# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ



# ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ανάπτυξη και εφαρμογή ταυτόχρονης ατομικής φασματοσκοπίας εκπομπής πλάσματος λέιζερ και μοριακής φασματομετρίας μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (LIBS-SSI-MS) στη μελέτη βιομορίων και συμπλόκων

# ΜΑΡΜΑΤΑΚΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

# ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΑΓΓΛΟΣ

**НРАКЛЕІО 2020** 

# UNIVERSITY OF CRETE DEPARTMENT OF CHEMISTRY



**Doctoral Thesis** 

# Development and application of simultaneous Laser-Induced Breakdown Spectroscopy with Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (LIBS-SS-MS) in the study of biomolecules and coordination compounds

# MARMATAKIS KONSTANTINOS

THESIS SUPERVISOR: DEMETRIOS ANGLOS

**HERAKLION 2020** 

# ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

# Δημήτριος Άγγλος

Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης (Επιβλέπων)

# Σπυρίδων Περγαντής

Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

# Μιχαήλ Βελεγράκης

Διευθυντής Ερευνών, Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ, Ιδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας

# Θεοφάνης Κιτσόπουλος

Καθηγητής, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

# Στυλιανός Κουρής

Καθηγητής, Τμήμα Φυσικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

# Επαμεινώνδας Μαστοράκος

Καθηγητής, Τμήμα Μηχανικής, Πανεπιστήμιο Cambridge

# Δημήτριος Παπάζογλου

Καθηγητής, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, Πανεπιστήμιο Κρήτης

### ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	11
Βιογραφικό Σημειωμα	13
CURRICULUM VITAE	17
Перілнψн	21
Abstract	23
Καταλογός Σύντομογραφίων	25
Καταλογός Σχηματών	27
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	35
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	
ΕιΣΑΓΩΓΗ	
ΘεΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ	49
ΦαΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΕΠΑΓΟΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΛΕΙΖΕΡ	49
2.1. Κατάσταση Πλάσματος	50
2.2. Δημιουργία πλάσματος σε αέρια– Αλληλεπίδραση φωτός-ύλης	50
2.2.1. Μηχανισμός χιονοστιβάδας	51
2.2.2. Πολυφωτονικός ιοντισμός	52
2.3. Χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το πλάσμα	52
2.3.1. Ακτινοβολία πέδησης	54
2.3.2. Ατομικές γραμμές εκπομπής	55
2.3.3. Μοριακές ταινίες εκπομπής	56
2.4. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δημιουργία και εξέλιξη του πλάσματος	57
2.4.1. Μήκος κύματος ακτινοβολίας	57
2.4.2. Ενέργεια ακτινοβόλησης	58
2.4.3. Διάρκεια παλμού	59
2.4.4. Φυσικοχημικές ιδιότητες υλικού στόχου	60
2.4.5. Περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος	61
2.5. Χαρακτηριστικά του πλάσματος	61
2.5.1. Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία	62
2.5.2. Ηλεκτρονιακή πυκνότητα	63
2.5.3. Προσδιορισμός της θερμοκρασίας	63
2.6. Προφίλ ατομικών γραμμών εκπομπής	64
2.6.1. Φυσική διαπλάτυνση	65
2.6.2. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Doppler	66

2.6.3. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark	66
2.7. Η φασματοσκοπία LIBS ως αναλυτική τεχνική	67
2.7.1. Ποιοτική ανάλυση	68
2.7.2. Ποσοτική ανάλυση	68
2.7.3. Μέθοδος καμπύλης αναφοράς	70
2.7.4. Μέθοδος Calibration – free	71
2.7.5. Όριο ανίχνευσης	72
ΦαΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ ΥΠΕΡΗΧΗΤΙΚΟΥ ΙΟΝΤΙΣΜΟΥ	74
2.8. Υπερηχητικός ιοντισμός	74
2.9. Βιβλιογραφία	76
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	79
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ-ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ	79
3.1. Πειραματική διάταξη LIBS	79
3.2. Πειραματική διάταξη SSI-MS	80
3.3. Οργανολογία	80
3.3.1. Εκνεφωτής	80
3.3.2. Λέιζερ	82
3.3.3. Οπτικά	82
3.3.4. Φωτοδίοδος	83
3.3.5. Παλμογεννήτρια	84
3.3.6. Φασματογράφος	84
3.3.7. Ανιχνευτής	84
3.3.8. Φασματόμετρο Μάζας	86
3.4. Βιβλιογραφία	87
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	89
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ LIBS-SSI-MS	89
4.1. Πειραματική διάταξη LIBS-SSI-MS	90
4.2. Βελτιστοποίηση συστήματος LIBS-SSI-MS	92
4.3. Επίδραση της παρουσίας του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας	92
4.3.1. Μελέτη διαλυμάτων τριφθοροξικού νατρίου (STFA)	93
4.3.2. Ανάλυση Γλουταθειόνης	103
4.3.3. Ανάλυση Μυοσφαιρίνης	106
4.3.4. Εξάρτηση από την ενέργεια του παλμού λέιζερ	109
4.3.5. Εξάρτηση από τη θέση του πλάσματος	110

4.4. Επικύρωση τεχνικής LIBS-SSI-MS	112
4.4.1. Μελέτη συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA	112
4.4.2. Μελέτη συμπλόκου Cu <sub>6</sub> -Er	
4.5. Χαρακτηρισμός μεταλλοπρωτεϊνών	120
4.5.1. Σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD)	
4.5.2. α-λακταλβουμίνη (LALBA)	123
4.6. Συμπεράσματα	
4.7. Βιβλιογραφία	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	
Μελετή πλασματός με χρονικώς αναλύομενη απεικονιστική φασματόσκοπια	
5.1. Πειραματική διάταξη	
5.2. Χαρακτηρισμός της περιοχής εστίασης του παλμού λέιζερ	
5.3. Εξάρτηση της θέσης σχηματισμού πλάσματος στον στατικό αέρα από την ενέργεια παλμού λέιζερ	x του 133
5.4. Μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα	
5.5. Χαρακτηρισμός του αερολύματος με Laser Sheet Imaging	
5.6. Χρονική εξέλιξη του πλάσματος που σχηματίζεται σε συνθήκες εκνέφωσης απουσ αερολύματος	ία του 146
5.7. Χρονική εξέλιξη του πλάσματος που σχηματίζεται στο αερόλυμα	150
5.8. Συμπεράσματα	
5.9. Βιβλιογραφία	158
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	
UV- Femtosecond Libs	
6.1. Πειραματική διάταξη	
6.2. Φωτοαποδόμηση του αέρα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ	
6.3. Προσδιορισμός βέλτιστης γεωμετρίας της πειραματικής διάταξης	
6.3.1. Μελέτη της σχετικής θέσης του άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή ως προς την τ σχηματισμού πλάσματος	τεριοχή 168
6.3.2. Μελέτη της απόστασης του ακροφυσίου του εκνεφωτή από την περιοχή σχημ πλάσματος	ιατισμού 169
6.4. Χρονική εξέλιξη της εκπομπής του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα	
6.5. Ποσοτικός προσδιορισμός μεταλλικών ιόντων σε υδατικά διαλύματα	171
6.5.1. Καμπύλες αναφοράς ιόντων Ca <sup>2+</sup>	171
6.5.2. Καμπύλες αναφοράς ιόντων Ba <sup>2+</sup>	172
6.6. Double Pulse Femtosecond LIBS	

6.7. Μελέτη της επίδρασης του χρονικού διαχωρισμού των παλμών στην ευαισθησία της	
μέτρησης LIBS	174
6.8. Συμπεράσματα	178
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	181
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	181

### ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ τον Θεό που με φωτίζει σε κάθε βήμα της ζωής μου, και με αξίωσε να φέρω εις πέρας τη διδακτορική διατριβή μου. Ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δημήτριο Άγγλο, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου, τις πολύτιμες γνώσεις που μου προσέφερε, όπως και για την ατελείωτη υπομονή που έδειξε όλα τα χρόνια της συνεργασίας μας, από την πρώτη στιγμή που πήγα στο εργαστήριό του, ως προπτυχιακός φοιτητής για την εκπόνηση της πρακτικής μου άσκησης (2011), έως τη στιγμή που ολοκλήρωσα τη διδακτορική διατριβή μου (2020). Μπορώ να πω ότι μου στάθηκε επιστημονικά σαν πατέρας, όπου με τη διαρκή στήριξη και την σοφή καθοδήγηση που μου προσέφερε, με ωθούσε ώστε να βελτιώνομαι συνεχώς ως επιστήμονας αλλά και ως άνθρωπος.

Επίσης ευχαριστώ τον καθηγητή Σπυρίδωνα Περγαντή, ο οποίος εξέφρασε την ιδέα επάνω στην οποία βασίστηκε όλη η έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής μου εργασίας, αλλά και της διδακτορικής μου διατριβής. Τον ευχαριστώ που με μύησε στον κόσμο της φασματομετρίας μάζας και για τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα από τη συνεργασία μαζί του. Επίσης τον ευχαριστώ για τη διαρκή του υποστήριξη και καθοδήγηση που μου προσέφερε απλόχερα.

Ευχαριστώ τα μέλη της επταμελούς επιτροπής, πιο συγκεκριμένα τον κ. Μιχαήλ Βελεγράκη, τον κ. Δημήτριο Παπάζογλου, τον κ. Θεοφάνη Κιτσόπουλο, τον κ. Στυλιανό Κουρή και τον κ. Επαμεινώνδα Μαστοράκο, που δέχτηκαν να κρίνουν την εργασία μου, όπως και για τα εύστοχα σχόλια και τις παρατηρήσεις που έκαναν.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ οφείλω στους γονείς μου Ευτύχιο και Ιωάννα, τα αδέρφια μου, Δημήτριο και Εμμανουήλ, για την κατανόηση, τη στήριξη και τη συμπαράσταση που μου προσφέρουν όλα τα χρόνια της ζωής μου. Επίσης ευχαριστώ την αγαπούλα μου την Αγγελίνα για τις όμορφες στιγμές και τη διαρκή στήριξή της.

Συνεχίζοντας θέλω να ευχαριστήσω όλα τα μέλη των ερευνητικών ομάδων του κ. Άγγλου και του κ. Περγαντή για το ευχάριστο κλίμα συνεργασίας στα εργαστήρια. Επίσης ευχαριστώ τον Αποστόλη Εγγλέζη, για τις πρακτικές γνώσεις που μου μετέδωσε, όπως και για τη μεγάλη προθυμία που έδειχνε στο να ρυθμίζει συστηματικά το «καλύτερο» fs-KrF λέιζερ που υπάρχει στην Κρήτη. Επίσης ευχαριστώ τον Ιωάννη Λαμπράκη για τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη μεταφορά του εξοπλισμού μεταξύ των εργαστήριων του πανεπιστημίου και του ΙΤΕ.

11

Ολοκληρώνοντας ευχαριστώ το τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης και το Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ του Ιδρύματος Τεχνολογίας και Έρευνας (ΙΗΔΛ-ΙΤΕ) για την παροχή υλικοτεχνικής υποστήριξης.

Η ερευνητική εργασία υποστηρίχθηκε από το Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛΙΔΕΚ) και από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (ΓΓΕΤ), στο πλαίσιο της Δράσης «Υποτροφίες ΕΛΙΔΕΚ Υποψηφίων Διδακτόρων» (αρ. Σύμβασης 670), και από το έργο HELLAS-CH (MIS 5002735) στο ΙΗΔΛ-ΙΤΕ.



# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ	Κωνσταντίνος Μαρματάκης				
	የ Κάντανος, Χανιά, GR 730 04, Ελλάδα				
	<b>└</b> +30 2823022216				
	konstantinosmarmatakis@gmail.com				
	Φύλο: Άρρεν   Ημερομηνία γέννησης: 11/12/1990   Εθνικότητα: Ελληνική				
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ					
21/07/2015 – 05/03/2020	<b>Διδακτορικό Δίπλωμα</b> Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας - Τομέας Φυσικοχημείας, GR 710 03 Ηράκλειο, Κρήτη – Ελλάδα, <u>www.chemistry.uoc.gr</u>				
	Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ – Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Τ.Θ. 1385, GR 711 10 Ηράκλειο, Κρήτη — Ελλάδα, <u>www.iesl.forth.gr/</u>				
	«Ανάπτυξη και εφαρμογή υβριδικής μεθοδολογίας ταυτόχρονης ατομικής και μοριακής φασματομετρίας (LIBS-SSI-MS) στη μελέτη βιομορίων και συμπλόκων»				
2013 – 2015	<b>Πρόγραμμα Οινολογικής Κατάρτισης</b> Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας,  GR 710 03 Ηράκλειο, Κρήτη – Ελλάδα				
2012 – 2014	Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης ΑΡΙΣΤΑ Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας - Τομέας Φυσικοχημείας, GR 710 03 Ηράκλειο, Κρήτη – Ελλάδα, www.chemistry.uoc.gr				
	Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ – Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Τ.Θ. 1385, GR 711 10 Ηράκλειο, Κρήτη — Ελλάδα, <u>www.iesl.forth.gr/</u>				
	«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)»				
2008 – 2012	<b>Πτυχίο Χημείας</b> Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας, GR 710 03 Ηράκλειο, Κρήτη – Ελλάδα – Ελλάδα, <u>www.chemistry.uoc.gr</u>				
ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ					
1/10/2016 – 20/12/2016	Εργαστήριο Φυσικοχημείας				
1/10/2015 – 10/12/2015	Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας				
1/10/2013 - 20/12/2013	<ul> <li>Αρμόδιος για την διεξαγωγή της εργαστηριακής άσκησης «Ατομική Φασματοσκοπία».</li> </ul>				
1/2/2013 – 30/6/2013	Εργαστήριο Γενικής Χημείας Πανεπιστήμιο Κρήτης - Σχολή Θετικών και Τεχνολογικών Επιστημών - Τμήμα Χημείας				
	<ul> <li>Αρμόδιος για την επίβλεψη πρωτοετών φοιτητών κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων.</li> </ul>				
ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ					
1/7/2011 – 30/9/2011	<b>Πρακτική Άσκηση</b> Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ – Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας, Τ.Θ. 1385, GR 711 10 Ηράκλειο, Κρήτη — Ελλάδα, <u>www.iesl.forth.gr/</u>				

Σύνθεση νανοσωματιδίων αργύρου για εφαρμογές φασματοσκοπίας Raman

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ					
Μητρική γλώσσα	Ελληνική				
Λοιπές γλώσσες	ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ		C	ΜΙΛΙΑ	ГРАФН
	Προφορική	Γραπτή (ανάγνωση)	Επικοινωνία	Προφορική έκφραση	
Αγγλική	B2	B2	B2	B2	B2
	ECCE MICHIGAN CERTIFICATE OF COMPETENCY IN ENGLISH του Πανεπιστημίου MICHIGAN.				
Επαγγελματικές δεξιότητες	<ul> <li>Χειρισμός συστημάτων λέιζερ</li> <li>Χειρισμός παλμικών λέιζερ Nd:YAG</li> <li>Χειρισμός ανιχνευτών σύζευξης φορτίου με ενισχυτή εικόνας (ICCD)</li> <li>Σχεδιασμός και ανάπτυξη πειραματικών διατάξεων φασματοσκοπίας LIBS</li> <li>Χειρισμός φασματόμετρου μάζας με πηγή υπερηχητικού ιοντισμού (SSI-MS)</li> <li>Χειρισμός μικροσκοπίου Raman</li> </ul>				
Δεξιότητες πληροφορικής	▪ Χειρισμός των εργαλείων Microsoft Office™ (Word, Excel, PowerPoint) ▪ Χειρισμός επιστημονικού λογισμικού Origin για τη κατασκευή γραφημάτων και ανάλυση δεδομένων				
Δίπλωμα οδήγησης	<ul> <li>Κατηγορία Β</li> </ul>				
ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ					
Δημοσιεύσεις					
	Δημοσιευσεις σε οιεθνή περιοοικά με κριτες K. Marmatakis, S.A. Pergantis, D. Anglos «Elemental and Molecular Analysis of Metal Containing Biomolecules Using Laser Induce Breakdown Spectroscopy and Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry: A Step Towards Fu				
					ng Laser Induced Step Towards Full
	Spectrochimica A	cta Part B: Atomic Speci	troscopy, <b>126</b> ,103	-109, 2016, DOI: 10.1016	6/j.sab.2016.10.020
Συνέδρια					
Ομιλίες	<u>K. Marmatakis</u> , S./ «Coupling LIBS 10th Euro-Mediter Republic, 8-13/09/2019	A. Pergantis and D. Ang to SSI-MS: Interfe rranean Symposium of	los erence of plas n Laser Induced	ma formation with Breakdown Spectroso	mass analysis» copy, Brno, Czech
	<u>K. Marmatakis</u> , S	.A. Pergantis and D. A	Anglos		
	«LIBS-SSI-MS: A	new technique for the	e characterizatio	n of metal containing l	biomolecules and
	complexes» 10 <sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis (IMA 2017), Heraklion, 17-21/09/2017				
	<u>Κ. Μαρματάκης,</u> Σ	. Περγαντής, Δ. Άγγλος			
	«Συνδυασμός φα υπερηχητικού ιοντι Συνέδριο μεταπτυ)	σματοσκοπίας πλάσμα ισμού για τη μελέτη μετα γιακών φοιτητών Χημεία	ατος επαγόμενοι αλλοπρωτεϊνών» ις, Ηράκλειο, 26-2	υ από λέιζερ με φας 8/03/2016	σματομετρία μάζας
	K. Marmatakis. O.	Kokkinaki, S. A. Pergan	itis. D. Analos		
	«Combining LIBS containing biomole	and SSI-MS. Towards cules and complexes»	simultaneous el	emental and molecula	r analysis of metal
	8 <sup>th</sup> Euro-Mediterra 14-18/09/2015	nean Symposium on La	ser Induced Brea	kdown Spectroscopy, Li	inz, Austria,

#### Γραπτές παρουσιάσεις (Poster) <u>K. Marmatakis</u> and D. Anglos

«Exploiting UV-femtosecond LIBS in single- and double-pulse modes for the analysis of aqueous aerosols»

 $10^{\text{th}}$  International Conference on Instrumental Methods of Analysis (IMA 2017), Heraklion, 17-21/09/2017

K. Marmatakis, S. A. Pergantis, D. Anglos

«LIBS-SSI-MS: Simultaneous elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules». 9<sup>th</sup> Euro-Mediterranean Symposium on Laser Induced Breakdown Spectroscopy + Colloquium Spectroscopicum Internationale XL, Pisa, Italy, 11-16/06/2017

#### Best poster award

O. Kokkinaki, <u>K. Marmatakis</u>, P. Siozos, D. Anglos «Real-time Monitoring by LIBS of Scale Dissolution Processes» 7<sup>th</sup> Euro-Mediterranean Symposium on Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Bari, Italy, 16-20/09/ 2013

K. Kanaki, O. Kokkinaki, K. Marmatakis, D. Anglos, <u>S. A. Pergantis</u> «Progress Towards the Development of a Combined Molecular and Atomic Spectrometry System: Sonic Spray Ionization MS with Laser Induced Breakdown Spectroscopy» American Society for Mass Spectrometry, Minneapolis, 9-13/06/2013

#### Υποτροφίες Ελληνικό Ίδρυμα Έρευνας και Καινοτομίας (ΕΛ.ΙΔ.Ε.Κ.)

«1η Προκήρυξη ΕΛΙΔΕΚ για υποψήφιους διδάκτορες» Αριθμός σύμβασης: 31445, Διάρκεια: 1/08/2017-30/11/2018, Ποσό: € 12600

#### Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ)

«Πρόγραμμα Χορήγησης Υποτροφιών ΙΚΥ με Διαδικασία Εξατομικευμένης Αξιολόγησης» – Οριζόντια Πράξη Ακαδημαϊκού έτους 2013-2014 για Μεταπτυχιακές Σπουδές Πρώτου Κύκλου στην Ελλάδα και το Εξωτερικό. Αριθμός συμβολαίου: 2013-ΕΣΠΑ-ΠΕ3-2571, Διάρκεια: 1/12/2013-30/11/2014, Ποσό: € 5400

Διάκριση μεταξύ 120 υποψηφίων για τις 40 θέσεις στο πεδίο των Μαθηματικών, της Φυσικής και της Χημείας, με σειρά κατάταξης 19.

# **CURRICULUM VITAE**

#### PERSONAL INFORMATION

Konstantinos Marmatakis



ア Kandanos, GR 73004, Chania, Greece

konstantinosmarmatakis@gmail.com

Sex: Male | Date of birth: 11/12/1990 | Nationality: Greek

### EDUCATION AND TRAINING

21/07/2015 - 5/03/2020

#### PhD

University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry - Physical Chemistry Division, GR 710 03, Heraklion, Crete, Greece, www.chemistry.uoc.gr

Institute of Electronic Structure and Laser – Foundation for Research and Technology-Hellas, P.O. Box 1385, GR 711 10 Heraklion, Crete, Greece, www.iesl.forth.gr/

Thesis title: "Development and application of simultaneous Laser-Induced Breakdown Spectroscopy with Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (LIBS-SS-MS) in the study of biomolecules and co-ordination compounds"

#### 2013 – 2015 Oenology training program

University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry - Physical Chemistry Division, GR 710 03, Heraklion, Crete, Greece, www.chemistry.uoc.gr

#### 2012-2014 MSc

#### EXCELLENT

University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry - Physical Chemistry Division, GR-710 03, Heraklion, Crete, Greece, www.chemistry.uoc.gr

Institute of Electronic Structure and Laser – Foundation for Research and Technology-Hellas, P.O. Box 1385, GR 711 10 Heraklion, Crete, Greece, <a href="http://www.iesl.forth.gr/">www.iesl.forth.gr/</a>

Thesis title: "Investigating Metal Ions and Metalloproteins in Aqueous Solutions Using Pneumatic Nebulization with Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) and Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry (SSI-MS)"

#### 2008 – 2012 BSc, Chemistry

#### GPA: 7.30/10

University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry - Physical Chemistry Division, GR 710 03, Heraklion, Crete, Greece, www.chemistry.uoc.gr

TEACHING EXPERIENCE				
	Graduate Teaching Assistant			
1/10/2016 – 20/12/2016 1/10/2015 – 10/12/2015 1/10/2013 – 20/12/2013	Undergraduate Physical Chemistry Laboratory University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry Atomic Spectroscopy experiment			
1/02/2013 - 20/05/2013	Undergraduate General Chemistry Laboratory University of Crete – School of Sciences and Engineering – Department of Chemistry			

Supervision of first-year students in conducting experiments

WORK EXPERIENCE					
1/7/2011 — 30/9/2011	Practical Training Institute of Electronic Structure and Laser – Foundation for Research and Technology-Hellas, P.O. Box 1385, GR 711 10 Heraklion, Crete – Greece, <u>www.iesl.forth.gr/</u>				
	<ul> <li>Synthesis of Ag nar</li> </ul>	oparticle colloids fo	or Raman spectrosco	by applications	
PERSONAL SKILLS					
Mother tongue	Greek				
Other language	UNDERST	ANDING	SPEA	KING	WRITING
	Listening	Reading	Spoken interaction	Spoken production	
English	B2	B2	B2	B2	B2
	ECCE MICHIGAN CERTIFICATE OF COMPETENCY IN ENGLISH, University of MICHIGAN.				
Job-related skills	<ul> <li>Operating Nd:YAG lasers (with harmonics), femtosecond KrF excimer laser.</li> <li>Design and development of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy experimental setups (spectroscopy and plume imaging)</li> <li>Use of Sonic-Spray Ionization-Mass Spectrometry instrumentation</li> <li>Experience with Raman microscopy systems</li> </ul>				
Digital skills	<ul> <li>Microsoft Office™ (Word, Excel, PowerPoint)</li> <li>Origin software for graph and data analysis</li> </ul>				
Driving licence	• Type B				
ADDITIONAL INFORMATION					
Publications	International peer reviewed journals				
	K. Marmatakis, S.A. I	Pergantis, D. Anglo	S		
	«Elemental and Molecular Analysis of Metal Containing Biomolecules Using Laser Breakdown Spectroscopy and Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry: A Step Tow Integration and Simultaneous Analysis»				ng Laser Induced Step Towards Full
	ectroscopy, <b>126</b> ,103-10	9, 2016, DOI: 10.1016/	j.sab.2016.10.020		
Conferences					
Oral Presentations	<u>K. Marmatakis</u> , S.A. Pergantis and D. Anglos «Coupling LIBS to SSI-MS: Interference of plasma formation with mass analysis» 10th Euro-Mediterranean Symposium on Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Brno, Czech Republic, 8-13/09/2019				
	K. Marmatakis, S.A. Pergantis and D. Anglos				
	«LIBS-SSI-MS: A new technique for the characterization of metal containing biomolecules and complexes» 10 <sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis (IMA 2017), Heraklion, 17-21/09/2017				
	K. Marmatakis, O. Kokkinaki, S. A. Pergantis, <u>D. Anglos</u>				
	«Combining LIBS and SSI-MS. Towards simultaneous elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules and complexes»				
	8 <sup>th</sup> Euro-Mediterranea 14-18/09/2015	an Symposium on	Laser Induced Breako	lown Spectroscopy, Li	inz, Austria,

#### Poster Presentations K. Marmatakis and D. Anglos

«Exploiting UV-femtosecond LIBS in single- and double-pulse modes for the analysis of aqueous aerosols»

 $10^{\rm th}$  International Conference on Instrumental Methods of Analysis (IMA 2017), Heraklion, 17-21/09/2017

K. Marmatakis, S. A. Pergantis, D. Anglos

«LIBS-SSI-MS: Simultaneous elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules».

