθώς για τη σταθεροποίηση των των πρωτεϊνών γίνεται χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων αλλά και διάφορων οργανικών ενώσεων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] J. Goujon, A. Giakoumaki, V. Piñon, O. Musset, D. Anglos, E. Georgiou, J.P. Boquillon, **A compact and portable Laser Induced Breakdown Spectroscopy instrument for single and double pulse applications**, Spectrochimica. Acta B, 63, 1091–1096 (2008).
- [2] A. De Giacomo, M. Dell'Aglio, O. De Pascale, M. Capitelli, **From single pulse to double pulse ns-Laser Induced Breakdown Spectroscopy under water: Elemental analysis of aqueous solutions and submerged solid samples** Spectrochimica. Acta B, 62, 721–738 (2007).
- [3] S. Maurice et al, **The ChemCam Instrument Suite on the Mars Science Laboratory (MSL) Rover: Science Objectives and Mast Unit Description**, Space Science Reviews, 170, 95-166 (2012).
- [4] C. Janzen, R. Fleige, R. Noll, H. Schwenke, W. Lahmann, J. Knoth, P. Beaven, E. Jantzen, A. Oest, P. Koke, **Analysis of small droplets with a new detector for liquid chromatography based on laser-induced breakdown spectroscopy**, Spectrochimica Acta Part B, 60, 993 – 1001 (2005).
- [5] R. NK, R. AK, **LIBS-an efficient approach for the determination of Cr in industrial wastewater**, J Hazard Mater., 150, 835-8 (2008).
- [6] M.A. Aguirre, S. Legnaioli, F. Almodóvar, M. Hidalgo, V. Palleschi, A. Canals, **Elemental analysis by surface-enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy combined with liquid–liquid microextraction**, Spectrochimica Acta Part B, 79–80, 88–93 (2013).
- [7] D.M. Díaz Pace, C.A. D'Angelo, D. Bertuccelli, G. Bertuccelli, **Analysis of heavy metals in liquids using Laser Induced Breakdown Spectroscopy by liquid-to-solid matrix conversion**, Spectrochimica Acta Part B, 61, 929–933 (2006).
- [8] P. Yaroshchyk, R. J.S. Morrison, D. Body, B. L. Chadwick, **Quantitative determination of wear metals in engine oils using laser-induced breakdown spectroscopy: A comparison between liquid jets and static liquids**, Spectrochimica Acta Part B, 60, 986 – 992 (2005).
- [9] D. Brouard, J. Y. Gravel, M.L. Viger, D. Boudreau, **Use of sol–gels as solid matrixes for laser-induced breakdown spectroscopy**, Spectrochimica Acta Part B, 62, 1361–1369 (2007).
- [10] D. W. Hahn and M. M. Lunden, **Detection and analysis of aerosol particles by laser-induced breakdown spectroscopy**, Aerosol Science and Technology, 33, 30–48 (2000).
- [11] J. E. Carranza, B. T. Fisher, G. D. Yoder and D. W. Hahn, **On-line analysis of ambient air particles using laser-induced breakdown spectroscopy**, Spectrochimica Acta Part B, 56, 851–864 (2001).
- [12] D. W. Hahn, W. L. Flower and K. R. Hencken, **Discrete particle detection and metal emissions monitoring using laser-induced breakdown spectroscopy**, Applied spectroscopy, 51, 1836–1844 (1997).
- [13] P. K. Diwakar, K. H. Loper, A. Matiaskeb and D. W. Hahn, **Laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of micro and nanoparticles**, J. Anal. At. Spectrom., 27, 1110–1119 (2012).

- [14] J. E. Carranza and D. W. Hahn, **Sampling statistics and considerations for single-shot analysis using laser induced breakdown spectroscopy**, *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 779–790 (2002).
- [15] V. Hohreiter and D. W. Hahn, **Plasma–particle interactions in a laser induced plasma: implications for laser-induced breakdown spectroscopy**, *Anal. Chem.*, 78, 1509–1514 (2006).
- [16] P. K. Diwakar, S. Groh, K. Niemax and D. W. Hahn, **Study of analyte dissociation and diffusion in laser-induced plasmas: implications for laser-induced breakdown spectroscopy**, *J. Applied spectroscopy.*, 25, 1921–1930 (2010).
- [17] D. W. Hahn and N. Omenetto, **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part I: Review of Basic Diagnostics and Plasma–Particle Interactions: Still-Challenging Issues Within the Analytical Plasma Community**, *Applied spectroscopy*, 64, 335–366 (2010).
- [18] K. Park, G. Cho, J. Kwak, **Development of an Aerosol Focusing-Laser Induced Breakdown Spectroscopy for Determination of Fine and Ultrafine Metal Aerosols**, *Aerosol Science and Technology*, 43, 375–386 (2009).
- [19] D.C.S. Beddows, H.H. Telle, **Prospects of real-time single-particle biological aerosol analysis: A comparison between laser-induced breakdown spectroscopy and aerosol time-of-flight mass spectrometry**, *Spectrochimica Acta Part B* 60 1040 – 1059 (2005).