9<sup>th</sup> Euro-Mediterranean Symposium on Laser Induced Breakdown Spectroscopy + Colloquium Spectroscopicum Internationale XL, Pisa, Italy, 11-16/06/2017

#### Best poster award

O. Kokkinaki, <u>K. Marmatakis</u>, P. Siozos, D. Anglos «Real-time Monitoring by LIBS of Scale Dissolution Processes» 7<sup>th</sup> Euro-Mediterranean Symposium on Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Bari, Italy, 16-20/09/ 2013

K. Kanaki, O. Kokkinaki, K. Marmatakis, D. Anglos, <u>S. A. Pergantis</u> «Progress Towards the Development of a Combined Molecular and Atomic Spectrometry System: Sonic Spray Ionization MS with Laser Induced Breakdown Spectroscopy» American Society for Mass Spectrometry, Minneapolis, 9-13/06/2013

#### Fellowships Hellenic Foundation for Research and Innovation (HFRI)

«HFRI PhD fellowships»

Contract: 31445, Duration: 1/08/2017-30/11/2018, Funding: € 12600

#### Hellenic State Scholarships Foundation (HSSF)

HSSF Fellowships project through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the European Social Fund (ESF) of the National Strategic Reference Framework (NSRF, 2007–2013). Contract: 2013-EΣΠΑ-ΠΕ3-2571, Duration: 1/12/2013-30/11/2014, Funding: € 5400

### Περιληψη

Στο πλαίσιο της παρούσας ερευνητικής εργασίας πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη μιας νέας υβριδικής αναλυτικής μεθόδου (LIBS-SSI-MS), η οποία συνδυάζει τη μοριακή φασματομετρία μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (Sonic Spray Ionization Mass Spectrometry, SSI-MS) με τη φασματοσκοπία εκπομπής πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS). Η μέθοδος προσφέρει τη δυνατότητα χαρακτηρισμού διαλυμάτων παρέχοντας πληροφορίες σε πραγματικό χρόνο σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση, καθώς και τη μοριακή μάζα των ενώσεων που περιέχουν. Ο συνδυασμός των δύο τεχνικών βασίζεται στη χρήση πνευματικού εκνεφωτή, ο οποίος μετατρέπει το προς ανάλυση διάλυμα σε αερόλυμα. Τα σταγονίδια στο αερόλυμα παράγονται επιφανειακώς φορτισμένα, εξαιτίας φαινομένων υπερηχητικού ιοντισμού, με αποτέλεσμα τη δημιουργία μοριακών ιόντων του αναλύτη στην αέρια φάση, τα οποία ανιχνεύονται από το φασματόμετρο μάζας. Παράλληλα, με την εστίαση παλμών λέιζερ στο εκνέφωμα, τμήμα του αερολύματος μετατρέπεται σε πλάσμα και, μέσω του φάσματος εκπομπής αυτού, καθίσταται εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης του δείγματος.

Για την αξιολόγηση της ακρίβειας και της δυναμικής της τεχνικής LIBS-SSI-MS χαρακτηρίστηκαν πρότυπα διαλύματα υδατικά και μη, συμπλόκων ασβεστίου και βαρίου με το EDTA, δύο μεταλλοπρωτεϊνών, πιο συγκεκριμένα της σουπεροξειδικής δισμουτάσης και της α-λακταλβουμίνης, καθώς και μίας ένωσης συναρμογής, η οποία περιέχει μεταλλικά ιόντα χαλκού και ερβίου ([Cu<sub>6</sub><sup>II</sup>Er<sup>III</sup>(aib)<sub>6</sub>(OH)<sub>3</sub>(OAc)<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], Mr = 1574 amu). Το όριο ανίχνευσης της μεθοδολογίας LIBS είναι της τάξης των 1-0.1 μg/mL για τα μεταλλικά ιόντα που μελετήθηκαν. Στην περίπτωση των μεταλλοπρωτεϊνών η εφαρμογή της τεχνικής LIBS-SSI-MS επιτρέπει τον προσδιορισμό του λόγου των συγκεντρώσεων των μεταλλικών ιόντων προς τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης ( $[M^+]$ :[Πρωτεΐνη]). Η τιμή του λόγου  $[M^+]$ :[Πρωτεΐνη] αντανακλά τη στοιχειομετρία του μεταλλοϊόντος στην πρωτεΐνη και συνδέεται άμεσα με την ενεργότητα αυτής και κατ' επέκταση με τη βιολογική της δραστικότητα. Όσον αφορά το χαρακτηρισμό του συμπλόκου χαλκού-ερβίου η μεθοδολογία LIBS-SSI-MS επέτρεψε τον ακριβή προσδιορισμό της στοιχειομετρικής αναλογίας [Cu<sup>2+</sup>]:[Er<sup>3+</sup>] και του μοριακού βάρους. Με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης στο φάσμα μάζας, που απορρέει από την παρουσία του πλάσματος στην περιοχή μεταξύ του εκνεφωτή και της εισόδου του φασματομέτρου μάζας, μελετήθηκαν υδατικά διαλύματα τριφθοροξικού νατρίου, γλουταθειόνης και μυοσφαιρίνης. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το πλάσμα έχει ισχυρή επίδραση όταν, ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται κατά το χρονικό

διάστημα της καταγραφής του φάσματος μάζας. Ειδικότερα στην περίπτωση του τριφθοροξικού νατρίου παρατηρήθηκε ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στο σχηματισμό συστάδων (cluster) των μορίων του STFA με μόρια OH τα οποία παράγονται στο πλάσμα, ενώ δεν καταγράφηκε ανάλογη συμπεριφορά στην περίπτωση της μυοσφαιρίνης και της γλουταθειόνης, αν και τα φάσματα μάζας παρουσίασαν αυξημένο υπόβαθρο. Παρά την παρουσία του πλάσματος δεν παρατηρήθηκε επιλεκτική θραυσματοποίηση των μορίων που εξετάστηκαν, καθώς το φαινόμενο παρουσιάζει ευρεία διασπορά και ανιχνεύεται ως αύξηση του υποβάθρου, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει επίδραση στον προσδιορισμό του μοριακού βάρους.

Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε χρονοαναλυόμενη απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που σχηματίζεται κατά την αλληλεπίδραση παλμών λέιζερ χρονοδιάρκειας νανοδευτερολέπτων με το αερόλυμα με στόχο την κατανόηση των διεργασιών δημιουργίας του πλάσματος και την εξέλιξη αυτού στο χρόνο. Ειδικότερα πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη πειραματικής διάταξης απεικονιστικής φασματοσκοπίας, η οποία επιτρέπει την καταγραφή εικόνων του πλάσματος σε διάφορες χρονικές στιγμές, καθώς και την καταγραφή εικόνων του αερολύματος που δημιουργίεται από τον πνευματικό εκνεφωτή. Τα πειραματικά αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ψεκασμός από τον εκνεφωτή είναι ασυνεχής με αποτέλεσμα να υπάρχει μεταβαλλόμενος αριθμός σταγονιδίων στην περιοχή εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ. Σε τυπικές συνθήκες ακτινοβόλησης (E<sub>Pulse</sub> > 160 mJ) ο σχηματισμός του πλάσματος λαμβάνει χώρα πρωτογενώς στον αέρα, ενώ παρατηρείται ότι τα σταγονίδια σταδιακά ατομοποιούνται και διαχέονται εντός του όγκου που καταλαμβάνει το πλάσματος. Η οπτική εκπομπή του πλάσματος παρουσιάζει σταδιακή μείωση από τη στιγμή δημιουργίας του έως τα 100 με, όπου και παρατηρείται η απόσβεση του.

Επίσης διερευνήθηκε η προοπτική χρήσης υπερβραχέων παλμών λέιζερ (τ<sub>Pulse</sub> = 450 fs) στο υπεριώδες ( $\lambda$  = 248 nm) για το σχηματισμό του πλάσματος στο αερόλυμα. Η ευαισθησία της προσέγγισης είναι χαμηλότερη κατά μία τάξη μεγέθους σε σχέση με την τυπική μεθοδολογία (ns-LIBS), γεγονός το οποίο αποδίδεται στη σημαντικά χαμηλότερη ενέργεια (E<sub>Pulse</sub>  $\approx$  15 mJ) που προσφέρεται για το σχηματισμό πλάσματος και στην απουσία αλληλεπίδρασης των υπερβραχέων παλμών με το πλάσμα.

Λέξεις κλειδιά: LIBS, SSI-MS, Φασματοσκοπία πλάσματος λέιζερ, Πρωτεΐνες, Αερόλυμα, Φασματομετρία μάζας υπερηχητικού ιοντισμού.

#### ABSTRACT

In the context of this research thesis a new hybrid technique (LIBS/SSI-MS) that combines Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry (SSI-MS) with Laser-Induced Breakdown Spectroscopy has been developed and tested. The new analytical technique will be able to provide simultaneously, in real time, information on both elemental composition and molecular weight of the target compounds.

The combination of the two techniques is achieved by means of a pneumatic nebulizer, which is used to produce an aerosol spray from a liquid solution. Due to sonic-spray ionization, charged droplets are generated in the aerosol, leading in turn to the formation of charged molecules in the gas phase, which are analyzed in the mass spectrometer. In parallel, focusing of nanosecond laser pulses in the aerosol gives rise to the formation of a transient micro-plasma, whose intense emission is wavelength- and time-resolved producing LIBS spectra which enable determination of the elemental composition of the solution.

In order to validate the accuracy, the applicability and the potential of the LIBS/SSI-MS methodology, various types of samples were studied including: standard solutions of Ca(II) and Ba(II) ions complexed with EDTA, metalloprotein solutions, containing alphalactalbumin and superoxide dismutase, and a Cu<sub>6</sub>-Er co-ordination compound (Mr = 1574 amu). In the case of metalloprotein analysis the proposed LIBS/SSI-MS technique enables determination of the metal ion concentration in the protein solution, which, combined with the protein molecular mass, yields the [Metal]:[Protein] concentration ratio. This represents the stoichiometry of the metal ions in the protein solution and can be related with the protein biological activity.

In parallel, the time evolution of the aerosol plasma has been investigated, by means of time-resolved imaging spectroscopy, aiming to unravel the processes occurring during plasma formation and in particular its interaction with the aerosol droplets. More specifically images of the plasma plume have been collected over a long time scale following plasma initiation at the arrival of the laser pulse in the aerosol. Also, light sheet imaging has been employed for visualizing the spatial distribution of droplets emerging from the pneumatic nebulizer. These images showed that despite the constant gas flow through the nebulizer the number density of droplets varies in short time scales relevant to laser- and plasma-aerosol interaction. Under typical irradiation conditions ( $E_{Pulse} > 160 \text{ mJ}$ ), plasma formation is at first observed in the air-argon interface. The aerosol droplets within the plasma formation region

gradually evaporate and diffuse in the plasma volume (V  $\approx 20 \text{ mm}^3$ ). The atomization and diffusion of the droplets are essentially complete at about 10 µs following plasma formation.

Finally, the potential to use ultraviolet ( $\lambda = 248 \text{ nm}$ ) femtosecond ( $\tau = 450 \text{ fs}$ ) laser pulses for plasma formation in the aerosol has been examined. The sensitivity of the fs-LIBS approach is about one order of magnitude lower compared to the ns-LIBS methodology, a fact that is attributed to the significantly lower energy ( $E_{Pulse} \approx 15 \text{ mJ}$ ) that is used for plasma formation and to the lack of interaction between the plasma and the femtosecond laser pulses.

Keywords: LIBS, Laser-induced breakdown spectroscopy, SSI-MS, Sonic-spary ionization mass spectrometry, Protein, Aerosol.

### ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI Automatic Gain Control, AGC Distributed Feedback Dye Laser, DFDL Double-Pulse LIBS, DP-LIBS Electrospray Ionization Mass Spectrometry, ESI-MS Full Width at Half Maximum, FWHM High Performance Liquid Chromatography, HPLC High Resolution, HR Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS Intensified Charge Coupled Device, ICCD Lactalbumin-a, LALBA Laser Ablation Molecular Isotopic Spectrometry, LAMIS Laser Ablation Time of Flight Mass Spectrometry, LA-TOF-MS Laser Induced Plasma Spectroscopy, LIPS Laser Sheet Imaging, LSI Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS Laser-Supported Detonation Wave, LSDW Laser-Supported Radiation Wave, LSRW Liquid Chromatography, LC Local Thermodynamic Equilibrium, LTE Mass Spectrometry, MS Microchannel Plate - MCP Nanospray Ionization, NSI Polyethylene terephthalate, PET **Relative Standard Deviation**, **RSD** Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, RP-HPLC Single-Pulse LIBS, SP-LIBS Sodium Tri-Fluoro-Acetate, STFA Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry, SSI-MS Superoxide Dismutase, SOD Time of Flight Mass Spectrometry, TOF-MS Total Ion Current, TIC

### ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

### <u>Κεφάλαιο 1</u>

Σχήμα 1.1. Σχηματική αναπαράσταση της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS.

**Σχήμα 1.2.** Φάσματα μάζας των θετικά φορτισμένων μορίων κυτοχρώματος c a) SSI-MS και b) ESI-MS.  $[Cyt-c] = 100 \ \mu g/mL$ , 1% v/v DMSO [11].

### <u>Κεφάλαιο 2</u>

Σχήμα 2.1. Σχηματική αναπαράσταση της διεργασίας πολυφωτονικού ιοντισμού.

Σχήμα 2.2. Σχηματική απεικόνιση της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής πλάσματος.

**Σχήμα 2.3.** Φάσμα LIBS στο οποίο εμφανίζονται γραμμές ατομικής εκπομπής των ατόμων αζώτου, οξυγόνου και αργού.

**Σχήμα 2.4.** Φάσμα LIBS υδατικού διαλύματος της 1-προπανόλης συγκέντρωσης 1 M, στο οποίο εμφανίζεται η χαρακτηριστική εκπομπή από διεγερμένα μόρια CN ( $B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+$ ).

**Σχήμα 2.5.** Σχηματική αναπαράσταση της πορείας εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ και της περιοχής σχηματισμού πλάσματος για διαφορετική ενέργεια του παλμού λέιζερ [11].

Σχήμα 2.6. Φασματικό προφίλ της έντασης της εκπομπής από τον πυρήνα του πλάσματος, της απορρόφησης από εξωτερικό φλοιό του πλάσματος και το ολικό αποτέλεσμα που καταγράφεται στο φάσμα LIBS [21].

Σχήμα 2.7. Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου σε υδατικό διάλυμα με βάση την γραμμή εκπομπής των ατομικών ιόντων ασβεστίου στα 393.366 nm, κανονικοποιημένη ως προς τη γραμμή Η<sub>γ</sub> του υδρογόνου α) σε γραμμική και β) σε λογαριθμική κλίμακα.

Σχήμα 2.8. Διαγράμματα Saha–Boltzmann με βάση τα οποία γίνεται υπολογισμός της θερμοκρασίας πλάσματος, α) σε κράμα αλουμινίου και β) σε κράμα σιδήρου–μαγγανίου [22]. Ο άξονας x στα διαγράμματα αναφέρεται στην ενέργεια της διεγερμένης κατάστασης ενώ ο άξονας y περιγράφει το λογάριθμο που εμφανίζεται στο αριστερό μέρος της εξίσωσης 2.14 ή 2.16.

**Σχήμα 2.9.** Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού δημιουργίας των μοριακών ιόντων στην πηγή SSI [29].

### <u>Κεφάλαιο 3</u>

Σχήμα 3.1. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης της τεχνικής LIBS.

Σχήμα 3.2. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης της τεχνικής SSI-MS.

Σχήμα 3.3. Πνευματικός εκνεφωτής συγκεντρωτικού τύπου [1].

Σχήμα 3.4. Εύρος του κώνου που σχηματίζει το αερόλυμα συναρτήσει της απόστασης από το ακροφύσιο του εκνεφωτή (αριστερά) και αντιπροσωπευτικό διάγραμμα της κατανομής μεγέθους των σταγονιδίων στο οποίο η διάμετρος των σταγονιδίων αποτυπώνεται σε λογαριθμική κλίμακα (δεξιά) [2].

Σχήμα 3.5. Τυπικό διάγραμμα του συντελεστή ενίσχυσης συναρτήσει της τιμής MCP.

**Σχήμα 3.6**. Τυπικό διάγραμμα κβαντικής απόδοσης της φωτοκαθόδου συναρτήσει του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας [3].

**Σχήμα 3.7**. Σχηματική αναπαράσταση τομής του φασματομέτρου μάζας, στην οποία διακρίνεται ο κώνος δειγματοληψίας (ion sweep cone) και η μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης (ion transfer capillary) [4].

### <u>Κεφάλαιο 4</u>

**Σχήμα 4.1.** Φωτογραφία που απεικονίζει το ακροφύσιο του πνευματικού εκνεφωτή και το σχηματιζόμενο πλάσμα.

**Σχήμα 4.2.** α) Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και β) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS που καταγράφηκαν κατά τη μέτρηση των πρότυπων υδατικών διαλυμάτων ιόντων Cu<sup>2+</sup> που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς [2].

**Σχήμα 4.3.** Σχηματική αναπαράσταση της υβριδικής διάταξης LIBS-SSI-MS. 1) Φασματόμετρο μάζας, 2) πνευματικός εκνεφωτής, 3) σύστημα μικρομετρικής μετακίνησης, 4) συγκεντρωτικός φακός, 5) δείγμα, 6) τηλεσκόπιο και 7) οπτική ίνα.

Σχήμα 4.4. Φωτογραφίες της πειραματικής διάταξης της τεχνικής LIBS-SSI-MS.

**Σχήμα 4.5.** Φάσμα μάζας των α) θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων συστάδων του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής: 20 V.  $\tau_{MS} = 10$  ms.

**Σχήμα 4.6.** Χρονική εξέλιξη του ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται από το φασματόμετρο μάζας, κατά τη μέτρηση δείγματος STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$  = 10 ms.

Σχήμα 4.7. Σχηματική αναπαράσταση της πιθανότητας σύμπτωσης των δύο γεγονότων. Λόγω της διαφοράς τιμής μεταξύ της συχνότητας σχηματισμού πλάσματος (f<sub>Laser</sub> = 10 Hz) και της συχνότητας καταγραφής των φασμάτων μάζας (1.45 Hz) δεν είναι εφικτή η πλήρης σύμπτωση των δύο γεγονότων.

**Σχήμα 4.8.** Χρονική εξέλιξη ιοντικού ρεύματος για διάφορες τιμές του χρόνου τ<sub>MS</sub>. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης: 300 °C,  $E_{Pulse} = 350$  mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.

**Σχήμα 4.9.** Εξάρτηση της μέσης τιμής του ολικού ιοντικού ρευματος από την τιμή του τ<sub>MS</sub> όταν το λέιζερ είναι σε λειτουργία και εκτός λειτουργίας α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα του STFA σε λογαριθμική κλίμακα. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης: 300 °C,  $E_{Pulse} = 350$  mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.

**Σχήμα 4.10.** α) Φάσμα μάζας των θετικά φορτισμένων ιόντων του STFA που αντιστοιχεί στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spike), β) σε μεγέθυνση η περιοχή από 980-1020 m/z, γ) Φάσμα

μάζας των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του STFA που αντιστοιχεί στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spikes) και δ) σε μεγέθυνση η περιοχή από 1060-1210 m/z. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$ = 10 ms.

**Σχήμα 4.11**. Φάσμα MS/MS της κορυφής σε m/z=1501 που παρατηρείται στο φάσμα των θετικά φορτισμένων ιόντων του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$ = 10 ms.

Σχήμα 4.12. Χημική δομή της ανηγμένης γλουταθειόνης  $(C_{10}H_{17}N_3O_6S)$ .

**Σχήμα 4.13.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά την παρακολούθηση α) των θετικά και β) των αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}$ ,  $F_{Sample} = 15 \text{ μl/min}$ , Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS} = 10 \text{ ms}$ .

**Σχήμα 4.14.** Φάσματα μάζας των α) θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης.

**Σχήμα 4.15.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά την παρακολούθηση α) των θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων ενώσεων που περιέχονται στο νερό. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης: 300°C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$ = 10 ms.

**Σχήμα 4.16.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται κατά τη μέτρηση της μυοσφαιρίνης όταν το λέιζερ βρίσκεται εκτός λειτουργίας (0 < t < 1.5 min) και εν λειτουργία (t > 1.5 min). Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης =  $300^{\circ}$ C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}$ ,  $F_{Sample} = 15 \mu$ l/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS} = 10 \text{ ms}$ .

Σχήμα 4.17. Φάσμα μάζας της μυοσφαιρίνης και σε μεγέθυνση η ταινία στα 1700 m/z.

**Σχήμα 4.18.** Αποτέλεσμα της διαδικασίας αποσυνέλιξης του φάσματος μάζας στο Σχήμα 4.17.

**Σχήμα 4.19.** Σχηματική απεικόνιση της θέσης του πλάσματος σε σχέση με τη γεωμετρία της πηγής SSI-MS.

**Σχήμα 4.20.** Εξάρτηση ολικού ιοντικού ρεύματος από την ενέργεια του παλμού λέιζερ α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά ιόντα του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V, τ<sub>MS</sub>= 90 ms.

**Σχήμα 4.21.** Φάσματα μάζας α) των θετικά και β) των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του STFA σε διαφορετικές τιμές ενέργειας του παλμού λέιζερ (E<sub>Pulse</sub>).

Σχήμα 4.22. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης.

**Σχήμα 4.23.** Εξάρτηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος από τη θέση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά ιόντα του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης: 300 °C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V, τ<sub>MS</sub>= 90 ms.

**Σχήμα 4.24.** Φάσματα μάζας α) των αρνητικά και β) των θετικά φορτισμένων ιόντων των συμπλόκων Ca-EDTA, και γ) των θετικά και δ) των αρνητικά φορτισμένων ιόντων των συμπλόκων Ba-EDTA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300°C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min, Poή δείγματος = 15 μL/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V (Ca-EDTA) και 70 V (Ba-EDTA).

**Σχήμα 4.25.** Φάσματα LIBS υδατικών διαλυμάτων α) ιόντων  $Ca^{2+}$  β)  $Ba^{2+}$  και καμπύλες αναφοράς γ) για το ασβέστιο και δ) για το βάριο. Παράμετροι μετρήσεων:  $E_{Pulse} = 350$  mJ,  $\tau_{Delay} = 40$  μs,  $\tau_{Gate} = 50$  μs,  $F_{Sample} = 15$  μl/min.

**Σχήμα 4.26.** Χρονική εξέλιξη της έντασης του ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση των φασμάτων μάζας των συμπλόκων α) Ca-EDTA και β) Ba-EDTA.

**Σχήμα 4.27.** α) Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er. Με μωβ απεικονίζεται το κατιόν του ερβίου Er<sup>3+</sup>, ενώ με πράσινο τα κατιόντα χαλκού (Cu<sup>2+</sup>), β) φάσμα LIBS του συμπλόκου, γ) φάσμα μάζας των αρνητικά και δ) φάσμα μάζας των θετικά φορτισμένων ιόντων του σύμπλοκου. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 70 V. E<sub>Pulse</sub> = 350 mJ, τ<sub>Delay</sub> = 40 μs, τ<sub>Gate</sub> = 50 μs.

**Σχήμα 4.28.** α) Φάσματα LIBS του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er και των πρότυπων διαλυμάτων ερβίου και β) καμπύλη αναφοράς για το έρβιο, γ) Φάσματα LIBS του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er και των πρότυπων διαλυμάτων χαλκού και δ) καμπύλη αναφοράς για το χαλκό. Παράμετροι μετρήσεων:  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $\tau_{Delay} = 40 \text{ µs}$ ,  $\tau_{Gate} = 50 \text{ µs}$ ,  $F_{Sample} = 15 \text{ µl/min}$ .

**Σχήμα 4.29.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση των των φασμάτων μάζας των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er.

**Σχήμα 4.30.** Φάσματα SSI-MS των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er, α) στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spikes) και β)απουσία λέιζερ..

**Σχήμα 4.31.** α) Φάσμα LIBS και β) φάσμα SSI-MS της SOD. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar} = 0.65$ L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.  $E_{Pulse} = 200$  mJ,  $\tau_{Delay} = 20$  μs,  $\tau_{Gate} = 100$  μs.

**Σχήμα 4.32.** Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) σε διάλυμα 50% v/v μεθανόλης σε νερό. Παράμετροι μετρήσεων:  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min,.  $E_{Pulse}$ : 200 mJ,  $\tau_{Delay} = 20$  μs,  $\tau_{Gate} = 100$  μs.

Σχήμα 4.33. Αποσυνέλιξη του φάσματος SSI-MS της SOD (Σχ. 4.31 β).

**Σχήμα 4.34.** α) Φάσμα LIBS και β) φάσμα SSI-MS της LALBA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample} = 15 \ \mu l/min$ , Dunamikó epitácungy  $\pi \eta \gamma \eta \varsigma = 20 \ V$ ,  $E_{Pulse} = 200 \ mJ$ ,  $\tau_{Delay} = 20 \ \mu s$ ,  $\tau_{Gate} = 100 \ \mu s$ .

**Σχήμα 4.35.** α) Καμπύλη αναφοράς για το ασβέστιο και β) φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων και διαλύματος LALBA. Παράμετροι μετρήσεων:  $F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}$ ,  $F_{Sample} = 15 \mu$ l/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $\tau_{Delay} = 20 \mu$ s,  $\tau_{Gate} = 100 \mu$ s.

Σχήμα 4.36. Αποτέλεσμα αποσυνέλιξης του φάσματος SSI-MS της LALBA (Σχ. 4.34 β).

### <u>Κεφάλαιο 5</u>

**Σχήμα 5.1.** Αποτέλεσμα μετρήσεων LIBS σε υδατικά διαλύματα που περιέχουν μεταλλικά ιόντα α)  $Cu^{2+}$  και β) Na<sup>+</sup> με συγκέντρωση  $1.0 \times 10^{-4}$  M και  $2.5 \times 10^{-3}$  M αντίστοιχα [1].

**Σχήμα 5.2.** Ιστογράμματα που απεικονίζουν τη συχνότητα εμφάνισης των καταγραφόμενων τιμών έντασης της γραμμής εκπομπής του νατρίου στα 589.592 nm σε ένα σετ μετρήσεων 1000 παλμών για τα ιόντα Na<sup>+</sup> σε συγκέντρωση α) 1.17 μg/mL και β) 23.1 μg/mL [1].

Σχήμα 5.3. Πειραματική διάταξη LIBS.

Σχήμα 5.4. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται για την απεικονιστική μελέτη του πλάσματος και φωτογραφίες αυτής. Η διάδοση του παλμού λέιζερ πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα z, η διάδοση του αερολύματος πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα y, ενώ η συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα x.

**Σχήμα 5.5.** Φάσματα LIBS α) του αερολύματος που περιέχει άτομα Ca, β) του περιβάλλοντος αέρα-αργού, και φάσματα διαπερατότητας των φίλτρων που χρησιμοποιήθηκαν για την απεικόνιση της εκπομπής γ) του ασβεστίου και δ) του οξυγόνου.

**Σχήμα 5.6.** α) Εικόνα του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες κατωφλίου και τα χωρικά προφίλ της έντασης του φωτός β) κατά μήκος του άξονα z και γ) κατά μήκος του άξονα y. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 0$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  ns,  $E_{Pulse} = 7.5$  mJ, Φίλτρο: Ο. Η διάδοση του λέιζερ λαμβάνει χώρα στον άξονα z κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην εικόνα (από κάτω προς τα πάνω).

**Σχήμα 5.7.** α) Εικόνες του πλάσματος κατά τη στιγμή του σχηματισμού του για διαφορετικές τιμές της ενέργειας του παλμού λέιζερ καταγεγραμμένες με  $\tau_{Delay} = 0$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  ns, β) εξάρτηση της έντασης της εκπομπής από την ενέργεια του παλμού λέιζερ και γ) απόσταση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος από την εστιακή περιοχή (|z-z<sub>0</sub>|) ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ. Φίλτρο: Ο. Η κίτρινη γραμμή δηλώνει τη θέση εστίασης του λέιζερ, ενώ η διάδοση της δέσμης λαμβάνει χώρα κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω).

**Σχήμα 5.8.** Χωρικό προφίλ παλμού λέιζερ συγκριτικά με εικόνα του πλάσματος που δημιουργείται από παλμούς ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 156 mJ.

Σχήμα 5.9. α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β) χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής σε κανονική κλίμακα και γ) σε λογαριθμική κλίμακα. Η πρώτη εικόνα δηλώνει τη θέση εστίασης του λέιζερ. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση αυτή σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns, Φίλτρο: Ο. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Φίλτρο: Ο Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.10.** Χρονική εξέλιξη της θέσης α, β) του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου, γ,δ) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 4.7 mm και ε, στ) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 3 mm που δημιουργείται στον στατικό αέρα σε κανονική κλίμακα (δεξιά) και λογαριθμική κλίμακα (αριστερά).

**Σχήμα 5.11.** Ταχύτητα εκτόνωσης του πλάσματος ως προς το χρόνο  $\tau_{Delay}$  α) του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου και β) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 4.7 mm.

Σχήμα 5.12. Χρονική εξέλιξη του όγκου του πλάσματος.

**Σχήμα 5.13.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Η διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> αναγράφεται σε κάθε εικόνα. Φίλτρο: Ο. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.14.** Σχηματική περιγραφή της τεχνικής laser sheet imaging.

**Σχήμα 5.15.** Στιγμιότυπα (διάρκειας ~ 10 ns) απεικόνισης του αερολύματος που έχουν ληφθεί με μεμονωμένους παλμούς λέιζερ (single shot).

**Σχήμα 5.16.** Εικόνα του αερολύματος που προκύπτει από το άθροισμα 40 εικόνων single shot.

**Σχήμα 5.17.** α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β) χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το πλάσμα σε κανονική κλίμακα και γ) σε λογαριθμική κλίμακα. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά μήκος του άξονα z στην την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Οι εικόνες έχουν κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζουν.

**Σχήμα 5.19.** Χρονική εξέλιξη της θέσης του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία σταγονιδίων σε α) κανονική και β) λογαριθμική κλίμακα.

**Σχήμα 5.20.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης σε τ<sub>Delay</sub>= 0 ns, α) απουσία σταγονιδίων, β) και γ) παρουσία σταγονιδίων. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.21.** α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β,γ) χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής όπως καταγράφεται από τα δεδομένα των εικόνων σε κανονική και λογαριθμική κλίμακα αντίστοιχα. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Οι εικόνες έχουν κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζουν.

**Σχήμα 5.22.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε τ<sub>Delay</sub> =2 μs. μετά το σχηματισμό του. Κάθε εικόνα αντιστοιχεί σε ένα παλμό λέιζερ. Διάρκεια παρατήρησης,  $τ_{Gate} = 500$  ns. Φίλτρο: Ca,  $E_{Pulse} = 160$  mJ. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Ο εκνεφωτής είναι τοποθετημένος στη θέση z = 4 mm. Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.23.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε τ<sub>Delay</sub> =2-8 με μετά το σχηματισμό του. Κάθε εικόνα αντιστοιχεί σε έναν παλμό λέιζερ. Διάρκεια παρατήρησης,  $τ_{Gate}$  = 500 ns, Φίλτρο: Ca, E<sub>Pulse</sub> = 160 mJ. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.24.** Φάσματα LIBS του αερολύματος που περιέχει ασβέστιο σε διακριτές χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub> μετά το σχηματισμό του. Διάρκεια παρατήρησης τ<sub>Gate</sub>= 10 ns.

**Σχήμα 5.25.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs (τ<sub>D</sub><50 μs) και 20 μs (τ<sub>D</sub>>50 μs), Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

**Σχήμα 5.26.** Εικόνες του πλάσματος που σχηματίζεται στο αερόλυμα σε υπέρθεση με την εικόνα του αερολύματος σε α)  $\tau_{\text{Delay}} = 0$  ns, β)  $\tau_{\text{Delay}} = 4$  μs και γ)  $\tau_{\text{Delay}} = 21$  μs. Όλες οι εικόνες είναι στην ίδια κλίμακα.

### <u>Κεφάλαιο 6</u>

Σχήμα 6.1. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης UV-fs-LIBS.

**Σχήμα 6.2.** Μελέτη της εκπομπής από ουδέτερα άτομα Ο, Ν και Ar στο πλάσμα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ α,β) στον στατικό αέρα και γ,δ) σε συνθήκες εκνέφωσης. Τυπικά φάσματα LIBS ε) στον στατικό αέρα και στ) υπό συνθήκες εκνέφωσης. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 30$  ns,  $\tau_{Gate} = 500$  ns,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min.

**Σχήμα 6.3.** Μελέτη της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 100$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  μs,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min.

**Σχήμα 6.4.** Μελέτη της έντασης της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου ως συνάρτηση της θέσης του εκνεφωτή ως προς την θέση σχηματισμού πλάσματος (θέση 0). Το αρνητικό πρόσημο δηλώνει μετακίνηση του εκνεφωτή προς τον φακό εστίασης του λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 500$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  μs,  $E_{Pulse}$ : 17 mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μL/min.

**Σχήμα 6.5.** Μελέτη της έντασης της εκπομπής από το Ca ως συνάρτηση της απόστασης του εκνεφωτή από το πλάσμα. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 500$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  μs,  $E_{Pulse} = 18$  mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μL/min.

**Σχήμα 6.6.** Χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το Ca στο πλάσμα α) σε κανονική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. γ) και δ) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS σε διαφορετικές χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub> μετά την άφιξη του παλμού λέιζερ στο αερόλυμα, τ<sub>Gate</sub> = 50 ns.

**Σχήμα 6.7.** α) Καμπύλη αναφοράς ανάλυσης ασβεστίου (υδατικά διαλύματα  $Ca^{2+}$ ) με τη μέθοδο UV-fs-LIBS και β) φάσματα LIBS των πρότυπων και των αγνώστων διαλυμάτων των ιόντων. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 500 ns, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs, E<sub>Pulse</sub> = 13.7 mJ, F<sub>Ar</sub> = 0.65 L/min, F<sub>Sample</sub> = 15 μL/min.

**Σχήμα 6.8.** α) Καμπύλη αναφοράς ανάλυσης βαρίου (υδατικά διαλύματα  $Ba^{2+}$ ) με τη μέθοδο UV-fs-LIBS και β) φάσματα LIBS των πρότυπων και των αγνώστων διαλυμάτων των ιόντων. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 500 ns, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs, E<sub>Pulse</sub> = 13.7 mJ, F<sub>Ar</sub> = 0.65 L/min, F<sub>Sample</sub> = 15 μL/min.

**Σχήμα 6.9.** α) Πειραματική διάταξη DP-fs-LIBS στο επίπεδο zx και β) σχηματική αναπαράσταση της γεωμετρίας του συμβολόμετρου Michelson.

**Σχήμα 6.10.** α) Ένταση εκπομπής από ουδέτερα άτομα Ο και Ν στο πλάσμα ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τ<sub>Intepulse</sub> και β) ένταση της εκπομπής του Ο όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται μόνο από τον παλμό του σταθερού βραχίονα του συμβολομέτρου συγκριτικά με την εκπομπή πλάσματος σχηματιζόμεου από ζεύγος παλμών λέιζερ. γ) Λόγος εντάσεων εκπομπής του οξυγόνου IDP/ISP και δ) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS σε τ<sub>Intepulse</sub> = 2 και 60 ps. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 30$  ns,  $\tau_{Gate} = 500$  ns,  $E_{Pulse} = 1.44$  mJ.

**Σχήμα 6.11.** α) Εκπομπή ατόμων Ο, Ν και Ar στο πλάσμα ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τ<sub>Intepulse</sub>. β) Ένταση της εκπομπής του Ο όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται μόνο από τον παλμό του σταθερού βραχίονα του συμβολομέτρου συγκριτικά με την εκπομπή πλάσματος σχηματιζόμεου από ζεύγος παλμών λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 30 ns, τ<sub>Gate</sub> = 500 ns, E<sub>Pulse</sub> = 1.2 mJ.

**Σχήμα 6.12.** Μελέτη της εκπομπής από α) ατομικά ιόντα ασβεστίου και β) ουδέτερα άτομα ασβεστίου ως συνάρτηση του του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τInterpulse. γ) Φάσματα LIBS τριών διαφορετικών σετ μετρήσεων των 200 παλμών σε  $\tau_{Interpulse} = 30$  ps και δ) φάσματα LIBS σε τInterpulse 0 και 30 ps. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 30$  ns,  $\tau_{Gate} = 1$  μs,  $E_{Pulse} = 1.6$  mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min.

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

### Κεφάλαιο 1

Πίνακας 1.1. Όρια ανίχνευσης μεταλλοϊόντων σε διαλύματα με την τεχνική ns-LIBS.

### Κεφάλαιο 2

**Πίνακας 2.1.** Επιλεγμένες γραμμές ατομικής εκπομπής που εμφανίζονται στα φάσματα LIBS της παρούσας εργασίας [7,8].

**Πίνακας 2.2.** Τιμές ροής ισχύος κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος για διαφορετικά μήκη κύματος λέιζερ [6,12].

**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 K και ηλεκτρονιακή πυκνότητα  $N_e$ = 10<sup>17</sup> /cm<sup>3</sup> [6].

### Κεφάλαιο 4

**Πίνακας 4.1.** Δομή και μοριακό βάρος των θετικά και αρνητικά φορτισμένων συστάδων μορίων STFA που παρατηρούνται στα φάσματα μάζας.

Πίνακας 4.2. Πιθανότητα σύμπτωσης των δυο μετρήσεων για διαφορετικές τιμές του χρόνου ολοκλήρωσης του φασματομέτρου μάζας. Ο ρυθμός επανάληψης του λέιζερ διατηρείται σταθερός στα 10 Hz.

Πίνακας 4.3. Κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα MS/MS του STFA.

**Πίνακας 4.4.** Παρατηρούμενες κορυφές στο φάσμα μάζας των θετικών και των αρνητικών ιόντων του Ca-EDTA.

**Πίνακας 4.5.** Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού των ιόντων Ca<sup>2+</sup> και Ba<sup>2+</sup> σε πρότυπα διαλύματα των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA.

### Κεφάλαιο 6

Πίνακας 6.1. Αποτελέσματα επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων Ca<sup>2+</sup>.
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΕιΣΑΓΩΓΗ

Οι μελέτες ειδοταυτοποίησης (Speciation analysis) έχουν ως στόχο τον προσδιορισμό των διαφορετικών ενώσεων στις οποίες απαντάται ένα στοιχείο στο περιβάλλον ή σε έμβιους οργανισμούς. Η διεξαγωγή των μελετών αυτών είναι σημαντική στο πεδίο της μεταλλομικής ανάλυσης, καθώς επιτρέπει τη μελέτη των μηχανισμών, μέσω των οποίων πραγματοποιείται η βιομετατροπή ενώσεων μεταλλικών ιόντων και μεταλλοειδών στους έμβιους οργανισμούς. Τα μέταλλα και τα μεταλλοειδή διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε διάφορες ασθένειες όπως ο καρκίνος, η νόσος Alzheimer, σε παθήσεις των πνευμόνων, καθώς και σε άλλες διαταραχές του οργανισμού [1]. Γίνεται αντιληπτό ότι για την κατανόηση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στα κύτταρα απαιτείται ανάπτυξη τεχνικών, οι οποίες παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή και τη μοριακή σύσταση των εξεταζόμενων δειγμάτων.

Η φασματομετρία μάζας αποτελεί μία από τις σημαντικότερες τεχνικές που εφαρμόζονται στο πεδίο της αναλυτικής χημείας, καθώς επιτρέπει την εξαγωγή πληροφοριών σχετικά με τη στοιχειακή και τη μοριακή σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος. Ο συνδυασμός των τεχνικών ατομικής και μοριακής φασματομετρίας μάζας με τεχνικές χρωματογραφίας αυξάνει σημαντικά τη δυναμική τους, καθώς επιτρέπει τον χαρακτηρισμό των επιμέρους συστατικών ενός σύνθετου μίγματος. Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη προσέγγιση για τη διεξαγωγή μελετών ειδοταυτοποίησης, σε βιολογικά δείγματα, προτείνει τη σύνδεση της υγρής γρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) με τεχνικές ατομικής (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) και μοριακής φασματομετρίας μάζας (Electrospray Ionization Mass Spectrometry, ESI-MS). Μέσω της υγρής χρωματογραφίας επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των επιμέρους συστατικών του δείγματος, τα οποία εν συνεχεία ανιχνεύονται μέσω της φασματομετρίας μάζας. Η μεθοδολογία εφαρμόζεται διαδοχικά διατηρώντας τις συνθήκες έκλουσης σταθερές. Πιο συγκεκριμένα, αρχικά διεξάγεται ανάλυση του δείγματος με συνδυασμό υγρής χρωματογραφίας και ατομικής φασματομετρίας μάζας (HPLC-ICP-MS) και εν συνεχεία πραγματοποιείται μία δεύτερη ανάλυση με το συνδυασμό υγρής

χρωματογραφίας και μοριακής φασματομετρίας μάζας (HPLC-ESI-MS). Κατ' αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης και της δομής των επιμέρους συστατικών του δείγματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής της συγκεκριμένης μεθοδολογίας αποτελούν οι μελέτες ειδοταυτοποίησης ενώσεων του αρσενικού (As) σε βιολογικά δείγματα [2-5].

Στην περίπτωση που είναι γνωστές οι χημικές ενώσεις που πρόκειται να προσδιοριστούν είναι εφικτός ο χαρακτηρισμός τους μόνο με το συνδυασμό HPLC-ICP-MS, καθώς η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιείται από τη σύγκριση των τιμών του χρόνου κατακράτησης των ενώσεων που ανιχνεύονται στο δείγμα με τις τιμές που προκύπτουν από τη μέτρηση πρότυπων διαλυμάτων των εξεταζόμενων ενώσεων. Για παράδειγμα η ερευνητική ομάδα του Σ. Περγαντή μελέτησε την παρουσία αντιμονίου (Sb) στις οξειδωτικές καταστάσεις V (Sb<sup>5+</sup>) και III (Sb<sup>3+</sup>), σε δείγματα ρακής και τσίπουρου, συσκευασμένα σε φιάλες PET, με χρήση ιοντικής χρωματογραφίας σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (HPLC-ICP-MS) [6]. Η ταυτοποίηση των ιόντων αντιμονίου στις διαφορετικές οξειδωτικές καταστάσεις πραγματοποιήθηκε μέσω της σύγκρισης των τιμών του χρόνου κατακράτησης των κορυφών που εμφανίζονται στο χρωματογράφημα με εκείνες πρότυπων διαλυμάτων ιόντων του αντιμονίου στις συγκεκριμένες οξειδωτικές καταστάσεις. Ωστόσο στα χρωματογραφήματα εμφανίστηκε άγνωστη κορυφή για την ταυτοποίηση της οποίας απαιτήθηκε ανάλυση του δείγματος με συνδυασμό υγρής χρωματογραφίας φασματομετρίας μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (LC-SSI-MS), υγρής χρωματογραφίας φασματομετρίας μάζας ηλεκτροψεκασμού υψηλής διακριτικής ικανότητας (ESI-Orbitrap). Η ανάλυση συμπληρώθηκε μέσω υπολογιστικών μελετών καθώς από την τιμή του μοριακού βάρους είναι πιθανό να προκύπτουν περισσότερες πιθανές δομές οπότε για την επιλογή της πραγματικής απαιτούνται επιπλέον πληροφορίες. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η άγνωστη ένωση αποτελεί σύμπλοκο του αντιμονίου με υποκαταστάτες ανιόντα του πυροσταφυλικού οξέος, μονόξινα θειώδη ανιόντα (HSO3<sup>-</sup>) και ακεταλδεΰδη, δομή η οποία περιγράφεται από τον συντακτικό τύπο  $C_7H_{14}O_{12}S_2Sb$ . Μέσω της ανωτέρω εργασίας καθίσταται εμφανής η πολυπλοκότητα των μελετών ειδοταυτοποίησης και η σπουδαιότητα της γνώσης της στοιχειακής σύστασης και του μοριακού βάρους των συστατικών του μίγματος.

Έχουν πραγματοποιηθεί προσπάθειες διασύνδεσης των τεχνικών ICP-MS και ESI-MS με το ίδιο σύστημα HPLC, με αξιοσημείωτη αυτή της ομάδας του Feldmann [7]. Πιο συγκεκριμένα ο Feldmann και οι συνεργάτες του εισήγαγαν το έκλουσμα από μια στήλη RP-HPLC σε περισταλτική αντλία, όπου διαχωρίστηκε σε δύο μέρη και εν συνεχεία μεταφέρθηκε

ταυτόχρονα σε ένα σύστημα φασματομετρίας μάζας ηλεκτροψεκασμού υψηλής διακριτικής ικανότητας (HR-ESI-MS) και σε ένα σύστημα φασματομετρίας μάζας με πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος υψηλής διαχωριστικής ισχύος (HR-ICP-MS). Η ροή του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε ήταν F<sub>Sample</sub> = 1 mL/min, και κλάσμα 25% αυτής κατευθύνθηκε προς το σύστημα HR-ICP-MS ενώ το υπόλοιπο 75% προς το σύστημα HR-ESI-MS. Η μεθοδολογία αυτή επέτρεψε την ειδοταυτοποίηση των μη πολικών αρσενολιπιδίων που περιέχονται σε εκχύλισμα βιολογικού δείγματος από ψάρια του είδους Mallotus villosus (καπελάνος). Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης προσέγγισης είναι εντυπωσιακά, ωστόσο η εφαρμογή της δεν έγινε ευρέως αποδεκτή λόγω της αυξημένης πολυπλοκότητας και του κόστους της οργανολογίας που απαιτείται.

Μια εναλλακτική προσέγγιση προτάθηκε από τον Hieftje και τους συνεργάτες του, οι οποίοι δημιούργησαν ένα πρωτότυπο φασματόμετρο μάζας χρόνου πτήσης (Time Of Flight Mass Spectrometer, TOF-MS), το οποίο συνδέεται ταυτόχρονα με πηγή ηλεκτροψεκασμού και πηγή επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος [8-10]. Οι πηγές είναι συνδεδεμένες αντιδιαμετρικά στο φασματόμετρο μάζας και εκμεταλλεύονται από κοινού το τμήμα του οργάνου που επιτρέπει το διαχωρισμό και την ανίχνευση των ιόντων. Η οργανολογία κάθε πηγής είναι ανεξάρτητη της άλλης επιτρέποντας τη βελτιστοποίηση των παραμέτρων λειτουργίας. Με τη συγκεκριμένη μεθοδολογία πραγματοποιήθηκε επιτυχής χαρακτηρισμός της κυανοκοβαλαμίνης (Βιταμίνη Β12), όπως και μεταλλοπρωτεϊνών, πιο συγκεκριμένα της σουπεροξειδικής δισμουτάσης και της μυοσφαιρίνης. Ωστόσο η ευαισθησία του πρωτότυπου φασματομέτρου είναι σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με τα μεμονωμένα συστήματα ESI-TOF-MS και ICP-TOF-MS. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά την στοιχειακή ανάλυση, η ευαισθησία είναι κατά μία τάξη μεγέθους χαμηλότερη συγκριτικά με αυτή ενός συμβατικού συστήματος ICP-TOF-MS ενώ, όσον αφορά τη μοριακή ανάλυση, η ευαισθησία είναι μία ως δύο τάξεις μεγέθους χαμηλότερη από εκείνην ενός συμβατικού φασματομέτρου ESI-TOF-MS. Παρά τη σημαντικά χαμηλότερη ευαισθησία της προσέγγισης αυτής η τεχνική επιτρέπει τον ταυτόχρονο χαρακτηρισμό χημικών ενώσεων.