- [20] R. E. Neuhauser, U. Panne, R. Niessner, G. A. Petrucci, P. Cavalli and N. Omenetto, **On-line and in situ detection of lead aerosols by plasma-spectroscopy and laser-excited atomic fluorescence spectroscopy**, *Anal. Chim. Acta.*, 346, 37–48 (1997).
- [21] G. Gallou, J. B. Sirven, C. Dutouquet, O. Le Bihan, and E. Frejafon, **Aerosols Analysis by LIBS for Monitoring of Air Pollution by Industrial Sources**, *Aerosol Science and Technology*, 45, 918–926 (2011).
- [22] N. Aras, S. Ü. Yeşiller, D. A. Ateş, Ş. Yalçın, **Ultrasonic nebulization-sample introduction system for quantitative analysis of liquid samples by laser-induced breakdown spectroscopy**, *Spectrochimica Acta Part B* 74–75, 87–94(2012).
- [23] E. M. Cahoon and J. R. Almirall, **Quantitative Analysis of Liquids from Aerosols and Microdrops Using Laser Induced Breakdown Spectroscopy**, *Anal. Chem.*, 84, 2239–2244 (2012).
- [24] P. B. Dixon and D. W. Hahn, **Feasibility of Detection and Identification of Individual Bioaerosols Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy**, *Anal. Chem.*, 77, 631–638 (2005).
- [23] J. D. Hybl, G. A. Lithgow, and S. G. Buckley, **Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Detection and Classification of Biological Aerosols**, *Applied spectroscopy*, 57, 1207–1215 (2003).
- [25] E. Gibb-Snyder, B. Gullett, S. Ryan, L. Oudejans, A. Touati, **Development of size selective sampling of Bacillus anthracis surrogate spores from simulated building air intake mixtures for analysis via laser-induced breakdown spectroscopy**, *Applied spectroscopy*, 60, 860–870 (2006).

- [26] A. Pell, G. Kokkinis, P. Malea, S. A. Pergantis, R. Rubio, J. F. Lopez-Sanchez, **LC-ICP-MS Analysis of Arsenic Compounds in Dominant Seaweeds from Thermaikos Gulf (Northern Aegean Sea, Greece)**, *Chemosphere*, 93, 2187–2194 (2013).
- [27] V. Nischwitz, K. Kanaki and S. A. Pergantis, **Mass spectrometric identification of novel arsiniothiyl-sugars in marine bivalves and algae**, *J. Anal. At. Spectrom.*, 21, 33-40 (2006).
- [28] V. G. Santos, T. Regiani, F. G. Dias, W. Romão, J. Jara, C. F. Klitzke, F. Coelho, and M. N. Eberlin, **Venturi Easy Ambient Sonic-Spray Ionization**, *Anal. Chem.*, 83, 1375–1380 (2011).
- [29] O. Kokkinaki, C. Mihesan, M. Velegarakis, D. Anglos, **Comparative study of laser induced breakdown spectroscopy and mass spectrometry for the analysis of cultural heritage materials**, *Journal of Molecular Structure* ,1044, 160–166 (2013).
- [30] T. Tjarnhage, P. Gradmark, A. Larsson, A. Mohammed, L. Landstrom, E. Sagerfors, P. Jonsson, F. Kullander, M. Andersson, **Development of a laser-induced breakdown spectroscopy instrument for detection and classification of single-particle aerosols in real-time**, *Optics Communications* ,296, 106–108 (2013).
- [31] T.H. Maiman, **Stimulated optical radiation in ruby**, *Nature*, 187, 493–494 (1960).
- [32] F. Breach and L. Cross, **Optical microemission stimulated by a ruby laser**, *Applied spectroscopy*, 16, 59 (1962).
- [33] P.D. Maker, R.W. Terhune and C.M. Savage, *Proc. 3rd Inter. Conf. Quantum Electr*, Paris, Columbia University Press, New York, 2, 1559 (1964).
- [34] E.F. Runge, R.W. Minck and F.R. Bryan, **Spectrochemical analysis using a pulsed laser source**, *Spectr. Acta* , 20, 733 (1964).
- [35] M. Young, M. Hercher and C.-Y. Yu, **Some characteristics of laser-induced air sparks**, *J. Appl. Phys.*, 37, 4938 (1966).
- [36] D. A. Cremers and L. J. Radziemski, **Handbook of Laser – Induced Breakdown Spectroscopy**, John Wiley & Sons Ltd, 2006.
- [37] C. Haisch and U. Panne , **Laser- induced plasma spectroscopy (LIPS) in action**, *Atom. Spectrosc.* 9, 8-14 (1997).
- [38] M. Sabsabi and P. Cielo, **Quantitative Analysis of Aluminum Alloys by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Plasma Characterization**, 49, 499-507 (1995).