Η μοριακή φασματομετρία μάζας εξαιρετικά υψηλής διακριτικής ικανότητας (R > 10<sup>5</sup>) σε αντίθεση με τη συμβατική μοριακή φασματομετρία μάζας παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση και απλοποιεί σημαντικά τις μελέτες ειδοταυτοποίησης. Όμως ακόμη και με μια τέτοια προσέγγιση υπάρχουν περιορισμοί όσον αφορά τη μελέτη μορίων υψηλού μοριακού βάρους, όπως οι πρωτεΐνες και σύμπλοκα αυτών. Γίνεται λοιπόν εμφανής η ανάγκη ανάπτυξης μίας νέας ολοκληρωμένης και ευέλικτης αναλυτικής τεχνικής, ικανής να παρέχει ταυτόχρονα πληροφορίες σχετικές με τη στοιχειακή και τη μοριακή

σύσταση των εξεταζόμενων δειγμάτων ταυτόχρονα σε πραγματικό χρόνο έτσι ώστε να μειωθεί σημαντικά η πολυπλοκότητα και ο χρόνος διεξαγωγής των μετρήσεων.

Στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι ο συνδυασμός της φασματοσκοπίας εκπομπής πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS) με τη μοριακή φασματομετρία μάζας υπερηχητικού ιοντισμού (Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry, SSI-MS) και η ανάπτυξη μίας νέας υβριδικής αναλυτικής τεχνικής, η οποία θα συνδυάζει την ατομική φασματοσκοπία με τη μοριακή φασματομετρία μάζας για την ανίχνευση μεταλλικών ιόντων σε βιομόρια και σύμπλοκα. Στο Σχήμα 1.1 παρουσιάζεται απλοποιημένη αναπαράσταση της βασικής αρχής λειτουργίας της προτεινόμενης τεχνικής LIBS-SSI-MS. Η ενσωμάτωση των τεχνικών LIBS και SSI-MS επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης ενός μόνο πνευματικού εκνεφωτή, ο οποίος μετατρέπει το προς ανάλυση υδατικό διάλυμα σε αερόλυμα. Τα σταγονίδια στο αερόλυμα παράγονται επιφανειακώς φορτισμένα, εξαιτίας των φαινομένων υπερηχητικού ιοντισμού, και εισαγόμενα στο φασματόμετρο μάζας οδηγούν στη δημιουργία μοριακών ιόντων στην αέρια φάση. Παράλληλα, με την εστίαση παλμών λέιζερ στην έξοδο του πνευματικού εκνεφωτή, τμήμα του αερολύματος μετατρέπεται σε πλάσμα και μέσω του φάσματος εκπομπής αυτού καθίσταται εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης του δείγματος.



Σχήμα 1.1. Σχηματική αναπαράσταση της βασικής αρχής της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS.

Η φασματομετρία μάζας με πηγή υπερηχητικού ιοντισμού (SSI-MS) αποτελεί μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα τεχνική μοριακής φασματομετρίας μάζας, η οποία έχει την προοπτική να αντικαταστήσει ικανοποιητικά την ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική ESI-MS. Στην τεχνική SSI-MS η πειραματική διάταξη της πηγής είναι σχετικά απλή, καθώς αποτελείται από έναν πνευματικό εκνεφωτή, ο οποίος τοποθετείται κοντά στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας, σε απόσταση της τάξης των 5 mm. Ο σχηματισμός των θετικά και αρνητικά φορτισμένων ιόντων του αναλύτη πραγματοποιείται ταυτόχρονα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες χωρίς την ανάγκη εφαρμογής υψηλού δυναμικού. Για την εισαγωγή του δείγματος στο φασματόμετρο μάζας δεν απαιτείται η χρήση αντλίας, καθώς στο ακροφύσιο του εκνεφωτή δημιουργείται διαφορά πίεσης λόγω φαινομένου Venturi, η οποία επιτρέπει την αυτοαναρρόφηση του δείγματος. Η ερευνητική ομάδα του Σ. Περγαντή διεξήγαγε συγκριτική

ESI-MS SSI-MS αναλύοντας μελέτη των τεχνικών και πρότυπα διαλύματα μεταλλοπρωτεΐνών (μυοσφαιρίνης και κυτοχρώματος c), και μίας ένωσης συναρμογής μεταλλικά χαλκού  $(Cu^{2+})$ (αποτελούμενης από ιόντα και δυσπροσίου  $(Dy^{3+})$ συμπλοκοποιημένα με συνθετικά αμινοξέα) [11]. Τα αποτελέσματα των μελετών έδειξαν ότι η ευαισθησία της τεχνικής SSI-MS δεν επηρεάζεται σημαντικά από παραμέτρους όπως το δυναμικό επιτάχυνσης ιόντων στην πηγή και τη θερμοκρασία της θερμαινόμενης στήλης μεταφοράς ενδιάμεσης πίεσης σε αντίθεση με την τεχνική ESI-MS, η οποία είναι πιο ευαίσθητη σε τέτοιες μεταβολές. Η ευαισθησία των δύο τεχνικών είναι συγκρίσιμη, με την ESI-MS να υπερέχει ελαφρώς στις βέλτιστες συνθήκες λειτουργίας. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση της ένωσης συναρμογής έδειξαν ότι η θραυσματοποίηση του μορίου είναι αμελητέα στην περίπτωση της τεχνικής SSI-MS ανεξαρτήτως των παραμέτρων λειτουργίας, κάτι που δεν συμβαίνει στην τεχνική ESI-MS. Όσον αφορά την ανάλυση των μεταλλοπρωτεΐνων, πιο συγκεκριμένα κατά την ανάλυση της μυοσφαιρίνης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα φάσματα SSI-MS που καταγράφηκαν έχουν την ίδια ποιότητα σε σχέση με τα φάσματα που λαμβάνονται με την τεχνική ESI-MS, ωστόσο κατέστη εφικτή η καταγραφή φασμάτων των αρνητικά φορτισμένων μορίων της πρωτεΐνης σε διάλυμα το οποίο είχε οξινιστεί μέσω προσθήκης οξικού οξέος (1% v/v), ενώ αυτό ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί με την τεχνική ESI-MS. Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται στο διαφορετικό μηγανισμό που ακολουθεί ο σχηματισμός των μοριακών ιόντων στην αέρια κατάσταση σε κάθε τεχνική. Στην περίπτωση του κυτοχρώματος c παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα φάσματα όσον αφορά το εύρος της κατανομής των φορτίων της πρωτεΐνης (Σχ. 1.2). Σε αυτήν την περίπτωση η εισαγωγή φορτίου στην πρωτεΐνη πραγματοποιήθηκε μέσω προσθήκης 1% ν/ν διμέθυλο-σουλφοξείδιου (DMSO). Είναι ενδιαφέρον ότι για να ληφθεί αντίστοιχο φάσμα με την τεχνική ESI-MS η συγκέντρωση του DMSO στο διάλυμα πρέπει να ανέλθει στο 80 % v/v.



Σχήμα 1.2. Φάσματα μάζας των θετικά φορτισμένων μορίων κυτοχρώματος-c a) SSI-MS και b) ESI-MS. [Cyt-c] = 100  $\mu$ g/mL, 1% v/v DMSO [11].

Η φασματοσκοπία εκπομπής πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (LIBS) είναι μια τεχνική διαγνωστικού και αναλυτικού χαρακτήρα, η οποία παρέχει πληροφορία σχετική με τη στοιχειακή σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος. Η πληροφορία αυτή προκύπτει μέσω ανάλυσης της ακτινοβολίας εκπομπής από μικροπλάσμα, το οποίο δημιουργείται στο στόγο (δείγμα), ως αποτέλεσμα της εστίασης ακτινοβολίας παλμικού λέιζερ, συνήθως γρονοδιάρκειας παλμού λίγων νανοδευτερολέπτων (ns). Οι μετρήσεις με την τεχνική LIBS πραγματοποιούνται απευθείας στο υλικό/δείγμα, χωρίς καμία προ-επεξεργασία, καθώς απαιτείται μόνο οπτική επαφή με αυτό. Στα φάσματα LIBS η πληροφορία για τη στοιχειακή σύσταση περιέχεται υπό τη μορφή των χαρακτηριστικών ατομικών γραμμών εκπομπής, επιτρέποντας την ταυτόχρονη ταυτοποίηση διαφορετικών στοιχείων, με το χρόνο καταγραφής του φάσματος να είναι μικρότερος του ενός δευτερολέπτου. Η δημιουργία του πλάσματος λαμβάνει χώρα σε πολύ μικρό όγκο του υλικού της τάξης του 0.1 mm<sup>3</sup>, από τον οποίο παρέχονται οι πληροφορίες για τη στοιχειακή σύσταση. Η ευαισθησία της τεχνικής είναι ικανοποιητική με όρια ανίχνευσης της τάξης των 0.01-1 μg/mL. Η πειραματική διάταξη που γρησιμοποιείται είναι αρκετά ευέλικτη και ευνοεί την ανάπτυξη φορητών συστημάτων και υβριδικών διατάξεων.

Γίνεται αντιληπτό ότι η δημιουργία της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS απαιτεί την ανάπτυξη μεθοδολογίας LIBS, η οποία να επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων στο αερόλυμα που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή. Η εφαρμογή της τεχνικής LIBS στην ανάλυση αερολυμάτων ξεκίνησε το 1980 ως μια εναλλακτική προσέγγιση στην ανάλυση υγρών δειγμάτων με κίνητρο την αύξηση της ευαισθησίας της τεχνικής. Ο σχηματισμός πλάσματος απευθείας στην επιφάνεια του υγρού παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα αλλά και δυσκολίες που σχετίζονται με τη φύση της αλληλεπίδρασης του υγρού με το πλάσμα. Η επιφάνεια ενός υγρού δείγματος είναι απόλυτα ομοιογενής και ομοιόμορφη και ανανεώνεται συνεγώς με αποτέλεσμα κάθε παλμός λέιζερ να συναντά μια νέα επιφάνεια, ωστόσο η ακτινοβολία που εκπέμπεται από το πλάσμα είναι ασθενής, εξαιτίας της ταχείας απόσβεσης του πλάσματος από το υγρό. Επίσης, η βίαιη εκτόνωση του πλάσματος οδηγεί στη δημιουργία ωστικών κυμάτων, η αλληλεπίδραση των οποίων με την επιφάνεια του υγρού προκαλεί την εκτόξευση σταγονιδίων και απόθεση αυτών στην επιφάνεια οπτικών στοιχείων της διάταξης (κατόπτρων, φακών, οπτικής ίνας), γεγονός που επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ, όπως και τη συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα.

Η μετατροπή ενός υγρού διαλύματος σε αερόλυμα παρέχει σημαντικά πλεονεκτήματα, τα οποία οφείλονται στη φύση του πλάσματος, καθώς όταν ο σχηματισμός

πλάσματος πραγματοποιείται σε περιβάλλον αέρα, παρατηρείται σημαντική μείωση των διεργασιών απόσβεσης του πλάσματος, ενώ υπάρχει πλήρης εξάλειψη των φαινομένων απόθεσης υγρού επί των οπτικών. Τα μειονεκτήματα που παρουσιάζει η συγκεκριμένη προσέγγιση σχετίζονται με τη φύση και τα χαρακτηριστικά του αερολύματος που δημιουργείται από τον εκάστοτε χρησιμοποιούμενο εκνεφωτή. Το αερόλυμα που δημιουργείται από έναν εκνεφωτή συχνά παρουσιάζει κατανομή όσον αφορά το μέγεθος των παραγόμενων σταγονιδίων η οποία επιδρά σημαντικά στην επαναληψιμότητα των μετρήσεων LIBS.

Στις αναλυτικές τεχνικές, στις οποίες γίνεται χρήση σταθερού πλάσματος, όπως το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, η εισαγωγή του αναλύτη πραγματοποιείται μέσω μιας συνεχούς ροής σταγονιδίων προς το πλάσμα. Το πλάσμα εκμεταλλεύεται μεγάλο ποσοστό του αερολύματος, οπότε η ολοκλήρωση του καταγραφόμενου σήματος, για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, παρέχει τη μέση τιμή της συγκέντρωσης του αναλύτη στο πλάσμα, η οποία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αναλύτη στο διάλυμα. Στην τεχνική LIBS το πλάσμα είναι παροδικό και χωρικά περιορισμένο οπότε η αλληλεπίδρασή του με τα σταγονίδια του αερολύματος είναι χρονικά περιορισμένη και υφίσταται μόνο όταν τα σταγονίδια ευρίσκονται εντός του όγκου του πλάσματος. Σημαντική συνεισφορά στην κατανόηση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα κατά την ανάλυση αερολυμάτων με την τεχνική LIBS έχει γίνει από τον Omenetto και την ερευνητική ομάδα του Hahn [12-17]. Οι διεργασίες που συντελούνται στο πλάσμα περιλαμβάνουν την εξάτμιση των σταγονιδίων η οποία ακολουθείται από την ατομοποίηση και διάχυση των συστατικών τους στον όγκο του πλάσματος. Η χρονική κλίμακα στην οποία λαμβάνει χώρα κάθε διεργασία είναι καθορισμένη και εξαρτάται από το ρυθμό μεταφοράς θερμότητας από το πλάσμα προς τα σταγονίδια, όπως και από το μέγεθος των σταγονιδίων. Για σταγονίδια διαμέτρου της τάξης των 50 μm οι διεργασίες εξάτμισης ολοκληρώνονται σε περίπου 1 μs.

Η διεξαγωγή ποσοτικής ανάλυσης LIBS σε αερολύματα που προέρχονται από την εκνέφωση διαλυμάτων έχει αναφερθεί από αρκετές ερευνητικές ομάδες. Πιο συγκεκριμένα η ερευνητική ομάδα της Yalçın μελέτησε την εφαρμογή της τεχνικής LIBS στον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων σε αερολύματα που δημιουργούνται από την εκνέφωση υδατικών διαλυμάτων με τη βοήθεια υπερήχων [18]. Το αερόλυμα, μετά την παραγωγή του, διέρχεται μέσω ειδικής διάταξης μεμβράνης (membrane dryer), όπου πραγματοποιείται εξάτμιση τμήματος του νερού με αποτέλεσμα να προκύπτουν σταγονίδια διαμέτρου 0.5 μm. Τα στοιχεία που μελετήθηκαν ήταν τα Na, K, Ca, Mg, Cu, Al, Cr, Zn, Pb και Cd με τα όρια ανίχνευσης να κυμαίνονται στην περιοχή 1-80 μg/mL.

Η ερευνητική ομάδα του Almirall, μελέτησε την εφαρμογή της τεχνικής LIBS στον ποσοτικό προσδιορισμό ιόντων  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$  και  $Ba^{2+}$  σε αερόλυμα που δημιουργείται από πνευματικό εκνεφωτή μετά τη διέλευσή του από κατάλληλο θάλαμο εκνέφωσης, καθώς και σε μεμονωμένα σταγονίδια με όγκο περίπου 90 ± 12 pL [19]. Για το σχηματισμό πλάσματος χρησιμοποιήθηκε ένας παλμός λέιζερ μήκους κύματος 532 nm ( $E_{Pulse} = 65$  mJ) και χρονοδιάρκειας 3-5 ns, αλλά και ζεύγος παλμών λέιζερ (Double-Pulse LIBS, DP-LIBS) στα 532 nm ( $E_{Pulse} = 2 \times 65$  mJ), στο οποίο οι παλμοί λέιζερ διαχωρίζονται χρονικά κατά 50 ns. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειζαν ότι υψηλότερη ευαισθησία επιτυγχάνεται όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται με χρήση ζεύγους παλμών λέιζερ στο αερόλυμα που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή. Η τιμή του ορίου ανίχνευσης της προτεινόμενης μεθοδολογίας DP-LIBS είναι 0.3 μg/mL, 0.6 μg/mL, 1 μg/mL και 0.7 μg/mL για τα ιόντα  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$  και  $Ba^{2+}$  αντίστοιχα. Αντίστοιχες μελέτες σε μεμονωμένα σταγονίδια πραγματοποιήθηκαν από τις ερευνητικές ομάδες του Nohl [20] και του Hahn [21], με όρια ανίχνευσης για το ασβέστιο της τάξης των 20 ng/mL και 50 ng/mL αντίστοιχα.

Στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής εργασίας του συγγραφέα πραγματοποιήθηκε ανάπτυξη κατάλληλης μεθοδολογίας LIBS η οποία επιτρέπει τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων (Ca<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>) σε αερόλυμα που δημιουργείται από πνευματικό εκνεφωτή, όμοιο με εκείνον που χρησιμοποιείται ως πηγή ιοντισμού στην τεχνική SSI-MS [22]. Τα όρια ανίχνευσης για τα στοιχεία που μελετήθηκαν είναι χαμηλότερα κατά περίπου μία τάξη μεγέθους συγκριτικά με τις αντίστοιχες τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία και παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.1.

Malanáuma	Ορια ανίχνευσης (μg/mL)					
νιελετωμενο	Marmatakis	Yalcin	Almirall	Nohl	Hahn	Απευθείας στο
στοιχειο	[22]	[18]	[19]	[20]	[21]	υγρό [23]
Cu	0.067	1.99		-	-	0,78
Fe	0.72					30
Ca	0.015	1.83	0.6	0.020	0.050	0.01
Ba	0.027		0.7			0.08

Πίνακας 1.1. Όρια ανίχνευσης μεταλλοϊόντων σε διαλύματα με την τεχνική ns-LIBS.

Από τα δεδομένα του Πίνακα 1.1 γίνεται αντιληπτό ότι η ευαισθησία της μεθοδολογίας LIBS που έχει αναπτυχθεί είναι κατά μία τάξη μεγέθους υψηλότερη συγκριτικά με εκείνες που παρουσιάζονται σε αντίστοιχες μελέτες, οπότε εξάγεται το συμπέρασμα ότι η σύνδεση με την τεχνική SSI-MS είναι εφικτό να υλοποιηθεί. Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο συνδυασμός των τεχνικών LIBS και SSI-MS είναι αρκετά σημαντικός καθώς επιτρέπει την

ταυτόχρονη λήψη πληροφοριών τόσο για τη στοιχειακή όσο και για τη μοριακή σύσταση, μέσω μιας μόνο μέτρησης σε πραγματικό χρόνο, με αποτέλεσμα να μειώνεται σημαντικά η πολυπλοκότητα, το κόστος και ο χρόνος που απαιτείται για την ανάλυση.

Σύνδεση της τεχνικής LIBS με τη μοριακή φασματομετρία μάζας έχει αναφερθεί και παλαιότερα. Πιο συγκεκριμένα οι ερευνητικές ομάδες του Δ. Αγγλου και του Μ. Βελεγράκη ανέπτυξαν υβριδική διάταξη LA-TOF-MS με σκοπό τη μελέτη υλικών σχετικών με αντικείμενα πολιτιστικής κληρονομιάς [24]. Στην τεχνική αυτή προκαλείται φωτοαποδόμηση του υλικού (Laser Ablation, LA) και σχηματισμός πλάσματος ως πηγή εκρόφησης και ιοντισμού των ενώσεων από στερεό δείγμα. Μέσω της φασματικής ανάλυσης και καταγραφής της ακτινοβολίας, που εκπέμπεται από το πλάσμα που δημιουργείται, είναι εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειακής σύστασης του εξεταζόμενου δείγματος ταυτόχρονα με τη μοριακή σύσταση αυτού, που προσδιορίζεται μέσω της φασματομετρίας μάζας-χρόνου πτήσης.

## Βιβλιογραφία

[1] W. Maret, **Metallomics: The Science of Biometals and Biometalloids**, In: Arruda M. (eds) Metallomics. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1055'Springer, Cham 2018.

[2] A.L. Rosen, G.M. Hieftje, **Inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray mass spectrometry for speciation analysis: Applications and instrumentation**, Spectrochimica Acta Part B, 59 (2004) 135–146.

[3] S.S. Kannamkumarath, K. Wróbel, K. Wróbel, J.A. Caruso, **Speciation of Arsenic in Different Types of Nuts by Ion Chromatography–Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**, J. Agric. Food Chem. 52 (2004) 1458–1463.

[4] J. Feldmann, P. Salaün, E. Lombi, Critical review perspective: elemental speciation analysis methods in environmental chemistry – moving towards methodological integration, Environmental Chemistry, 6 (2009) 275–289.

[5] P. Jitaru, G. Cozzi, A. Gambaro, P. Cescon, C. Barbante, Simultaneous speciation analysis of glutathione peroxidase, selenoprotein P and selenoalbumin in human serum by tandem anion exchange-affinity HPLC and on-line isotope dilution ICP-quadrupole MS, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 391 (2008) 661–669.

[6] S. Carneado, J.F. López-Sánchez, A. Sahuquillo, E. Klontzas, G.E. Froudakis, S.A. Pergantis, Antimony speciation in spirits stored in PET bottles: Identification of a novel antimony complex, J. Anal. At. Spectrom., 32 (2017) 1109–1118.

[7] K.O. Amayo, A. Petursdottir, C. Newcombe, H. Gunnlaugsdottir, A. Raab, E.M. Krupp, J. Feldmann, **Identification and quantification of arsenolipids using reversed-phase HPLC coupled simultaneously to high-resolution ICPMS and high-resolution electrospray MS without species-specific standards**, Anal. Chem., 83 (2011) 3589–3595.

[8] D.A. Rogers, S.J. Ray, G.M. Hieftje, An electrospray/inductively coupled plasma dualsource time-of-flight mass spectrometer for rapid metallomic and speciation analysis: Instrument design, Metallomics, 1 (2009) 67–77.

[9] D.A. Rogers, S.J. Ray, G.M. Hieftje, An electrospray/inductively coupled plasma dualsource time-of-flight mass spectrometer for rapid metallomic and speciation analysis: Part 1. Molecular channel characterization, Metallomics, 2 (2010) 271–279.

[10] D.A. Rogers, S.J. Ray, G.M. Hieftje, An electrospray/inductively coupled plasma dual-source time-of-flight mass spectrometer for rapid metallomic and speciation analysis: Part 2. Atomic channel and dual-channel characterization, Metallomics, 2 (2010) 280–288.

[11] M.M. Antonakis, A. Tsirigotaki, K. Kanaki, C.J. Milios, S.A. Pergantis, **Bipolar mass spectrometry of labile coordination complexes, redox active inorganic compounds, and proteins using a glass nebulizer for sonic-spray ionization**, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 24 (2013) 1250–1259.

[12] P.K. Diwakar, K.H. Loper, A.-M. Matiaske, D.W. Hahn, Laser-induced breakdown spectroscopy for analysis of micro and nanoparticles, J. Anal. At. Spectrom., 27 (2012) 1110–1119.

[13] P.S. Dalyander, I.B. Gornushkin, D.W. Hahn, Numerical simulation of laser-induced breakdown spectroscopy: Modeling of aerosol analysis with finite diffusion and vaporization effects, Spectrochimica Acta Part B, 63 (2008) 293–304.

[14] 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. Anal. At. Spectrom., 25 (2010) 1921–1930.

[15] 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, Appl. Spectrosc., 64 (2010) 335-366.

[16] B.T. Fisher, H.A. Johnsen, S.G. Buckley, D.W. Hahn, **Temporal Gating for the Optimization of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Detection and Analysis of Toxic Metals**, Appl. Spectrosc., 55 (2001) 1312-1319.

[17] M.H. Nunez, P. Cavalli, G. Petrucci, N. Omenetto, Analysis of Sulfuric Acid Aerosols by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy and Laser-Induced Photofragmentation, Appl. Spectrosc., 54 (2000) 1805–1816.

[18] 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 (2012) 87–94.

[19] E.M. Cahoon, J.R. Almirall, Quantitative Analysis of Liquids from Aerosols and Microdrops Using Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Anal. Chem., 84 (2012) 2239–2244.

[20] 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 (2005) 993–1001.

[21] S. Groh, P.K. Diwakar, C.C. Garcia, A. Murtazin, D.W. Hahn, K. Niemax, **100%** Efficient sub-nanoliter sample introduction in laser-induced breakdown spectroscopy and inductively coupled plasma spectrometry: Implications for ultralow sample volumes, Anal. Chem., 82 (2010) 2568–2573.

[22] K. Marmatakis, S.A. Pergantis, D. Anglos, **Elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules using laser induced breakdown spectroscopy and sonic spray ionization mass spectrometry: A step towards full integration and simultaneous analysis**, Spectrochimica Acta Part B, 126 (2016) 103–109.

[23] 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 (2014) 8969–8980

[24] O. Kokkinaki, C. Mihesan, M. Velegrakis, D. Anglos, Comparative study of laser induced breakdown spectroscopy and mass spectrometry for the analysis of cultural heritage materials, J. Mol. Struct. 1044 (2013) 160–166.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

#### Φασματόσκοπια Πλασματός Επαγομένου από Λειζερ

Η φασματοσκοπία πλάσματος επαγόμενου από λέιζερ (Laser Induced Plasma Spectroscopy (LIPS) ή Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)) είναι μια τεχνική ατομικής φασματοσκοπίας η οποία παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος, εκμεταλλευόμενη την εκπομπή από ένα μικροπλάσμα, το οποίο δημιουργείται στο δείγμα ως αποτέλεσμα της εστίασης ακτινοβολίας από παλμικό λέιζερ. Καταγραφή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα και φασματική ανάλυση αυτής παρέχει πληροφορία σχετική με τη στοιχειακή σύσταση του δείγματος υπό τη μορφή των χαρακτηριστικών γραμμών ατομικής εκπομπής. Το φαινόμενο της επαγόμενης κατάρρευσης από λέιζερ (Laser-Induced Breakdown) παρατηρήθηκε αμέσως μετά την εφεύρεση του λέιζερ, το 1960 [1], ενώ η πρώτη αναφορά για τη δημιουργία πλάσματος από λέιζερ έγινε από τους Breach και Cross [2]. Εν συνεχεία το 1964 οι Maker, Terhune και Savage [3] παρατήρησαν, για πρώτη φορά εκκένωση σε αέριο με οπτικό τρόπο κατ' αναλογία της ηλεκτρικής εκκένωσης (electrical discharge). Την ίδια χρονιά δημοσιεύτηκε μια εργασία [4] από τους Runge, Minck και Bryan η οποία αναφερόταν στη δημιουργία πλάσματος στην επιφάνεια μεταλλικού δείγματος μέσω της εστίασης ακτινοβολίας εκπεμπόμενης από παλμικό λέιζερ ρουμπινίου. Το 1966, οι Young, Hercher και Yu [5] περιέγραψαν τα χαρακτηριστικά πλάσματος που δημιουργείται στον αέρα από την εστίαση ακτινοβολίας λέιζερ. Η εφαρμογή της τεχνικής LIBS σε στερεά, υγρά και αέρια δείγματα με σκοπό τη στοιχειακή τους ανάλυση άρχισε να εξετάζεται από αρκετές ερευνητικές ομάδες τη δεκαετία του 1970. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα πρώτα εμπορικώς διαθέσιμα συστήματα, που εκμεταλλεύθηκαν τη χρήση παλμικής ακτινοβολίας λέιζερ για τη στοιχειακή ανάλυση δειγμάτων κατασκευάστηκαν την περίοδο από το 1964 μέχρι το 1967 από τρείς κυρίως εταιρείες, τη γερμανική Zeiss, την ιαπωνική JEOL Ltd και την αμερικανική Jarrell-Ash. Στα συστήματα αυτά, που ουσιαστικά υπήρξαν πρόδρομοι της τεχνικής LIBS, η χρήση της παλμικής πηγής λέιζερ γινόταν κυρίως για τη φωτοαποδόμηση του δείγματος, ενώ η διέγερση των ατόμων

προέκυπτε μέσω της χρήσης ηλεκτρικού σπινθήρα συγχρονισμένου κατάλληλα με τον παλμό φωτοαποδόμησης.

#### 2.1. Κατάσταση Πλάσματος

Το πλάσμα θεωρείται ως η τέταρτη κατάσταση της ύλης, η οποία αποτελείται από μια τοπική κατανομή ατόμων, μορίων, ιόντων και ελευθέρων ηλεκτρονίων, ηλεκτρικά ουδέτερη στο σύνολο της. Σε μια απλουστευμένη προσέγγιση το πλάσμα μπορεί να θεωρηθεί ως ένα μερικώς ιοντισμένο αέριο. Ο σγηματισμός πλάσματος σε ένα υλικό επιτυγγάνεται μέσω τριών μηγανισμών: της θερμικής κατάρρευσης (thermal breakdown), της ηλεκτροστατικής κατάρρευσης (electrical breakdown) και της διηλεκτρικής κατάρρευσης (dielectric breakdown). Η θερμική κατάρρευση απαιτεί την ύπαρξη πολύ υψηλών θερμοκρασιών της τάξης των μερικών χιλιάδων βαθμών kelvin. Στις συνθήκες αυτές προκαλείται τήξη, εξάτμιση και ιοντισμός της ύλης μέσω θερμικά επαγόμενων κρούσεων. Ηλεκτροστατική κατάρρευση λαμβάνει χώρα σε ένα αγώγιμο μέσο, όπου η έντονη αύξηση της τάσης οδηγεί σε κατάρρευση του υλικού. Η διηλεκτρική κατάρρευση παρατηρείται σε μη αγώγιμα υλικά όταν εφαρμοστεί διαφορά δυναμικού υψηλότερη από το δυναμικό διάσπασης τους. Χαρακτηριστικό παράδειγμα σχηματισμού πλάσματος λόγω θερμικής κατάρρευσης αποτελεί ο ήλιος, λόγω ηλεκτροστατικής κατάρρευσης αποτελεί ο κεραυνός και λόγω διηλεκτρικής κατάρρευσης αποτελεί ο σχηματισμός πλάσματος μέσω της εστίασης ακτινοβολίας λέιζερ στον αέρα.

Το πλάσμα χαρακτηρίζεται από σειρά φυσικών παραμέτρων οι σημαντικότερες εκ των οποίων είναι ο βαθμός ιοντισμού και η θερμοκρασία. Το πλάσμα που δημιουργείται στην τεχνική LIBS εντάσσεται στην κατηγορία του ασθενώς ιοντισμένου πλάσματος, δηλαδή η θερμοκρασία του είναι της τάξης των 10000 K, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα  $N_e = 10^{18}$  cm<sup>-3</sup>, ενώ ο λόγος των πληθυσμών των ελεύθερων ηλεκτρονίων ως προς τα υπόλοιπα είδη (ουδέτερα άτομα, ατομικά ιόντα) είναι μικρότερος από 10 % [6].

#### 2.2. Δημιουργία πλάσματος σε αέρια-Αλληλεπίδραση φωτός-ύλης

Η δημιουργία πλάσματος είναι εφικτή όταν η ροή οπτικής ισχύος του λέιζερ στην περιοχή εστίασης υπερβεί μια τιμή κατωφλίου της τάξης του 1 GW/cm<sup>2</sup>. Η διαδικασία σχηματισμού πλάσματος εξαρτάται άμεσα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος (αγωγός, ημιαγωγός, μονωτής) καθώς και από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ.

Οι διεργασίες σχηματισμού πλάσματος σε αέρια (μη αγώγιμα μέσα), εκκινούν με την άφιξη του παλμού λέιζερ, η τυπική διάρκεια του οποίου είναι της τάξης των 10 ns, στην περιοχή εστίασης. Απορρόφηση τμήματος της ακτινοβολίας λέιζερ από το αέριο οδηγεί σε ηλεκτρονιακή διέγερση των ατόμων ή μορίων του αερίου και ιοντισμό αυτών μέσω διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού, οπότε επιτυγχάνεται η παραγωγή ελεύθερων ηλεκτρονίων στο αέριο. Τα ελεύθερα ηλεκτρόνια, εν συνεχεία, αλληλεπιδρούν με τον παλμό λέιζερ και επιταχύνονται λόγω περαιτέρω απορρόφησης ακτινοβολίας του παλμού λέιζερ. Οι κρούσεις των ελεύθερων ηλεκτρονίων με τα άτομα ή/και τα μόρια του μέσου οδηγούν σε ιοντισμό και περαιτέρω παραγωγή ελεύθερων ηλεκτρονίων. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται όσο διαρκεί ο παλμός λέιζερ επιτυγχάνοντας εκθετική αύξηση του αριθμού των ηλεκτρονίων, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό πλάσματος. Η διεργασία αυτή αναφέρεται ως ιοντισμός χιονοστιβάδας (avalanche ionization).

Γίνεται αντιληπτό ότι ο σχηματισμός πλάσματος σε μη αγώγιμα μέσα επιτυγχάνεται μέσω του συνδυασμού των δύο μηχανισμών, οι οποίοι λειτουργούν παράλληλα, ενώ η συνεισφορά του καθενός εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού (δυναμικό ιοντισμού, ικανότητα απορρόφησης της ακτινοβολίας λέιζερ), όπως και από τα χαρακτηριστικά της πηγής λέιζερ (ενέργεια, χρονική διάρκεια και μήκος κύματος παλμού λέιζερ).

#### 2.2.1. Μηχανισμός χιονοστιβάδας

Ο μηχανισμός χιονοστιβάδας προϋποθέτει την ύπαρξη ελεύθερων ηλεκτρονίων, τα οποία απορροφούν την ακτινοβολία λέιζερ και επιταχύνονται, παρουσία τρίτου σώματος (N), διεργασία η οποία είναι γνωστή ως αντίστροφο φαινόμενο πέδησης.

$$e + hv + N \rightarrow e^* + N \qquad (2.1)$$

Η διεργασία αυτή οδηγεί σε μεταφορική διέγερση των ελεύθερων ηλεκτρονίων (αύξηση κινητικής ενέργειας) η κρούση των οποίων με τα ηλεκτρόνια του μέσου είναι δυνατόν να προκαλέσει ιοντισμό του μέσου και περαιτέρω παραγωγή ηλεκτρονίων, εφόσον η ενέργεια που ανταλλάσσεται κατά την κρούση είναι υψηλότερη της ενέργειας ιοντισμού του μέσου.

$$e^* + M \to M + 2e \tag{2.2}$$

Η χρονική κλίμακα στην οποία συντελείται η διεργασία είναι της τάξης των 100 fs, οπότε γίνεται αντιληπτό ότι όσο διαρκεί ο παλμός λέιζερ (τ<sub>Pulse</sub>=10 ns) τέτοιου τύπου διεργασίες επαναλαμβάνονται συνεχώς με αποτέλεσμα να αυξάνεται εκθετικά ο αριθμός των ελεύθερων ηλεκτρονίων οδηγώντας σε σταδιακή κατάρρευση του μέσου και σχηματισμό πλάσματος.

#### 2.2.2. Πολυφωτονικός ιοντισμός

Ως πολυφωτονικός ιοντισμός αναφέρεται η διεργασία, η οποία οδηγεί στον ιοντισμό ατόμου ή μορίου ως αποτέλεσμα ταυτόχρονης απορρόφησης πλέον του ενός φωτονίων σύμφωνα με την αντίδραση:

$$M + ahv \rightarrow M^+ + e \qquad (2.3),$$

όπου Μ είναι ένα μόριο ή άτομο του υλικού και a είναι ο αριθμός των φωτονίων ενέργειας (hv) που απορροφώνται από το υλικό. Η διεργασία του πολυφωτονικού ιοντισμού κατατάσσεται στα μη γραμμικά φαινόμενα, καθώς η πιθανότητα απορρόφησης εξαρτάται μη γραμμικά (~ I<sup>m</sup>) από τη ροή οπτικής ισχύος του λέιζερ (I) και σχετίζεται άμεσα με τον αριθμό φωτονίων (m) που απαιτούνται για τον ιοντισμό. Στο Σχήμα 2.1 παρουσιάζεται σχηματικά η διεργασία του πολυφωτονικού ιοντισμού και γίνεται αντιληπτό ότι όταν η συνολική ενέργεια που προσφέρεται υπό τη μορφή φωτός είναι υψηλότερη από την ενέργεια ιοντισμού του μέσου τότε μόνο καθίσταται εφικτός ο ιοντισμός του.



Σχήμα 2.1. Σχηματική αναπαράσταση της διεργασίας πολυφωτονικού ιοντισμού.

#### 2.3. Χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το πλάσμα

Η θερμοκρασία και η ηλεκτρονιακή πυκνότητα του πλάσματος αυξάνονται συνεχώς όσο διαρκεί ο παλμός του λέιζερ. Μετά το πέρας του παλμού λέιζερ το πλάσμα εισέρχεται σε διαδικασία βαθμιαίας ψύξης λόγω της μη αντιστρεπτής μεταφοράς ενέργειας προς το περιβάλλον, η οποία πραγματοποιείται μέσω κρούσεων των ατόμων/μορίων του πλάσματος με τα άτομα/μόρια του περιβάλλοντος, καθώς και μέσω της εκπομπής ακτινοβολίας από διεγερμένα άτομα και μόρια και από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια.

Κατά τα πρώτα ns μετά το σχηματισμό του πλάσματος, στο φάσμα του παρατηρείται πολύ έντονη εκπομπή ευρείας φασματικής κατανομής, η οποία χαρακτηρίζεται ως συνεχές (continuum) και προέρχεται από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια, ως αποτέλεσμα της απότομης επιβράδυνσής τους λόγω κρούσεων (ακτινοβολία πέδησης). Με την πάροδο του χρόνου, καθώς προχωρούν οι διεργασίες επανασυνδυασμού των ηλεκτρονίων με τα ατομικά ιόντα, μειώνεται η αριθμητική πυκνότητα των ελεύθερων ηλεκτρονίων και συνακόλουθα η ένταση της εκπομπής του συνεχούς. Παράλληλα στο φάσμα LIBS εμφανίζονται σταδιακά οι χαρακτηριστικές οξείες γραμμές εκπομπής των ατομικών ιόντων και των ουδετέρων ατόμων. Όταν η θερμοκρασία του πλάσματος μειωθεί αρκετά (T < 5000 K) στο φάσμα LIBS παρατηρούνται ταινίες μοριακής εκπομπής κυρίως από διεγερμένα διατομικά μόρια (OH, NH, CN,...) που σχηματίζονται στο πλάσμα.

Για την καταγραφή των φασμάτων LIBS απαιτείται η εισαγωγή χρονικής καθυστέρησης σε σχέση με την άφιξη του παλμού λέιζερ στο στόχο, έτσι ώστε να αποκλεισθεί η καταγραφή της ακτινοβολίας πέδησης η οποία δεν περιέχει αναλυτική πληροφορία. Κατ' αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η καταγραφή του φάσματος LIBS σε χρονικό διάστημα κατά το οποίο στο φάσμα επικρατούν οι οξείες γραμμές ατομικής εκπομπής. Στο Σχήμα 2.2 παρουσιάζεται απλοποιημένα η δυναμική της χρονικής εξέλιξης της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια (plasma decay), καθώς και από τα διεγερμένα άτομα (atomic emission), ενώ επισημαίνονται οι χαρακτηριστικές παράμετροι χρονισμού που υπεισέρχονται στις μετρήσεις LIBS. Το χρονικό διάστημα από τη στιγμή άφιξης του παλμού λέιζερ στο δείγμα μέχρι τη στιγμή έναρξης της καταγραφής της εκπομπής συμβολίζεται με τ<sub>Delay</sub> και ονομάζεται χρόνος καθυστέρησης. Το χρονικό διάστημα εντός του οποίου πραγματοποιείται η μέτρηση συμβολίζεται με τ<sub>Gate</sub> και ονομάζεται χρόνος συλλογής ή χρόνος ολοκλήρωσης. Ο χρόνος ζωής του πλάσματος είναι ο χρόνος που απαιτείται ώστε η ένταση της εκπομπής να μειωθεί στο 1/e της αρχικής της τιμής. Ο χρόνος ζωής του πλάσματος μπορεί να εξαχθεί μέσω της παρακολούθησης της χρονικής εξέλιξης της έντασης της εκπομπής από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια είτε της έντασης λόγω ατομικής εκπομπής, βάση της παραδοχής ότι οι διεργασίες αποδιέγερσης στο πλάσμα ακολουθούν κινητική πρώτης τάξης.



Σχήμα 2.2. Σχηματική απεικόνιση της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής πλάσματος.

#### 2.3.1. Ακτινοβολία πέδησης

Όπως προαναφέρθηκε η κατάσταση πλάσματος προϋποθέτει την ύπαρξη ελευθέρων ηλεκτρονίων, τα οποία λειτουργούν ως μεταφορείς της ενέργειας προς τα υπόλοιπα είδη, εξασφαλίζοντας την ομοιογένεια όσον αφορά στην τιμή της θερμοκρασίας και της ηλεκτρονιακής πυκνότητας σε όλον τον όγκο που καταλαμβάνει το πλάσμα. Η μεταφορά ενέργειας μεταξύ των διαφορετικών ειδών στο πλάσμα πραγματοποιείται μέσω κρούσεων. Η απότομη επιβράδυνση ενός ηλεκτρονίου, ως αποτέλεσμα μίας κρούσης στο πλάσμα, οδηγεί σε εκπομπή ακτινοβολίας λόγω φαινομένου πέδησης. Η ακτινοβολία πέδησης χαρακτηρίζεται από ευρεία φασματική κατανομή, διότι η κινητική ενέργεια ενός ελεύθερου ηλεκτρόνιου δεν είναι κβαντισμένη. Η ένταση της ακτινοβολίας πέδησης εξαρτάται από την αριθμητική πυκνότητα των ελεύθερων ηλεκτρονίων και μειώνεται καθώς εξελίσσονται οι διαδικασίες επανασύνδεσης των ατομικών ιόντων με τα ελεύθερα ηλεκτρόνια. Η μείωση της θερμοκρασίας του πλάσματος οδηγεί σε μείωση της μέσης κινητικής ενέργειας των ηλεκτρονίων, με αποτέλεσμα να παρατηρείται μετατόπιση του μεγίστου της εκπομπής λόγω φαινομένου πέδησης, όπως προβλέπεται από την κατανομή Planck.

Η ακτινοβολία πέδησης στα φάσματα LIBS θεωρείται ως ακτινοβολία υποβάθρου, καθώς δεν προσφέρει καμμία αναλυτική πληροφορία σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση του εξεταζόμενου δείγματος, ωστόσο παρέχει πληροφορίες σχετικές με τη θερμοκρασία των ηλεκτρονίων στο πλάσμα. Η ακτινοβολία πέδησης μπορεί να αποδοθεί σε δύο τύπους μεταβάσεων, οι οποίες εκτελούνται από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια στο πλάσμα: α) μεταβάσεις μεταξύ δύο ελεύθερων ενεργειακών καταστάσεων (μη κβαντισμένων) και β) μεταβάσεις μεταξύ μιας ελεύθερης και μιας δέσμιας κατάστασης [6].

#### α) Μεταβάσεις μεταξύ δύο ελευθέρων ενεργειακών καταστάσεων

Όταν ένα ηλεκτρόνιο μεταφορικώς διεγερμένο επιβραδύνεται απότομα, ως αποτέλεσμα μιας κρούσης στο πλάσμα, εκπέμπεται ακτινοβολία ενέργειας ίσης με τη μεταβολή της κινητικής ενέργειας του ηλεκτρονίου.

$$e^* (KE_1) + M \to M + e (KE_2) + hv, hv = KE_1 - KE_2$$
 (2.4),

### β) Μεταβάσεις μεταξύ ελευθέρων καταστάσεων και δέσμιων επιπέδων

Η κρούση ενός ελεύθερου ηλεκτρονίου με ένα ατομικό ιόν οδηγεί σε επανασύνδεση των δύο προς σχηματισμό ενός ουδετέρου ατόμου ή ενός ιόντος χαμηλότερης οξειδωτικής κατάστασης σε διεγερμένη κατάσταση. Η περίσσεια ενέργειας του ηλεκτρονίου αποβάλλεται μέσω της εκπομπής φωτονίου ενέργειας ίσης με την κινητική ενέργεια του ηλεκτρονίου,

μειωμένης κατά την τιμή της ενέργειας ιοντισμού του ατόμου/ατομικού ιόντος από τη συγκεκριμένη διεγερμένη κατάσταση (IP\*).

$$e^* (KE) + I^+ \rightarrow I^* + hv,$$
  $hv = KE - IP^*$  (2.5)

## 2.3.2. Ατομικές γραμμές εκπομπής

Όταν ένα διεγερμένο άτομο ή ιόν μεταπίπτει από μια κβαντική κατάσταση υψηλής ενέργειας σε μια κβαντική κατάσταση χαμηλότερης ενέργειας εκπέμπεται ένα φωτόνιο, η ενέργεια του οποίου ισούται με τη διαφορά ενέργειας των δύο καταστάσεων.

$$I^* \rightarrow I + hv, \qquad hv = \Delta E_{k \rightarrow i} = E_k - E_i, \qquad (2.6)$$

όπου E<sub>i</sub> και E<sub>k</sub> είναι η ενέργεια της κβαντικής κατάστασης με τη χαμηλότερη και την υψηλότερη ενέργεια αντίστοιχα, h είναι η σταθερά του Planck και v η συχνότητα του εκπεμπόμενου φωτονίου. Με δεδομένο ότι οι τιμές ενέργειας των κβαντικών καταστάσεων κάθε ατόμου είναι συγκεκριμένες, το φάσμα ατομικής εκπομπής λειτουργεί ως δακτυλικό αποτύπωμα κάθε στοιχείου στην ουδέτερη και σε κάθε ιοντική του κατάσταση. Στον Πίνακα 2.1 παρατίθενται επιλεγμένες γραμμές εκπομπής των ατόμων που εμφανίζονται στα φάσματα LIBS που ελήφθησαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας, ενώ στο Σχήμα 2.3 παρουσιάζεται ένα τυπικό φάσμα LIBS, το οποίο καταγράφηκε κατά το σχηματισμό πλάσματος σε περιβάλλον αέρα-αργού.



**Σχήμα 2.3.** Φάσμα LIBS στο οποίο εμφανίζονται γραμμές ατομικής εκπομπής των ατόμων αζώτου, οξυγόνου και αργού.

Στοιγείο	Μήκος κύματος εκπομπής	Ηλεκτρονιακή διαμόρφωση/	Ενέργεια (cm <sup>-1</sup> )	
2101/210	( <b>nm</b> )	Φασματοσκοπικός όρος		
Cu I	324.395	$(3d)^{10}(4p)^1 \rightarrow (3d)^{10}(4s)^1$ $({}^{2}P_{22}) \rightarrow ({}^{2}S_{12})$	30783.69-0.00	
Cu I	327.54	$(3d)^{10}(4p)^{1} \rightarrow (3d)^{10}(4s)^{1}$ $(^{2}P_{1/2}) \rightarrow (^{2}S_{1/2})$	30535.30-0.00	
Ca I	422.673	$(3p)^{6}(4s)^{1}(4p)^{1} \rightarrow (3p)^{6}(4s)^{2}$ $(^{1}P_{1}) \rightarrow (^{1}S_{0})$	23652.30-0.00	
N I	742.364	$\begin{array}{c} (2s)^2 (2p)^2 (3p)^1 \rightarrow (2s)^2 (2p)^2 (3s)^1 \\ ({}^4S_{3/2}) \rightarrow ({}^4P_{1/2}) \end{array}$	96750.84-83284.07	
N I	744.229	$\begin{array}{c} (2s)^2 (2p)^2 (3p)^1 \rightarrow (2s)^2 (2p)^2 (3s)^1 \\ ({}^4S_{3/2}) \rightarrow ({}^4P_{3/2}) \end{array}$	96750.84-83317.83	
NI	746.831	$\begin{array}{c} (2s)^2 (2p)^2 (3p)^1 \rightarrow (2s)^2 (2p)^2 (3s)^1 \\ ({}^4S_{3/2}) \rightarrow ({}^4P_{5/2}) \end{array}$	96750.84-83364.62	
01	777.194	$\begin{array}{c} (2s)^2(2p)^3(3p)^1 {\longrightarrow} (2s)^2(2p)^3(3s)^1 \\ ({}^5S_2) {\rightarrow} ({}^5P_3) \end{array}$	86631.45-73768.20	
01	777.417	$\begin{array}{c} (2s)^2(2p)^3(3p)^1 {\longrightarrow} (2s)^2(2p)^3(3s)^1 \\ ({}^5S_2) {\rightarrow} ({}^5P_2) \end{array}$	86627.78-73768.20	
01	777.539	$(2s)^{2}(2p)^{3}(3p)^{1} \rightarrow (2s)^{2}(2p)^{3}(3s)^{1} (^{5}S_{2}) \rightarrow (^{5}P_{1})$	86625.76-73768.20	
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	$(3s)^2(3p)^5(4p)^1 \rightarrow (3s)^2(3p)^5(4s)^1$	107054.27-93750.60	
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	$(3p)^{6}(4p)^{1} \rightarrow (3p)^{6}(4s)^{1}$ $(^{2}P_{3/2}) \rightarrow (^{2}S_{1/2})$	25414.40-0.00	
Ca II	396.847	$\begin{array}{c} (3p)^{6}(4p)^{1} \to (3p)^{6}(4s)^{1} \\ (^{2}P_{1/2}) \to (^{2}S_{1/2}) \end{array}$	25191.51-0.00	
Ba II	455.403	$(5p)^{6}(6p)^{1} \rightarrow (5p)^{6}(6s)^{1}$ $(^{2}P_{3/2}) \rightarrow (^{2}S_{1/2})$	21952.42-0.00	
Ba II	493.408	$(5p)^6(6p)^1 \to (5p)^6(6s)^1$ $(^2P_{1/2}) \to (^2S_{1/2})$	20261.56-0.00	

**Πίνακας 2.1.** Επιλεγμένες γραμμές ατομικής εκπομπής που εμφανίζονται στα φάσματα LIBS της παρούσας εργασίας [7,8].

#### 2.3.3. Μοριακές ταινίες εκπομπής

Ο σχηματισμός μορίων στο πλάσμα πραγματοποιείται μέσω κρούσεων των ατόμων στο πλάσμα παρουσία τρίτου σώματος (3-body collisions). Όταν η θερμοκρασία του πλάσματος μειωθεί αρκετά, τα μόρια που δημιουργούνται από τις κρούσεις των ατόμων στο πλάσμα δεν επαναδιασπώνται αμέσως [9], αλλά παραμένουν σε ηλεκτρονιακά διεγερμένες καταστάσεις. Όταν το πλάσμα δημιουργείται σε ατμοσφαιρικές συνθήκες, σχηματίζονται διατομικά μόρια όπως τα OH, NH και CN σε διεγερμένες καταστάσεις με αποτέλεσμα την εκπομπή χαρακτηριστικής ακτινοβολίας κατά την αποδιέγερσή τους. Η υφή των ταινιών μοριακής εκπομπής ερμηνεύεται βάσει των μοριακών ηλεκτροδονητικών επιπέδων σε συνδυασμό με τους κανόνες επιλογής μοριακών μεταβάσεων και την αρχή Frank – Condon. Οι σχετικές εντάσεις των κορυφών εκπομπής διέπονται επίσης από την πληθυσμιακή κατανομή Boltzmann. Στο Σχήμα 2.4 παρουσιάζεται τυπικό φάσμα LIBS στο οποίο εμφανίζονται οι ταινίες μοριακής εκπομπής διεγερμένων μορίων CN, ο σχηματισμός των οποίων παρατηρείται όταν στο υπό ανάλυση δείγμα περιέχεται σημαντική ποσότητα ατόμων άνθρακα.