- [39] <http://www.nist.gov/pml/data/asd.cfm>
- [40] <http://www.cfa.harvard.edu/amp/ampdata/kurucz23/sekur.html>
- [41] J. P. Singh and S. N. Thakur, **Laser Induced Breakdown Spectroscopy**, Elsevier. 1st edition, 2007
- [42] G. M. Weyl and D. Rosen, **Laser-induced breakdown in argon at 0.35 μm : Theory and experiments**, *The American Physical Society*, 31, 2300-2313 (1985).
- [43] G. Cristoforetti, A. De Giacomo, M. Dell'Aglio, S. Legnaioli, E. Tognoni, V. Palleschi, N. Omenetto, **Local Thermodynamic Equilibrium in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: Beyond the McWhirter criterion**, *Spectrochimica Acta Part B*, 65, 86–95 (2010).

- [44] V. Piñon, D. Anglos, **Optical emission studies of plasma induced by single and double femtosecond laser pulses**, *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 950–960 (2009).
- [45] J.A. Aguilera, C. Aragón, **Multi-element Saha–Boltzmann and Boltzmann plots in laser-induced plasmas**, *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 378–385 (2007).
- [46] R.W.P. McWhirter, **Spectral intensities in: R.H. Huddleston, S.L. Leonard (Eds.), Plasma Diagnostic Techniques**, Academic Press, 1965, Chapter 5.
- [47] P.W. Atkins, **Φυσικοχημεία II**, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης 2009.
- [48] L. Pardini, S. Legnaioli, G. Lorenzetti, V. Palleschi, R. Gaudiuso, A. De Giacomo, D.M. Diaz Pace, F. Anabitarte Garcia, G. de Holanda Cavalcanti and C. Parigger, **On the determination of plasma electron number density from Stark broadened hydrogen Balmer series lines in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy experiments**, *Spectrochimica Acta Part B*, 88, 98–103 (2013).
- [49] W. T. Chan and R. E. Russo, **Study of laser-material interactions using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry**, *Spectrochimica Acta Part B*, 46, 1471–1486 (1991).
- [50] D. Bulajic, M. Corsi, G. Cristoforetti, S. Legnaioli, V. Palleschi, A. Salvetti, E. Tognoni, **A procedure for correcting self-absorption in calibration free-laser induced breakdown spectroscopy**, *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 339–353 (2002).
- [51] E. Tognoni, G. Cristoforetti, S. Legnaioli, V. Palleschi, **Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: State of the art**, *Spectrochimica Acta Part B*, 65, 1–14 (2010).
- [52] E. Tognoni, G. Cristoforetti, S. Legnaioli, V. Palleschi, A. Salvetti, M. Mueller, U. Panne, I. Gornushkin, **A numerical study of expected accuracy and precision in Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy in the assumption of ideal analytical plasma**, *Spectrochimica Acta Part B*, 62, 1287–1302 (2007).
- [53] D. C. Harris, **Quantitative chemical Analysis**, 8th edition, W.H. Freeman and Company, New York.
- [54] A. Hirabayashi, M. Sakairi and H. Koizumi, **Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry**, *Anal. Chem*, 66, 4557–4559 (1994).
- [55] L. W. Zilch, J. T. Maze, J. W. Smith, G. E. Ewing, M. F. Jarrold, **Charge Separation in the Aerodynamic Breakup of Micrometer-Sized Water Droplets**, *J. Phys. Chem. A*, 112, 13352–13363 (2008).
- [56] Z. Takats, S. C. Nanita, R. Graham Cooks, G. Schlosser, K. Vekey, **Amino Acid Clusters Formed by Sonic Spray Ionization**, *Anal. Chem*, 75, 1514–1523 (2003).
- [57] J. L. Todoli and J. M. Mermet, **Liquid sample introduction in ICP spectrometry a practical guide**, 1st edition, Elsevier 2008
- [58] Andor Technology, **Andor iStar ICCD user's guide**.
- [59] C. Aragón, J.A. Aguilera, **Characterization of laser induced plasmas by optical emission spectroscopy: A review of experiments and methods**, *Spectrochimica Acta Part B*, 63, 893–916 (2008).

- [60] S.Z. Mikhall and W.R. Kimel, **Densities and Viscosities of Methanol-Water Mixtures**, Journal of Chemical and Engineering Data, 6 (1961).
- [61] D.M.T. Newsham and E.J. Mendez-Lecanda, **Isobaric enthalpies of vaporization of water, methanol, ethanol, propan-2-01, and their mixtures**, J. Chem. Thermodynamics, 14, 291-301 (1982).
- [62] Cass, A.E.G., **Superoxide dismutases**. Top. Mol. Struct. Biol., 6, 121-56 (1985).
- [63] Smith, R. D., et al., **New developments in biochemical mass spectrometry: electrospray ionization**, Anal. Chem., 62, 882-899 (1990).
- [64] X. Yu , Y. Li, X. Gu, J. Bao, H. Yang, L. Sun, **Laser-induced breakdown spectroscopy application in environmental monitoring of water quality: a review**, Environ Monit Assess 186,8969–8980 (2014)