**Σχήμα 2.4.** Φάσμα LIBS υδατικού διαλύματος 1-προπανόλης συγκέντρωσης 1 M, στο οποίο εμφανίζεται η χαρακτηριστική εκπομπή από διεγερμένα μόρια CN  $(B^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Sigma^+)$ .

## 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 την ενέργεια του παλμού λέιζερ, τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού στόχου και το περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος. Οι παράμετροι αυτές ουσιαστικά περιγράφουν το πόσο αποτελεσματικά μεταφέρεται η ενέργεια του παλμού λέιζερ στο υλικό/στόχο και κατ' επέκταση στο σχηματιζόμενο πλάσμα.

#### 2.4.1. Μήκος κύματος ακτινοβολίας

Το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ επιδρά στο μηχανισμό δημιουργίας του πλάσματος καθώς επηρεάζει τις διεργασίες πολυφωτονικού ιοντισμού και την ανάπτυξη του μηχανισμού της χιονοστιβάδας. Η χρήση πηγών λέιζερ στο υπεριώδες (UV) αυξάνει σημαντικά την αποτελεσματικότητα των διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού, καθώς ο ιοντισμός του δείγματος επιτυγχάνεται με απορρόφηση μικρότερου αριθμού φωτονίων (βλ. 2.2.2). Η επίδραση του μήκους κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ στο μηχανισμό ζιονοστιβάδας, περιγράφεται μέσω του συντελεστή απορρόφησης της αντίστροφης διεργασίας Bremsstrahlung (α<sub>IB</sub>):

$$\alpha_{IB} = \left(QN_eN_0 + \frac{4Z^2e^6\lambda^3}{3hc^4m_e}N_iN_e\left(\frac{2\pi}{3m_ek_BT_e}\right)^{1/2}\right) \times \left(1 - \exp\left(-\frac{hc}{\lambda k_BT_e}\right)\right) \quad (2.7)$$

όπου Q είναι η ενεργός διατομή της διεργασίας απορρόφησης ενός φωτονίου από το ηλεκτρόνιο κατά τη διάρκεια της κρούσης με ένα άτομο, N<sub>0</sub>, N<sub>i</sub> και N<sub>e</sub> η αριθμητική πυκνότητα των ουδετέρων ατόμων, των ατομικών ιόντων και ηλεκτρονίων αντίστοιχα, λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ, m<sub>e</sub> η μάζα του ηλεκτρονίου, e το στοιχειώδες φορτίο, Z ο αριθμός φορτίων του ιόντος, h η σταθερά του Planck, k<sub>B</sub> η σταθερά του Boltzmann και T<sub>e</sub> η θερμοκρασία των ηλεκτρονίων. Ο πρώτος όρος της εξίσωσης 2.7 εκφράζει την πιθανότητα απορρόφησης της ακτινοβολίας από τα ηλεκτρόνια που βρίσκονται στο ηλεκτρικό πεδίο των ουδετέρων ατόμων και των ατομικών ιόντων στο πλάσμα, ενώ ο δεύτερος όρος αναφέρεται στην εκπομπή που επάγεται από την παρουσία της ακτινοβολίας λέιζερ.

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 2.7 εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αντίστροφη διεργασία Bremsstrahlung ευνοείται όταν το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ ευρίσκεται στην φασματική περιοχή του υπερύθρου σε σχέση με το ορατό και το υπεριώδες [6, 10].

#### 2.4.2. Ενέργεια ακτινοβόλησης

Η ενέργεια του παλμού λέιζερ αποτελεί μία από τις σημαντικότερες παραμέτρους που υπεισέρχονται στις μετρήσεις LIBS, καθώς έχει επίδραση στη μάζα του υλικού που θα μεταβεί σε κατάσταση πλάσματος και ακολούθως στη θερμοκρασία και στην ηλεκτρονιακή πυκνότητα του πλάσματος. Ο σχηματισμός πλάσματος σε ένα υλικό είναι εφικτός μόνο όταν η ροή οπτικής ισχύος υπερβεί μια τιμή κατωφλίου, η οποία εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού. Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται τυπικές τιμές του κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος στον αέρα, αλλά και σε αργό για διαφορετικές τιμές του μήκους κύματος και της χρονικής διάρκειας του παλμού λέιζερ [6].

Τύπος λέιζερ	Μήκος κύματος (nm)	Διάρκεια παλμού (ns)	Περιβάλλον δημιουργίας πλάσματος	Κατώφλι δημιουργίας πλάσματος (W/cm²)
Nd:YAG	1064	10	Αέρας	$8.2 \times 10^{10}$
Nd:YAG	1064	8	Αέρας	$2 \times 10^{10}$
Nd:YAG	355	15	Αργό	3×10 <sup>10</sup>
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	$0.97 \times 10^{10}$

**Πίνακας 2.2.** Τιμές ροής ισχύος κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος για διαφορετικά μήκη κύματος λέιζερ [6,12].

Όταν ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον αέρα έχει παρατηρηθεί ότι η περιοχή σχηματισμού πλάσματος μετατοπίζεται κατά μήκος του άξονα εστίασης όταν μεταβάλλεται η τιμή ενέργειας του παλμού λέιζερ. Σε συνθήκες κατωφλίου, ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα στην εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού καθώς τότε η ροή οπτικής ισχύος λαμβάνει τη μέγιστη τιμή, η οποία ισούται με την τιμή κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος. Αύξηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί σε αύξηση της ροής οπτικής ισχύος καθ' όλη την πορεία της δέσμης προς την εστιακή περιοχή του φακού με αποτέλεσμα να παρατηρείται ο σχηματισμός πλάσματος προοδευτικά πριν την εστιακή περιοχή καθώς ικανοποιείται η συνθήκη κατωφλίου. Στο Σχήμα 2.5 παρουσιάζεται ποιοτική σχηματική αναπαράσταση της εστίασης της δέσμης λέιζερ από τον συγκεντρωτικό φακό, και λεπτομέρεια της θέσης της περιοχής σχηματισμού πλάσματος για διάφορα επίπεδα της ροής οπτικής ισχύος [11].



**Σχήμα 2.5.** Σχηματική αναπαράσταση της πορείας εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ και της περιοχής σχηματισμού πλάσματος για διαφορετική ενέργεια του παλμού λέιζερ [11].

#### 2.4.3. Διάρκεια παλμού

Η χρονική διάρκεια του παλμού λέιζερ επηρεάζει σημαντικά το μηχανισμό σχηματισμού του πλάσματος καθώς προσδιορίζει τη χρονική διάρκεια της αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας λέιζερ με το στόχο. Η χρήση υπερβραχέων παλμών λέιζερ, τ<sub>Pulse</sub> < 1 ns, οδηγεί στο σχηματισμό πλάσματος κυρίως μέσω διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού, καθώς η ροή οπτικής ισχύος είναι αρκετά υψηλή με αποτέλεσμα να ενισχύονται τα μη

γραμμικά φαινόμενα. Το σύστημα (στερεό υλικό) μεταβαίνει απευθείας στην κατάσταση πλάσματος χωρίς να διέλθει από τις ενδιάμεσες θερμοδυναμικές καταστάσεις, με αποτέλεσμα να υπάρχει μικρότερη διάχυση ενέργειας.

Στην περίπτωση που ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται με χρήση βραχέων παλμών λέιζερ, τ<sub>Pulse</sub> ~ 10 ns, υπάρχει συνεισφορά τόσο του πολυφωτονικού ιοντισμού όσο και του ιοντισμού χιονοστιβάδας. Αυτό συμβαίνει διότι ο χρόνος αλληλεπίδρασης της ακτινοβολίας λέιζερ με τα ηλεκτρόνια είναι σημαντικός, οπότε η ενέργεια που μεταφέρεται από τον παλμό λέιζερ στα ηλεκτρόνια προλαβαίνει να διαχυθεί στο σύστημα (πλέγμα) εντός του χρονικού διαστήματος κατά το οποίο είναι παρών ο παλμός λέιζερ. Κατ' αυτόν τον τρόπο αναπτύσσονται θερμικά φαινόμενα, οπότε το σύστημα διέρχεται από όλες τις θερμοδυναμικές καταστάσεις έως ότου φτάσει στην κατάσταση πλάσματος. Όταν η χρονική διάρκεια της ακτινοβολίας λέιζερ είναι της τάξης των τ<sub>Pulse</sub> > 100 ns ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται κυρίως μέσω του μηχανισμού της χιονοστιβάδας, καθώς η ροή οπτικής ισχύος δεν ευνοεί την ανάπτυξη διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού.

#### 2.4.4. Φυσικοχημικές ιδιότητες υλικού στόχου

Η απορρόφηση ακτινοβολίας αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο της διαδικασίας δημιουργίας του πλάσματος. Ο μηχανισμός απορρόφησης της ακτινοβολίας λέιζερ από το υλικό εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του υλικού στόχου. Η ικανότητα απορρόφησης ακτινοβολίας από ένα υλικό περιγράφεται από το νόμο των Beer- Lambert:

$$A_{\lambda} = \alpha_{\lambda} b \qquad (2.8)$$

όπου το Α<sub>λ</sub> εκφράζει την τιμή της απορροφητικότητας ακτινοβολίας μήκους κύματος λ, α<sub>λ</sub> (cm<sup>-1</sup>) είναι ο συντελεστής μονοφωτονικής απορροφητικότητας ακτινοβολίας μήκους κύματος λ από το υλικό και b (cm) το μήκος της οπτικής διαδρομής. Ο συντελεστής α<sub>λ</sub> 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 α<sub>λ</sub> είναι της τάξης του 10<sup>4</sup> ή υψηλότερος. Όταν το σύνολο της ενέργειας του παλμού λέιζερ κατανέμεται σε μικρό όγκο του υλικού, επιτυγχάνεται χαμηλότερη τιμή κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος, η οποία κατ' επέκταση οδηγεί σε αύξηση της διαθέσιμης ενέργειας για τη θέρμανση και τον ιοντισμό του υλικού και τη δημιουργία πλάσματος.

#### 2.4.5. Περιβάλλον δημιουργίας του πλάσματος

Ο όρος "περιβάλλον δημιουργίας" αναφέρεται συνήθως στο μέσο το οποίο περιβάλλει την περιοχή σχηματισμού πλάσματος. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται υπό ατμοσφαιρικές συνθήκες οπότε το μέσο το οποίο περιβάλλει την περιοχή σχηματισμού πλάσματος είναι ο εργαστηριακός αέρας. Τα στοιχεία που περιέχονται στο περιβάλλον σχηματισμού πλάσματος αποτελούν συστατικά του σχηματιζόμενου πλάσματος με αποτέλεσμα να υπάρχει επίδραση στις διεργασίες σχηματισμού, εκτόνωσης και ψύξης του πλάσματος και κατά συνέπεια στο καταγραφόμενο φάσμα LIBS.

Πιο συγκεκριμένα, όταν ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα στον αέρα η παρουσία ατόμων/μορίων με χαμηλό δυναμικό ιοντισμού οδηγεί σε μείωση της τιμής του κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος, ενώ ταυτόχρονα οδηγεί σε αύξηση του χρόνου παραμονής του πλάσματος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η παρουσία αργού στο περιβάλλον σχηματισμού πλάσματος, καθώς στις συνθήκες αυτές το πλάσμα παρουσιάζει υψηλότερη θερμοκρασία και ηλεκτρονιακή πυκνότητα, ενώ ο χρόνος παραμονής είναι σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με πλάσμα που δημιουργείται αμιγώς σε περιβάλλον ατμοσφαιρικού αέρα. Αυτό συμβαίνει διότι το αργό παρουσιάζει μικρότερη ενέργεια ιοντισμού σε σχέση με το ατομικό οξυγόνο και το άζωτο, ενώ ταυτόχρονα εμφανίζει μικρότερη θερμική αγωγιμότητα, η οποία δυσχεραίνει τη διάχυση της ενέργειας του πλάσματος προς το περιβάλλον.

Όσον αφορά την επίδραση στο καταγραφόμενο φάσμα LIBS, η αύξηση της θερμοκρασίας του πλάσματος οδηγεί σε αύξηση της έντασης των γραμμών ατομικής εκπομπής (βλ. 2.5.1.), ενώ η αύξηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας έχει επίδραση στην ένταση της εκπομπής από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια και παράλληλα οδηγεί σε αύξηση της διαπλάτυνσης των φασματικών γραμμών λόγω φαινομένου Stark (βλ. 2.6.3.).

#### 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. Το πλάσμα που χρησιμοποιείται στην τεχνική LIBS δημιουργείται σε μία πολύ μικρή περιοχή του χώρου με τυπικό όγκο της τάξης του 1 mm<sup>3</sup>, ενώ ο χρόνος ζωής του είναι μικρότερος των 100 μs. Ο χαρακτηρισμός του πλάσματος εστιάζεται στον προσδιορισμό κυρίως δύο ποσοτήτων, της θερμοκρασίας και της ηλεκτρονιακής πυκνότητας, υπό την

προϋπόθεση ότι το πλάσμα στο σύνολό του βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας.

#### 2.5.1. Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία

Η συνθήκη της τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας (Local Thermodynamic Equilibrium, LTE) προβλέπει ότι υπάρχει μια δεδομένη κατάσταση ισορροπίας σε μια μικρή περιοχή του χώρου (στο πλάσμα), η οποία μπορεί να διαφέρει από την αντίστοιχη κατάσταση σε μια γειτονική περιοχή. Η τοπική θερμοδυναμική ισορροπία αποκαθίσταται μετά από έναν αριθμό συγκρούσεων των σωματιδίων του πλάσματος (κυρίως των ηλεκτρονίων με τα υπόλοιπα άτομα/μόρια), η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ομοιόμορφη κατανομή της ενέργειας σε όλον τον όγκο του πλάσματος. Να σημειωθεί ότι είδη με διαφορετική μάζα έρχονται σε κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας μετά από διαφορετικά χρονικά διαστήματα, διότι η ενέργεια που μεταφέρεται κατά τη σύγκρουση των διαφόρων ειδών κατανέμεται αποτελεσματικότερα όταν αυτά έχουν παραπλήσιες μάζες [13]. Γίνεται αντιληπτό ότι τα διαφορετικά είδη στο πλάσμα (ηλεκτρόνια, ατομικά ιόντα, ουδέτερα άτομα) έχουν διαφορετική θερμοκρασία έως ότου το πλάσμα μεταβεί στην κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας μεταβεί στην κατάσταση τοπικής

Όταν ικανοποιείται η συνθήκη LTE, 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 περιοχή τιμών ταχυτήτων των ηλεκτρονίων στο πλάσμα περιγράφεται από την κατανομή ταχυτήτων κατά Maxwell:

$$f(\upsilon) = 4\pi\upsilon^2 \left( m / 2\pi k_B T \right)^{3/2} \exp\left( -m\upsilon^2 / 2k_B T \right)$$
(2.9)

όπου m είναι η μάζα του ηλεκτρονίου, υ το μέτρο της ταχύτητας, T η θερμοκρασία και k<sub>B</sub> η σταθερά Boltzmann. Η κατανομή του πληθυσμού των ατόμων στα διάφορα ενεργειακά επίπεδα περιγράφεται από την κατανομή Boltzmann:

$$N_{k} = \frac{g_{k}e^{-E_{k}/k_{B}T}}{U(T)}N , \text{ όπου } U(T) = \sum g_{k}e^{-E_{k}/k_{B}T}$$
(2.10)

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:

$$\frac{N_e N^{II}}{N^I} = \frac{2U^{II}(T)}{U^I(T)} \left(\frac{2\pi m_e k_B T}{h^2}\right)^{3/2} e^{-\frac{E_w^I - \Delta E_w^I}{k_B T}}$$
(2.11)

όπου  $E_{\infty}^{I}$  η ενέργεια ιοντισμού του ατόμου,  $\Delta E_{\infty}^{I}$  η διόρθωση της ενέργειας ιοντισμού βάσει των αλληλεπιδράσεων στο πλάσμα, U(T) η συνάρτηση επιμερισμού, k<sub>B</sub> η σταθερά

Boltzmann και Τ η θερμοκρασία. Οι εκθέτες Ι και ΙΙ αντιπροσωπεύουν τα ουδέτερα άτομα και τα ατομικά ιόντα αντίστοιχα.

Γίνεται αντιληπτό ότι όταν το πλάσμα ευρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας, για τον πλήρη χαρακτηρισμό του απαιτείται η θερμοκρασία (T), η ηλεκτρονιακή πυκνότητα (N<sub>e</sub>) και η συνολική πυκνότητα (N<sub>Total</sub>) κάθε είδους στο πλάσμα.

#### 2.5.2. Ηλεκτρονιακή πυκνότητα

Η τιμή της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πλάσματος είναι ιδιαίτερης σημασίας, καθώς τα ελεύθερα ηλεκτρόνια είναι οι κύριοι φορείς της ενέργειας προς τα άτομα και τα μόρια που ευρίσκονται στο πλάσμα. Η ανάπτυξη της κατάστασης τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας στο πλάσμα προϋποθέτει ότι οι διεργασίες μεταφοράς ενέργειας μέσω κρούσεων υπερισχύουν, δηλαδή είναι κατ' ελάχιστο μία τάξη μεγέθους ταχύτερες, των διεργασιών εκπομπής φωτός. Η εξίσωση McWhirter επιτρέπει τον υπολογισμό της τιμής της ελάχιστης ηλεκτρονιακής πυκνότητας ( $N_e \geq 10^{15}$ ) πλάσματος θερμοκρασίας Τ, ώστε να υπάρχει ισορροπία μεταξύ δυο καταστάσεων που έχουν ενεργειακή διαφορά ΔΕ:

$$N_e \ge 1.6 \times 10^{12} T^{1/2} \left(\Delta E\right)^3 cm^{-3}$$
 (2.12).

#### 2.5.3. Προσδιορισμός της θερμοκρασίας

Ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας του πλάσματος είναι εφικτός μόνο όταν το πλάσμα ευρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας. Η ένταση μιας φασματικής γραμμής εκπομπής ( $I_{\lambda}$ ) προερχόμενης από την κβαντική κατάσταση k σχετίζεται με τον πληθυσμό ( $N_k$ ) των ατόμων που βρίσκονται στην κατάσταση αυτή και την ενέργεια  $E_k$  μέσω της κατανομής Boltzmann [15]:

$$\lambda I_{\lambda} = F_{exp} N \left( \frac{A_{ki} g_k}{U(T)} \right) exp \left( -\frac{E_k}{k_b T} \right)$$
 (2.13)

όπου λ είναι το μήκος κύματος της γραμμής εκπομπής,  $A_{ki}$  είναι ο συντελεστής Einstein για τη μετάβαση από την κατάσταση k στην i,  $g_k$  είναι ο εκφυλισμός της κατάστασης,  $E_k$  είναι η ενέργεια του άνω επιπέδου της μετάβασης, U(T) είναι η συνάρτηση επιμερισμού, N είναι ο συνολικός πληθυσμός των ειδών (ουδέτερα άτομα, ατομικά ιόντα) ενός στοιχείου που βρίσκονται σε δεδομένη κατάσταση ιοντισμού και T είναι η θερμοκρασία του πλάσματος. Ο παράγοντας  $F_{exp}$  εξαρτάται από το σύστημα ανίχνευσης και τη γωνία απεικόνισης του πλάσματος. Με λογαρίθμηση της Εξίσωσης 2.13 προκύπτει η Εξίσωση 2.14 μέσω της οποίας πραγματοποιείται ο υπολογισμός της θερμοκρασίας του πλάσματος.

$$\ln(\frac{\lambda I_{\lambda}}{A_{ik}g_{k}}) = -\frac{E_{k}}{Tk_{b}} + \ln(\frac{F_{exp}N}{U(t)})$$
(2.14)

Η Εξίσωση 2.14 περιγράφει μια ευθεία τύπου y = ax+b, όπου y =  $\ln(\lambda I_{\lambda}/A_{ik}g_k)$ , α = -(Tk<sub>B</sub>)<sup>-1</sup>, x = E<sub>k</sub> και b =  $\ln(F_{exp}N/U(T))$ . Για τον προσδιορισμό της θερμοκρασίας απαιτείται η μέτρηση των σχετικών εντάσεων των γραμμών εκπομπής που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS και κατάρτιση του διαγράμματος Boltzmann (x,y). Η ακρίβεια της μεθόδου επηρεάζεται από το εύρος που καλύπτουν τα ενεργειακά επίπεδα (E<sub>k</sub>). 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 [16].

Η μέτρηση της θερμοκρασίας μπορεί να πραγματοποιηθεί λαμβάνοντας υπ' όψη και τις γραμμές εκπομπής των ατομικών ιόντων που σχηματίζονται στο πλάσμα. Από το συνδυασμό της Εξίσωσης 2.11 με την 2.13 προκύπτει η Εξίσωση 2.15:

$$\lambda I_{\lambda}^{II} = A_{ki}^{II} g_{k}^{II} e^{-\left(\frac{E_{k}^{II}}{k_{B}T}\right)} 2F_{\exp} \frac{N^{I}}{N_{e}} \frac{\left(2\pi m_{e} k_{B}T\right)^{3/2}}{U^{I}(T)h^{3}} e^{-\left(\frac{E_{ion}}{k_{B}T}\right)}$$
(2.15)

Με λογαρίθμιση της Εξίσωσης 2.15 και αναδιάταξη των όρων προκύπτει η Εξίσωση 2.16, μέσω της οποίας γίνεται ο προσδιορισμός της θερμοκρασίας όπως περιγράφηκε και προηγουμένως.

$$\ln\left(\frac{\lambda I_{\lambda}^{II}}{A_{ki}^{II}g_{k}^{II}}\right) - \ln\left(2\frac{\left(2\pi m_{e}k_{B}T\right)^{3/2}}{N_{e}h^{3}}\right) = \ln\left(\frac{F_{exp}N^{I}}{U^{I}(T)}\right) - \left(\frac{E_{k}^{II} + E_{ion}}{k_{B}T}\right) \quad (2.16)$$

Με αυτήν την προσέγγιση ο υπολογισμός της θερμοκρασίας απαιτεί μια αρχική εκτίμηση της τιμής της καθώς η θερμοκρασία εμφανίζεται και στα δύο μέλη της εξίσωσης 2.16. Η εκτιμώμενη τιμή της θερμοκρασίας λαμβάνεται υπ' όψη μόνο στο αριστερό τμήμα της εξίσωσης 2.16 και κατόπιν ακολουθείται η διαδικασία κατάρτισης του διαγράμματος Saha – Boltzmann, από το οποίο υπολογίζεται η θερμοκρασία του πλάσματος. Δεδομένου ότι η τιμή που προσδιορίζεται έχει εξάρτηση από την εκτιμώμενη τιμή, η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου υπάρξει σύγκλιση μεταξύ των δύο τιμών.

#### 2.6. Προφίλ ατομικών γραμμών εκπομπής

Οι ατομικές γραμμές εκπομπής αντιστοιχούν σε μεταβάσεις μεταξύ δύο καλά καθορισμένων ενεργειακών επιπέδων των ατόμων, οπότε αναμένεται το εύρος τους να είναι απειροστά μικρό. Στην πραγματικότητα οι ατομικές γραμμές παρουσιάζουν φυσική διαπλάτυνση, η οποία ερμηνεύεται από την αδυναμία ακριβούς επίλυσης της χρονοεξαρτημένης εξίσωσης Schrödinger, για ένα σύστημα το οποίο μεταβάλλεται με το

χρόνο. Μια γραμμή ατομικής εκπομπής που υπόκειται μόνο σε φυσική διαπλάτυνση έχει συμμετρικό προφίλ Lorentzian ( $I(\omega) = \gamma/2\pi[(\omega-\omega_0)^2+(\gamma/2)^2]^{-1}$ ,  $\gamma=1/\tau$ ). Οι κυριότεροι μηχανισμοί διαπλάτυνσης των φασματικών γραμμών στο πλάσμα είναι το φαινόμενο Doppler και το φαινόμενο Stark. Το προφίλ των ατομικών γραμμών εκπομπής στο πλάσμα μεταβάλλεται με τη θερμοκρασία και την ηλεκτρονιακή πυκνότητα αυτού.

#### 2.6.1. Φυσική διαπλάτυνση

Η φυσική διαπλάτυνση των γραμμών ατομικής εκπομπής οφείλεται στο γεγονός ότι κάθε ηλεκτρονιακή κατάσταση έχει ένα πεπερασμένο χρόνο ζωής, σύμφωνα με την αρχή απροσδιοριστίας του Heisenberg ( $\Delta E \cdot \Delta t \ge \hbar$ ). Αυτός ο πεπερασμένος χρόνος ζωής της κατάστασης δημιουργεί απροσδιοριστία στην ενέργεια της κατάστασης που έχει ως αποτέλεσμα ένα πεπερασμένο φασματικό εύρος 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 [17].

#### Ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής

Ο ρυθμός αυθόρμητης εκπομπής (A<sub>21</sub>: συντελεστής Einstein για την αυθόρμητη εκπομπή) είναι ένα σταθερό φυσικό όριο, το οποίο καθορίζει το χρόνο ζωής (τ) της διεγερμένης κατάστασης. Η διαπλάτυνση που υφίσταται μία φασματική γραμμή στο ορατό λόγω του πεπερασμένου χρόνου ζωής της διεγερμένης κατάστασης είναι της τάξης των 10<sup>-3</sup> nm όπως υπολογίζεται από την εξίσωση 2.17:

$$\delta v (cm^{-1}) = \frac{5.31}{\tau (ps)}$$
 (2.17)

#### Αποδιέγερση με κρούσεις

Η κρούση δύο ατόμων, είναι ικανή να αποσταθεροποιήσει το άτομο που βρίσκεται σε διεγερμένη κατάσταση με αποτέλεσμα να μειώνεται ο χρόνος ζωής της διεγερμένης κατάστασης. Όταν ο χρόνος μεταξύ των κρούσεων είναι μικρότερος από το χρόνο ζωής της κατάστασης, η αποδιέγερση λαμβάνει χώρα ταχύτερα, οπότε σύμφωνα με την εξίσωση 2.17 αυξάνεται το φασματικό εύρος της γραμμής. Ο αριθμός κρούσεων για ένα ιδανικό αέριο δίνεται από τη σχέση:

$$z(s^{-1}) = \frac{\sqrt{2\sigma uP}}{k_B T}$$
 (2.18),

όπου σείναι η ενεργός διατομή κρούσης, u η ταχύτητα του σωματιδίου και P η πίεση του αερίου. Ο χρόνος μεταξύ των κρούσεων είναι το αντίστροφο του ρυθμού κρούσεων  $\tau_c = 1/z$ .

#### 2.6.2. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Doppler

Το φαινόμενο Doppler είναι η μεταβολή του μήκους ενός κύματος (ή της συχνότητας) που αντιλαμβάνεται ένας παρατηρητής όταν η πηγή εκπομπής του βρίσκεται σε σχετική κίνηση ως προς τον παρατηρητή και το αντίστροφο (v  $\approx$  v<sub>0</sub>(1/[1± (u/c)], u << c). Ισχύει τόσο για μηχανικά κύματα (π.χ. ηχητικά) όσο και για ηλεκτρομαγνητικά, δηλαδή το φως. Όπως γνωρίζουμε από την κατανομή ταχυτήτων κατά Maxwell, οι ταχύτητες των ατόμων/μορίων αερίου εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Άρα εξάγεται το συμπέρασμα ότι και το φαινόμενο Doppler εξαρτάται από τη θερμοκρασία σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\delta \lambda = 7.2 \times 10^{-7} \lambda (T(K) / M(amu))^{1/2}$$
 (2.19)

Όπου δλ το εύρος της κορυφής στο ήμισυ του μεγίστου (FWHM), λ το μήκος κύματος της μετάβασης, Τ η θερμοκρασία και Μ η σχετική μάζα του ατόμου/μορίου [6].

#### 2.6.3. Διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark

Η παρουσία των ελευθέρων ηλεκτρονίων και των ατομικών ιόντων στο πλάσμα δημιουργεί ηλεκτροστατικές 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 προφίλ μιας γραμμής που υφίσταται διαπλάτυνση Stark εξακολουθεί να περιγράφεται από τη συνάρτηση Lorentz, και το εύρος της γραμμής στο ήμισυ του μεγίστου δίνεται από τη σχέση:

$$\Delta\lambda_{\text{stark}} = 2W\left(\frac{N_e}{10^{16}}\right) + 3.5A\left(\frac{N_e}{10^{16}}\right)^{1/4} \times \left(1 - \frac{3}{4}N_D^{-\frac{1}{3}}\right)W\left(\frac{N_e}{10^{16}}\right)A^o \quad (2.20)$$

όπου W είναι η παράμετρος της κρούσης των ηλεκτρονίων, της οποίας οι τιμές εξαρτώνται από τη θερμοκρασία, N<sub>e</sub> η ηλεκτρονιακή πυκνότητα, A η παράμετρος ιοντικής διαπλάτυνσης και N<sub>D</sub> ο αριθμός σωματιδίων στην σφαίρα Debye, ο οποίος δίνεται από τη σχέση:, όπου T είναι η θερμοκρασία:

$$N_D = 1.72 \times 10^9 \frac{T^{3/2}}{N_e^{1/2}} \quad (2.21)$$

Ο πρώτος όρος της εξίσωσης 2.20 εκφράζει τη διαπλάτυνση που οφείλεται στην ηλεκτρονιακή συνεισφορά, ενώ ο δεύτερος όρος περιγράφει τη διαπλάτυνση που οφείλεται στη συνεισφορά των ιόντων. Για μη υδρογονοειδή άτομα η διαπλάτυνση Stark οφείλεται κυρίως στις κρούσεις με ηλεκτρόνια. Εάν διατηρήσουμε μόνο τον πρώτο όρο της εξίσωσης,

δηλαδή τη συνεισφορά των ηλεκτρονίων, η διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark μετρούμενη στο FWHM της φασματικής γραμμής υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\Delta \lambda_{FWHM} = 2W \left(\frac{N_e}{10^{16}}\right) (2.22)$$

Το φαινόμενο Stark αποτελεί τον κύριο μηχανισμό διαπλάτυνσης των ατομικών γραμμών εκπομπής που εμφανίζονται σε ένα τυπικό φάσμα LIBS λόγω της υψηλής ηλεκτρονιακής πυκνότητας (N<sub>e</sub> ~  $10^{17}$ /cm<sup>3</sup>) 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 θερμοκρασία T = 10000 K και ηλεκτρονιακή πυκνότητα N<sub>e</sub> =  $10^{17}$  /cm<sup>3</sup>. Παρατηρείται ότι η διαπλάτυνση λόγω φαινομένου Stark μιας ατομικής γραμμής εκπομπής είναι περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από την διαπλάτυνση λόγω 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 K και ηλεκτρονιακή πυκνότητα  $N_e = 10^{17}$  /cm<sup>3</sup> [6].

Στοιχείο	Μήκος κύματος (nm)	Σχετική 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 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<sub>α</sub>) και η γραμμή στα 486.133 nm (H<sub>β</sub>) [18].

#### 2.7. Η φασματοσκοπία LIBS ως αναλυτική τεχνική

Η φασματοσκοπία LIBS παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση ενός δείγματος το οποίο μπορεί να ευρίσκεται σε οποιαδήποτε κατάσταση της ύλης. Οι πληροφορίες παρέχονται από ένα μικροπλάσμα που δημιουργείται στην επιφάνεια του υλικού στόχου ως αποτέλεσμα της εστίασης ακτινοβολίας από παλμικό λέιζερ. Η τεχνική LIBS πλεονεκτεί σημαντικά έναντι των ευρέως χρησιμοποιουμένων τεχνικών προσδιορισμού της στοιχειακής σύστασης, όπως η φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS), επειδή δεν απαιτεί προ-επεξεργασία του δείγματος παρά μόνο οπτική επαφή με αυτό. Η στοιχειακή σύσταση προσδιορίζεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή του υλικού, διαμέτρου μερικών μικρομέτρων, επιτρέποντας τη διεξαγωγή χωρικής και διαστρωματικής ανάλυσης. Η εξαγωγή του αποτελέσματος των μετρήσεων είναι άμεση και σε συνδυασμό με την υψηλή ευαισθησία και τη δυνατότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης 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 [19]. Η τεχνική βρίσκει εφαρμογές στην ποιοτική και ποσοτική στοιχειακή ανάλυση σε διαφορετικού τύπου υλικά (στερεά, υγρά ή αέρια).

#### 2.7.1. Ποιοτική ανάλυση

Η ποιοτική ανάλυση αναφέρεται στον προσδιορισμό της στοιχειακής σύστασης του μελετώμενου δείγματος, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της ταυτοποίησης των ατομικών γραμμών εκπομπής που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS. Είναι γνωστό ότι το φάσμα ατομικής εκπομπής αποτελεί το δακτυλικό αποτύπωμα κάθε στοιχείου. Η αναγνώριση των στοιχείων, στα οποία αντιστοιχούν οι γραμμές εκπομπής που εμφανίζονται στο φάσμα LIBS, επιτυγχάνεται μέσω της σύγκρισης των τιμών του μήκους κύματος και της σχετικής έντασης αυτών με τις τιμές που παρατίθενται σε βάσεις δεδομένων [7,8], είτε μέσω της σύγκρισης με πρότυπα φάσματα LIBS των στοιχείων.

#### 2.7.2. Ποσοτική ανάλυση

Η τεχνική LIBS επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης των επιμέρους συστατικών του δείγματος. Για την διεξαγωγή ποσοτικής ανάλυσης είναι απαραίτητη η καταγραφή της τιμής της έντασης των ατομικών γραμμών εκπομπής των στοιχείων που μελετώνται, η οποία σύμφωνα με την κατανομή Boltzmann είναι ανάλογη του πληθυσμού των ατόμων που εκτελούν τη μετάβαση, ο οποίος κατ' επέκταση είναι ανάλογος του συνολικού πληθυσμού αυτών στο πλάσμα. Η ποσοτική ανάλυση μπορεί να επιτευχθεί με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς και με τη μέθοδο ελευθέρας βαθμονόμησης. Για τη διεξαγωγή ποσοτικής ανάλυσης με την τεχνική LIBS θα πρέπει να πληρούνται οι εξής προϋποθέσεις: α) το πλάσμα πρέπει να βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας, β) να πραγματοποιείται στοιχειομετρική αποδόμηση του υλικού και γ) το σχηματιζόμενο πλάσμα να είναι οπτικά λεπτό.

#### Τοπική θερμοδυναμική ισορροπία

Η ικανοποίηση της συνθήκης της τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας (βλ. 2.5.1) είναι αναγκαία καθώς μόνο τότε οι εντάσεις των φασματικών γραμμών κάθε στοιχείου είναι αντιπροσωπευτικές της αριθμητικής πυκνότητας αυτού στο πλάσμα.

#### 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, όταν η ροή οπτικής ισχύος στο στόχο υπερβαίνει τα 10<sup>9</sup> W/cm<sup>2</sup>, τιμή η οποία όντως επιτυγχάνεται σε ένα τυπικό πείραμα LIBS [20].

#### Οπτικά λεπτό πλάσμα

Ο όρος οπτικά λεπτό πλάσμα αναφέρεται στην ύπαρξη μίας κατάστασης του πλάσματος στην οποία η ακτινοβολία που εκπέμπεται από τα άτομα που βρίσκονται στο κέντρο του πλάσματος δεν επαναπορροφάται από τα άτομα που βρίσκονται σε εξωτερικό φλοιό μέσω της αντίστροφης μετάβασης. Η κατάσταση αυτή επιτυγχάνεται όταν η συγκέντρωση των ατόμων στο πλάσμα είναι αρκετά μικρή, είτε όταν ο πληθυσμός των ατόμων, στο επίπεδο στο οποίο καταλήγει η μετάβαση, είναι μικρός. Το φαινόμενο της αυτοαπορρόφης έχει σημαντική επίδραση στην ένταση μιας φασματικής γραμμής όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.6.



Σχήμα 2.6. Φασματικό προφίλ της έντασης της εκπομπής από τον πυρήνα του πλάσματος, της απορρόφησης από εξωτερικό φλοιό του πλάσματος και το ολικό αποτέλεσμα που καταγράφεται στο φάσμα LIBS [21].

Η διεργασία της αυτοαπορρόφησης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της έντασης των φασματικών γραμμών και, κατά συνέπεια, τη μη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της καταγραφόμενης τιμής της έντασης και της αριθμητικής πυκνότητας των ατόμων στο πλάσμα. Τα φαινόμενα αυτοαπορρόφησης είναι έντονα στην περίπτωση μεταβάσεων που

καταλήγουν στο θεμελιώδες ενεργειακό επίπεδο των ατόμων ή των ατομικών ιόντων και μεταβάσεων συντονισμού.

#### 2.7.3. Μέθοδος καμπύλης αναφοράς

Η καμπύλη αναφοράς αντικατοπτρίζει τη συνάρτηση που συσχετίζει την ένταση του μετρούμενου σήματος του αναλύτη με τη συγκέντρωσή αυτού στο δείγμα. Στην ιδανική περίπτωση καμπύλης αναφοράς το μετρούμενο σήμα (Imeas) είναι ευθέως ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη (Can) δηλαδή Imeas ~ Can, οπότε η μαθηματική καμπύλη που περιγράφει την αναλογία αυτή είναι ευθεία του τύπου y = αx, όπου α συντελεστής αναλογίας. Η τιμή του α (κλίση της ευθείας), αποτελεί δείκτη της ευαισθησίας της ακολουθούμενης μεθοδολογίας. Η κατάρτιση μίας καμπύλης αναφοράς πραγματοποιείται μέσω της καταγραφής της έντασης στο μέγιστο ή του εμβαδού (ολοκληρωμένης ένασης) μιας φασματικής γραμμής εκπομπής του αναλύτη κατά τη μέτρηση πρότυπων διαλυμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων. Στην ιδανική περίπτωση η ένταση της εκπομπής ακολουθεί την αναλογία σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων, αν και όπως διαπιστώνεται στην πραγματικότητα μια καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά σε περιορισμένο εύρος συγκεντρώσεων. Η απόκλιση από την ιδανική συμπεριφορά οφείλεται κυρίως στο φαινόμενο της αυτοαπορρόφησης.

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, o λογάριθμος της εξίσωσης έχει τη μορφή log(y)=log(x)+log(a), και περιγράφει μία ευθεία γραμμή με κλίση 1 στη λογαριθμική κλίμακα.

Στο Σχήμα 2.7 παρουσιάζεται καμπύλη αναφοράς για την ανάλυση υδατικών διαλυμάτων ιόντων ασβεστίου, όπου η ανάλυση LIBS πραγματοποιείται απευθείας στην επιφάνεια του υγρού, η κατάρτιση της οποίας πραγματοποιήθηκε μέσω της καταγραφής της έντασης της γραμμής εκπομπής του ασβεστίου στα 393.366 nm. Η ένταση της εκπομπής έχει κανονικοποιηθεί με βάση την τρίτη γραμμή της σειράς Balmer του υδρογόνου στα 434.047 nm. Παρατηρείται ότι η καμπύλη αναφοράς δεν ακολουθεί την ιδανική συμπεριφορά σε όλο το μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων. Η απόκλιση από τη γραμμική συμπεριφορά εμφανίζεται σε συγκεντρώσεις ιόντων ασβεστίου [Ca<sup>2+</sup>] > 0.01 M, συμπεριφορά η οποία αποδίδεται στο φαινόμενο της αυτοαπορρόφησης. Η γραμμή που επιλέχτηκε για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς είναι γραμμή συντονισμού των ατομικών ιόντων του

ασβεστίου (βλ. Πίνακα 2.1) με αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα αυτοαπορρόφησης.



**Σχήμα 2.7.** Καμπύλη αναφοράς ιόντων ασβεστίου σε υδατικό διάλυμα με βάση την γραμμή εκπομπής των ατομικών ιόντων ασβεστίου στα 393.366 nm κανονικοποιημένη ως προς τη γραμμή H<sub>γ</sub> του υδρογόνου α) σε γραμμική και β) σε λογαριθμική κλίμακα.

Η επιλογή της κατάλληλης γραμμής για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς είναι σημαντική και καθορίζεται από το εύρος των συγκεντρώσεων που πρόκειται να μελετηθούν. Η χρήση γραμμών συντονισμού για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς είναι αξιόπιστη όταν το πλάσμα είναι οπτικά λεπτό στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων και έχει ως αποτέλεσμα μετρήσεις υψηλής ευαισθησίας. Στην περίπτωση μετρήσεων σε υποστρώματα υψηλής περιεκτικότητας σε κάποιο στοιχείο, επιλογή φασματικής γραμμής που αντιστοιχεί σε μετάβαση μεταξύ υψηλά ευρισκόμενων καταστάσεων ελαχιστοποιεί την αυτοαπορρόφηση.

## 2.7.4. Μέθοδος Calibration – free

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μέτρηση του ολικού πληθυσμού Ν των ατόμων κάθε στοιχείου στο πλάσμα. Ο υπολογισμός είναι εφικτός μόνο όταν πληρούται η συνθήκη 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 σημαντικό αριθμό γραμμών εκπομπής για κάθε στοιχείο. 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 [22, 23] όμως συχνά η ακρίβεια του αναλυτικού αποτελέσματος είναι χαμηλή.

Το πρώτο στάδιο του υπολογισμού περιλαμβάνει τη μέτρηση της θερμοκρασίας στο πλάσμα. Στο Σχήμα 2.8 παρουσιάζονται τυπικά διαγράμματα Saha-Boltzmann μέσω των οποίων πραγματοποιείται ο προσδιορισμός 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 [22].



Σχήμα 2.8. Διαγράμματα Saha–Boltzmann με βάση τα οποία γίνεται υπολογισμός της θερμοκρασίας πλάσματος, α) σε κράμα αλουμινίου και β) σε κράμα σιδήρου–μαγγανίου [22]. Ο άξονας x στα διαγράμματα αναφέρεται στην ενέργεια της διεγερμένης κατάστασης ενώ ο άξονας y περιγράφει το λογάριθμο που εμφανίζεται στο αριστερό μέρος της εξίσωσης 2.14 ή 2.16.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης γίνεται μέσω της κατανομής Boltzmann εφόσον είναι γνωστή η θερμοκρασία του πλάσματος. Η συνολική αριθμητική πυκνότητα των ατόμων ενός στοιχείου, j, στο πλάσμα (N<sub>j</sub>) είναι το άθροισμα αριθμητικής πυκνότητας των ουδετέρων ατόμων και των απλά φορτισμένων ατομικών ιόντων.

$$N_{i} = N_{i}^{I} + N_{i}^{II} \tag{2.23}$$

Στο πλάσμα που χρησιμοποιείται στην τεχνική LIBS περιέχονται κυρίως ουδέτερα και απλά φορτισμένα άτομα. Ο υπολογισμός του Ν γίνεται μέσω της σταθεράς της ευθείας στο διάγραμμα Saha-Boltzmann (Εξίσωση 2.16). Επειδή για κάθε στοιχείο υπολογίζεται ένα διαφορετικό Ν γίνεται η θεώρηση ότι ο συνολικός πληθυσμός των ατόμων όλων των στοιχείων στο πλάσμα ισούται με τη μονάδα.

$$N_{\pi\lambda\dot{\alpha}\sigma\mu\alpha} = \sum N_i = 1 \tag{2.24}$$

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον απευθείας προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αναλύτη στο πλάσμα χωρίς τη χρήση καμπύλων αναφοράς, ωστόσο η ακρίβειά της επηρεάζεται σημαντικά από τα φαινόμενα μήτρας στο αναλυόμενο δείγμα.

#### 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<sub>DL</sub> είναι το ελάχιστο ανιχνεύσιμο σήμα, η τιμή του ορίζεται ως:
$$Y_{DL} = Y_{Blank} + k\sigma \qquad (2.25)$$

όπου  $Y_{Blank}$  το σήμα που ανιχνεύεται στο λευκό, σ η τυπική απόκλιση της μέτρησης του τυφλού και k ένας παράγοντας 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:

$$Y - Y_{Blank} = \alpha C \qquad (2.26)$$

όπου Y το σήμα που ανιχνεύεται κατά τη μέτρηση του δείγματος, α η κλίση της καμπύλης αναφοράς και C η συγκέντρωση του δείγματος. Συνδυάζοντας τις δύο εξισώσεις για k = 3 λαμβάνουμε την εξίσωση:

 $3\sigma = \alpha C_{DL}$  ή εναλλακτικά  $C_L = 3\sigma/\alpha$  (2.27)

όπου  $C_L$  η μικρότερη συγκέντρωση που μπορεί να μετρηθεί. Κατ' αντιστοιχία ορίζεται και το όριο ποσοτικοποίησης, για το οποίο το διάστημα εμπιστοσύνης είναι πιο αυστηρό και λαμβάνεται για k = 10 [24].

#### ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ ΥΠΕΡΗΧΗΤΙΚΟΥ ΙΟΝΤΙΣΜΟΥ

Η φασματομετρία μαζών (Mass Spectrometry, MS) αποτελεί μια οικογένεια αναλυτικών τεχνικών, οι οποίες επιτρέπουν τη μελέτη της μάζας ατόμων και μορίων. Η τεχνική βασίζεται στον ιοντισμό των ατόμων, μορίων ή στην παραγωγή ιοντικών θραυσμάτων αυτών, το διαχωρισμό τους με βάση το λόγο της μάζας προς το φορτίο (m/z) και την καταγραφή της έντασης του ιοντικού ρεύματος σε κάθε τιμή του λόγου m/z. Οι τεχνικές φασματομετρίας μαζών επιτρέπουν την εξαγωγή πληροφοριών σχετικά με α) τη στοιχειακή σύσταση του δείγματος, β) την αναλογία ισοτόπων στοιχείων, γ) τη δομή ανόργανων, οργανικών, οργανο-μεταλλικών και βιολογικών μορίων, δ) την ποιοτική και ποσοτική σύσταση μιγμάτων.

Η φασματομετρία μάζας με πηγή υπερηχητικού ιοντισμού είναι μια σχετικά νέα τεχνική μοριακής φασματομετρίας μάζας, η οποία προτάθηκε το 1994 από τον A. Hirabayasi και τους συνεργάτες του [25]. Οι ερευνητές παρατήρησαν τη δυνατότητα σχηματισμού μοριακών ιόντων στην αέρια φάση σε ατμοσφαιρικές συνθήκες χωρίς την ανάγκη χρήσης ακτινοβολίας, εφαρμογής υψηλών δυναμικών ή αύξησης της θερμοκρασίας του δείγματος. Η τεχνική ονομάστηκε έτσι καθώς το φαινόμενο του υπερηχητικού ιοντισμού παρατηρείται, κατά την πνευματική εκνέφωση υδατικών διαλυμάτων, όταν η ταχύτητα του αερίου εκνέφωσης είναι κοντά στην ταχύτητα του ήχου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τεχνική, παρά τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της, έμεινε για σχεδόν μία δεκαετία στην αφάνεια [26, 27]. Αργότερα μετονομάστηκε σε V-EASI (Venturi - Easy Ambient Sonic-spray Ionization), καθώς στο ακροφύσιο του εκνεφωτή δημιουργείται διαφορά πίεσης λόγω φαινομένου Venturi, η οποία επιτρέπει την αυτοαναρρόφηση του δείγματος. Τα πλεονεκτήματα της πηγής SSI έναντι των υπολοίπων πηγών είναι, μεταξύ άλλων, η δυνατότητα σχηματισμού θετικά και αρνητικά φορτισμένων μορίων ταυτόχρονα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες χωρίς να απαιτείται η χρήση υψηλών δυναμικών ή θερμοκρασίας και η δυνατότητα αυτοαναρρόφησης του δείγματος με αποτέλεσμα να μην απαιτείται η χρήση αντλιών για την εισαγωγή του. Επίσης η θραυσματοποίηση των μορίων είναι ήπια και η ευαισθησία συγκρίσιμη με αυτήν της πηγής ESI.

# 2.8. Υπερηχητικός ιοντισμός

Το φαινόμενο του υπερηχητικού ιοντισμού παρατηρείται κατά την πνευματική εκνέφωση διαλυμάτων, όταν η ταχύτητα του αερίου εκνέφωσης είναι κοντά στην ταχύτητα του ήχου. Η αλληλεπίδραση των σταγονιδίων με το αέριο εκνέφωσης οδηγεί σε επιτάχυνση των σταγονιδίων. Όταν υπάρχει διαφορά ταχύτητας μεταξύ των μορίων του αερίου

εκνέφωσης και των σταγονιδίων παρατηρείται αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων, η πιθανότητα της οποίας υπολογίζεται μέσω του αριθμού Weber (W<sub>e</sub>) σύμφωνα με την εξίσωση:

$$W_e = \frac{\rho_G v^2 d}{\sigma} \qquad (2.28),$$

όπου ρ<sub>G</sub> είναι η πυκνότητα του αερίου, ν η διαφορά μεταξύ της ταχύτητας του αερίου και της ταχύτητας της σταγόνας, 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, τα άτομα/μόρια του φέροντος αερίου επιταχύνονται λόγω της πτώσης πίεσης, η οποία γίνεται ακόμη πιο έντονη κατά τη μετάβαση στην περιοχή υψηλού κενού (10<sup>-5</sup> torr), με αποτέλεσμα την ενίσχυση της αεροδυναμικής σχάσης. Η τιμή του αριθμού Weber υπερβαίνει την τιμή  $W_e = 10$  σε όλο το μήκος της διαδρομής προκαλώντας αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων, έως ότου η διάμετρος αυτών μειωθεί στα 2-3 μm ανεξάρτητα από το μέγεθος της αρχικής σταγόνας. Ο αριθμός Weber καθορίζει το μηχανισμό μέσω του οποίου θα πραγματοποιηθεί η αεροδυναμική σχάση [28]. Για τις δεδομένες συνθήκες η σχάση των σταγονιδίων περιγράφεται με βάση το μοντέλο της σακούλας, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 2.9.



**Σχήμα 2.9.** Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού δημιουργίας των μοριακών ιόντων στην πηγή SSI [29].

Πιο συγκεκριμένα η αλληλεπίδραση μίας σταγόνας με το αέριο εκνέφωσης οδηγεί σε σταδιακή παραμόρφωση του σχήματος της σταγόνας που ομοιάζει πλέον με «σακούλα», η οποία εν τέλει διασπάται σε μικρότερα σταγονίδια. Η αλληλεπίδραση του αερίου με τα μόρια στα σταγονίδια οδηγεί σε ανομοιόμορφη κατανομή φορτίου. Στη στεφάνη της σακούλας αναπτύσσεται περίσσεια θετικού φορτίου ενώ στα τοιχώματα της σακούλας παρατηρείται περίσσεια αρνητικού φορτίου. Σύμφωνα με μελέτες [29] το αρνητικό φορτίο κατανέμεται στην εξωτερική επιφάνεια της σταγόνας, ενώ το θετικό στο εσωτερικό, οπότε γίνεται αντιληπτός ο λόγος για τον οποίο η περίσσεια θετικού φορτίου εμφανίζεται στη στεφάνη της σακούλας.

# 2.9. Βιβλιογραφία

[1] T.H. Maiman, Stimulated optical radiation in ruby, Nature, 187 (1960) 493–494.

[2] F. Breach and L. Cross, **Optical microemission stimulated by a ruby laser**, Appl. Spectrosc., 16 (1962) 59–64.

[3] P.D. Maker, R.W. Terhune and C.M. Savage, **Optical third harmonic generation**, 3rd Inter. Conf. Quantum Electr. Proc., Paris, Columbia University Press, New York, 2 (1964) 1559.

[4] E.F. Runge, R.W. Minck and F.R. Bryan, **Spectrochemical analysis using a pulsed laser source**, Spectr. Acta, 20 (1964) 733–736.

[5] M. Young, M. Hercher and C.-Y. Yu, **Some characteristics of laser-induced air sparks**, J. Appl. Phys., 37 (1966) 4938–4940.

[6] D. A. Cremers and L. J. Radziemski, **Handbook of Laser – Induced Breakdown Spectroscopy**, John Wiley & Sons Ltd, 2006.

[7] http://www.nist.gov/pml/data/asd.cfm

[8] http://www.cfa.harvard.edu/amp/ampdata/kurucz23/sekur.html

[9] J. Moros, J. Laserna, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) of Organic Compounds: A Review, Appl. Spectrosc. 73 (2019) 963–1011.

[10] J. P. Singh and S. N. Thakur, Laser Induced Breakdown Spectroscopy, Elsevier. 1<sup>st</sup> edition, 2007

[11] Y.-L. Chen, J.W. Lewis, C. Parigger, **Spatial and temporal profiles of pulsed laser-induced air plasma emissions**, J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf., 67 (2000) 91–103.

[12] G. M. Weyl and D. Rosen, Laser-induced breakdown in argon at 0.35 μm: Theory and experiments, Phys. Rev. A, 31 (1985) 2300-2313.

[13] 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 (2010), 86–95.

[14] R.W.P. McWhirter, Spectral intensities in: R.H. Huddlestone, S.L. Leonard, Plasma Diagnostic Techniques, Academic Press, 1965, Chapter 5.

[15] V. Piñon, D. Anglos, Optical emission studies of plasma induced by single and double femtosecond laser pulses, Spectrochimica Acta Part B, 64 (2009) 950–960.

[16] J.A Aguilera, C. Aragón, Multi-element Saha–Boltzmann and Boltzmann plots in laser-induced plasmas, Spectrochimica Acta Part B, 62 (2007) 378–385.

[17] P.W. Atkins and J. De Paula, Φυσικοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2014.

[18] 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 (2013) 98–103.

[19] 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 (2012) 95-166. [20] W. T. Chan and R. E. Russo, **Study of laser-material interactions using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry**, Spectrochimica. Acta Part B, 46 (1991) 1471-1486.

[21] J. Hou, L. Zhang, Y. Zhao, Z. Wang, Y. Zhang, W. Ma, L. Dong, W. Yin, L. Xiao, S. Jia, **Mechanisms and efficient elimination approaches of self-absorption in LIBS**, Plasma Sci. Technol. 21 (2019) 1-15.

[22] E. Tognoni, G. Cristoforetti, S. Legnaioli, V. Palleschi, Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: State of the art, Spectrochimica Acta Part B, 65 (2010) 1–14.

[23] 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 (2007) 1287–1302.

[24] D. C. Harris, **Quantitative Chemical Analysis**, 8<sup>th</sup> edition, W. H. Freeman and Company, New York, 2010.

[25] A. Hirabayashi, M. Sakairi and H. Koizumi, **Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry**, Anal. Chem., 66 (1994) 4557-4559.

[26] 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 (2011) 1375–1380.

[27] Z. Takats, S. C. Nanita, R. Graham Cooks, G. Schlosser, K. Vekey, Amino Acid Clusters Formed by Sonic Spray Ionization, Anal. Chem., 75 (2003) 1514-1523.

[28] S. A. Krzeczkowski, **Measurement of Liquid Droplet Disintegration Mechanisims**. Int. J. Multiphase Flow, 6 (1980) 227–239.

[29] 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 (2008) 13352–13363.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΑΞΗ-ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

# 3.1. Πειραματική διάταξη LIBS

Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για τη διεξαγωγή ενός τυπικού πειράματος LIBS αποτελείται από το παλμικό λέιζερ, τα οπτικά που χρησιμοποιούνται για την κατεύθυνση και εστίαση της ακτινοβολίας λέιζερ, τα οπτικά για τη συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα, το φασματογράφο με τον ανιχνευτή ICCD και την παλμογεννήτρια. Στο Σχήμα 3.1 παρουσιάζεται σχηματική αναπαράσταση τυπικής πειραματικής διάταξης LIBS, η οποία επιτρέπει τη διεξαγωγή μετρήσεων στον αέρα.



Σχήμα 3.1. Σχηματική αναπαράσταση πειραματικής διάταξης LIBS.

Πιο συγκεκριμένα η ακτινοβολία λέιζερ κατευθύνεται μέσω κατάλληλων οπτικών προς το συγκεντρωτικό φακό (f = +50 mm), μέσω του οποίου εστιάζεται στον αέρα προκαλώντας το σχηματισμό πλάσματος. Στην πορεία της δέσμης προς το συγκεντρωτικό φακό παρεμβάλλεται κατάλληλος οπτικός εξασθενητής, ο οποίος επιτρέπει τη ρύθμιση της ενέργειας της δέσμης λέιζερ. Η συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα πραγματοποιείται μέσω κατάλληλου τηλεσκοπίου, το οποίο αποτελείται από ένα σύστημα δύο φακών (f = + 50 mm), και επιτρέπει την απεικόνιση του πλάσματος, με λόγο μεγέθυνσης 1:1, σε οπτική ίνα χαλαζία διαμέτρου d = 600 μm. Μέσω της οπτικής ίνας, η συλλεγόμενη ακτινοβολία μεταφέρεται στο φασματογράφο, όπου πραγματοποιείται φασματική ανάλυση και καταγραφή της από ανιχνευτή τύπου ICCD. Για την καταγραφή του φάσματος LIBS με χρονική καθυστέρηση τ<sub>Delay</sub> σε σχέση με τον παλμό λέιζερ, απαιτείται συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή και αυτό επιτυγχάνεται μέσω της παλμογεννήτριας, η οποία λαμβάνει ηλεκτρικό σήμα σκανδαλισμού (trigger) από μία φωτοδίοδο ταχείας απόκρισης (rise time ~ 1 ns), η οποία ανιχνεύει την άφιξη του παλμού λέιζερ στην περιοχή εστίασης.

# 3.2. Πειραματική διάταξη SSI-MS

Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται στην τεχνική SSI-MS είναι σχετικά απλή, καθώς αποτελείται από ένα πνευματικό εκνεφωτή και το φασματόμετρο μάζας. Ο εκνεφωτής τοποθετείται σε απόσταση 5 mm από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας, σε κατάλληλη θέση, ώστε ο άξονας ψεκασμού του εκνεφωτή να συμπίπτει με τον άξονα συλλογής του φασματομέτρου μάζας, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.2.



Σχήμα 3.2. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης της τεχνικής SSI-MS.

# 3.3. Οργανολογία

#### 3.3.1. Εκνεφωτής

Ο εκνεφωτής, που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα είναι πνευματικός εκνεφωτής συγκεντρωτικού τύπου (TR-30-C1, Meinhard®, Golden, CO, USA). Ο όρος πνευματικός υποδεικνύει τη χρήση αέρα ή άλλου αδρανούς αερίου για τη δημιουργία του αερολύματος. Οι πνευματικοί εκνεφωτές αυτού του τύπου χρησιμοποιούνται κατά κόρον ως σύστημα εισαγωγής του δείγματος στην τεχνική ICP-MS, καθώς είναι εύχρηστοι, ενώ παράλληλα παρέχουν την ικανότητα αυτο-αναρρόφησης του δείγματος με αποτέλεσμα να μην απαιτείται η χρήση περισταλτικής αντλίας.



Σχήμα 3.3. Πνευματικός εκνεφωτής συγκεντρωτικού τύπου [1].

Στο Σχήμα 3.3 παρουσιάζεται φωτογραφία του πνευματικού εκνεφωτή στην οποία επισημαίνονται τα σχετικά τμήματα. Η περιοχή εισαγωγής του δείγματος τροποποιήθηκε

μέσω της εισαγωγής κατάλληλου συστήματος το οποίο επιτρέπει την πρόσδεση και σταθεροποίηση κατάλληλου τριχοειδούς σωλήνα εσωτερικής διαμέτρου 100 μm, εντός του γυάλινου τριχοειδούς που ευρίσκεται μέσα στον εκνεφωτή. Με αυτήν τη συνδεσμολογία επιτυγχάνεται αυτο-αναρρόφηση του διαλύματος με ρυθμό περίπου  $F_{\text{Sample}} = 15 \text{ L/min}$ . Στις τυπικές συνθήκες λειτουργίας (ροή αργού 0.65 L/min), η ταχύτητα των ατόμων/μορίων του φέροντος αερίου υπερβαίνει την ταχύτητα του ήχου με αποτέλεσμα στο ακροφύσιο του εκνεφωτή να δημιουργείται διαφορά πίεσης λόγω φαινομένου Venturi, η οποία οδηγεί σε αναρρόφηση του διαλύματος. Η αλληλεπίδραση της υπερηχητικής ροής του φέροντος αερίου υπερβαίνει την περιοχή του ακροφυσίου οδηγεί σε αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων (βλ. 2.8) με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα λεπτότατα διαμερισμένο αερόλυμα με σταγονίδια διαμέτρου μικρότερης των 10 μm. Το σχηματιζόμενο αερόλυμα διαδίδεται ομόκεντρα με τη ροή του αερίου εκνέφωσης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία εκνεφώματος κωνικού σχήματος, γωνιακής κατανομής θ ~ 45°, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.4. Η ταχύτητα των σταγονιδίων που δημιουργούνται σε τυπικές συνθήκες λειτουργίας των 30-80 m/s [2].



Σχήμα 3.4. Εύρος του κώνου που σχηματίζει το αερόλυμα συναρτήσει της απόστασης από το ακροφύσιο του εκνεφωτή (αριστερά), και αντιπροσωπευτικό διάγραμμα της κατανομής μεγέθους των σταγονιδίων στο οποίο η διάμετρος των σταγονιδίων αποτυπώνεται σε λογαριθμική κλίμακα (δεξιά) [2].

<u>Παροχή διαλύματος αναλύτη</u>: Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, στο ακροφύσιο του εκνεφωτή δημιουργείται διαφορά πίεσης λόγω φαινομένου Venturi. Η ροή του διαλύματος (dV/dt) λόγω αυτοαναρρόφησης εξαρτάται από διάφορους παράγοντες σύμφωνα με το νόμο του Poiseuille:

$$\frac{dV}{dt} = \frac{\pi R^4 \Delta P}{8\eta L} \tag{3.1}$$

όπου: η το ιξώδες του υγρού, L και R το μήκος και η ακτίνα του κυλινδρικού αγωγού και ΔΡ η διαφορά πίεσης στα άκρα του αγωγού.

#### 3.3.2. Λέιζερ

### Nd:YAG

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά παλμικά λέιζερ Nd:YAG τύπου Q-Switched, αντλούμενα από λυχνίες έκλαμψης, α) 5000 Series της εταιρείας B. M. Industries), και β) Surelite II της εταιρείας Continuum). Τα γενικά χαρακτηριστικά των δύο λέιζερ είναι όμοια όσον αφορά την πόλωση της ακτινοβολίας και τη χρονική διάρκεια του εκπεμπόμενου παλμού λέιζερ. Πιο συγκεκριμένα η θεμελιώδης συχνότητα λειτουργίας των λέιζερ αντιστοιχεί σε μήκος κύματος  $\lambda = 1064$  nm, η πόλωση της ακτινοβολίας είναι γραμμική (κατακόρυφη όταν εξέρχεται από το λέιζερ) και το χρονικό εύρος του παλμού μετρούμενο στο FWHM είναι τ<sub>P</sub> = 8 ns. Η μέγιστη ενέργεια ανά παλμό στο λέιζερ 5000 Series, BMI είναι E<sub>Pulse</sub> = 200 mJ, ενώ στο λέιζερ Surelite II, Continuum είναι E<sub>Pulse</sub> = 450 mJ. Οι λυχνίες έκλαμψης και στα δύο συστήματα λειτουργούν σε συχνότητα 10 Hz, και αντίστοιχα η μέγιστη τιμή που λαμβάνει ο ρυθμός επανάληψης παλμών (pulse repetition rate) του λέιζερ είναι 10 Hz. Με κατάλληλο έλεγχο του κυκλώματος ενεργοποίησης του Q-Switch είναι εφικτή η παραγωγή παλμών σε ρυθμό επανάληψης f/N, όπου N = 1, 2, ..., 9.

#### UV fs KrF

Το λέιζερ KrF αποτελείται από ένα υβριδικό σύστημα λέιζερ χρωστικών (Distributed Feedback Dye Laser, DFDL) το οποίο αντλείται από λέιζερ XeCl (EMG 150 Lambda-Physik,  $\tau_{Pulse} = 15$  ns,  $\lambda = 308$  nm). Πιο συγκεκριμένα η άντληση του συστήματος DFDL από το λέιζερ XeCl οδηγεί στη δημιουργία παλμών χρονοδιάρκειας  $\tau_{Pulse} = 450$  fs σε μήκος κύματος  $\lambda = 496$  nm. Η ακτινοβολία που εκπέμπεται από το σύστημα DFDL διέρχεται από μη γραμμικό κρύσταλλο BBO (β-Barium Borate), όπου επιτυγχάνεται διπλασιασμός συχνότητας με αποτέλεσμα την παραγωγή της δεύτερης αρμονικής σε  $\lambda = 248$  nm. Εν συνεχεία η ακτινοβολία κατευθύνεται σε κοιλότητα λέιζερ διεγερμένων διμερών KrF (Lambda-Physik) όπου και ενισχύεται. Το τελικό αποτέλεσμα των διεργασιών είναι η παραγωγή παλμών λέιζερ χρονοδιάρκειας  $\tau_{Pulse} = 450$  fs, σε μήκος κύματος  $\lambda = 248$  nm, με μέγιστη ενέργεια E<sub>Pulse</sub> = 23 mJ και μέγιστη τιμή του ρυθμού επανάληψης στα 10 Hz.

#### 3.3.3. Οπτικά

#### <u>Κάτοπτρα</u>

Για την κατεύθυνση της δέσμης από το λέιζερ προς την πειραματική διάταξη χρησιμοποιούνται διηλεκτρικά κάτοπτρα. Τα κάτοπτρα αυτά είναι οπτικά πλακίδια άμορφου οξειδίου του πυριτίου (SiO<sub>2</sub>) υψηλής καθαρότητας (σχήματος κυκλικού ή παραλληλογράμμου) στα οποία εναποτίθενται λεπτά στρώματα διηλεκτρικού υλικού, που

82

αποτελούν την οπτική επίστρωση (optical coating). Το πάχος και το είδος του διηλεκτρικού υλικού καθορίζει τις οπτικές ιδιότητες του κατόπτρου, δηλαδή τη σχετική ανακλαστικότητα του κατόπτρου στα διάφορα μήκη κύματος και τη βέλτιστη γωνία πρόσπτωσης.

#### <u>Φακοί</u>

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 η απεστίασης μιας δέσμης φωτός διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τους συγκλίνοντες (ή συγκεντρωτικούς) και τους αποκλίνοντες (ή αποκεντρωτικούς). Μία χαρακτηριστική παράμετρος είναι η εστιακή απόσταση η οποία ορίζεται ως η απόσταση από το κέντρο του φακού μέχρι το σημείο στο οποίο το πλάτος της διαθλώμενης δέσμης φωτός γίνεται ελάχιστο (η περιοχή αυτή ονομάζεται θέση εστίασης). Ένας συγκλίνων φακός έχει θετική εστιακή απόσταση ενώ ένας αποκλίνων φακός αρνητική.

#### Οπτική ίνα

Μία οπτική ίνα αποτελείται από ένα πολύ λεπτό νήμα γυαλιού, δηλαδή διοξειδίου του πυριτίου σε κρυσταλλική ή άμορφη μορφή. Το κεντρικό νήμα (πυρήνας) είναι επικαλυμμένο με επίστρωση κατάλληλου υλικού το οποίο εμφανίζει μικρότερο δείκτη διάθλασης ως προς τον πυρήνα και αυτό ευνοεί την ολική εσωτερική ανάκλαση ακτινοβολίας, εισερχόμενης στην οπτική ίνα, και οδηγεί στη διάδοσή της κατά μήκος της ίνας χωρίς απώλειες. Η διάμετρος του πυρήνα της οπτικής ίνας που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της παρούσας εργασίας είναι d = 600 μm.

#### 3.3.4. Φωτοδίοδος

Η φωτοδίοδος έχει την ικανότητα μετατροπής του φωτός σε ηλεκτρικό ρεύμα. Η ικανότητά της αυτή οφείλεται στην παρουσία ημιαγώγιμου υλικού που χρησιμεύει ως αισθητήρας. Όταν η συχνότητα του φωτός που προσπίπτει στην επιφάνεια του αισθητήρα υπερβαίνει το ενεργειακό χάσμα του ημιαγωγού προκαλείται ηλεκτρονιακή διέγερση στο υλικό και μεταφορά ηλεκτρονίων από τη ζώνη σθένους του υλικού στη ζώνη αγωγιμότητας. Για κάθε ηλεκτρόνιο που μεταφέρεται στη ζώνη αγωγιμότητας δημιουργείται μια οπή στην ζώνη σθένους. Η σύνδεση του αισθητήρα με κατάλληλο ηλεκτρονικό κύκλωμα επιτρέπει τη μέτρηση των ηλεκτρονίων που δημιουργούνται, μέσω μέτρησης της έντασης του ηλεκτρικού ρεύματος που διαρρέει τον αισθητήρα. Η μετρούμενη ένταση του ρεύματος είναι εν τέλει ανάλογη του αριθμού των φωτονίων που προσπίπτουν στο ημιαγώγιμο υλικό. Το ηλεκτρονικό κύκλωμα, στο οποίο είναι συνδεδεμένο το ημιαγώγιμο υλικό, αλλά και τα χαρακτηριστικά του αισθητήρα καθορίζουν το χρόνο απόκρισης της φωτοδιόδου (ο χρόνος

83

απόκρισης (τ) είναι το γινόμενο της αντίστασης (R) επί την χωρητικότητα (C) του κυκλώματος, τ = RC).

### 3.3.5. Παλμογεννήτρια

Η παλμογεννήτρια (DG 535, Stanford Research Systems) αποτελείται από κατάλληλο ηλεκτρονικό κύκλωμα, το οποίο είναι προγραμματισμένο να παρέχει ηλεκτρονικούς παλμούς (logic transition), διαφορετικού τύπου (TTL, NIM και ECL), των οποίων το χρονικό εύρος ελέγχεται με ακρίβεια ± 5 ps, ενώ, παράλληλα, παρέχει τη δυνατότητα εισαγωγής υψηλής ακρίβειας χρονικής καθυστέρησης ( $\tau_{Delay}$ ) ως προς εισερχόμενο σήμα σκανδαλισμού (trigger). Το χρονικό εύρος των παραγόμενων παλμών, καθορίζει την τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης ( $\tau_{Gate}$ ), και κυμαίνεται από 1 ps (1 ps = 10<sup>-12</sup> s) έως 999 s. Ο συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή πραγματοποιείται μέσω της παλμογεννήτριας η οποία λαμβάνει σήμα σκανδαλισμού από φωτοδίοδο, η οποία ανιχνεύει την άφιξη του παλμού λέιζερ στο συγκεντρωτικό φακό.

#### 3.3.6. Φασματογράφος

Η ανάλυση της συλλεγόμενης ακτινοβολίας πραγματοποιείται από απεικονιστικό φασματογράφο φράγματος περίθλασης, τύπου Czerny-Turner (PTI, 01-002AD), εστιακής απόστασης f = 19 cm. Ο φασματογράφος περιέχει δύο ολογραφικά φράγματα περίθλασης με 300 χαραγές/mm και 1200 χαραγές/mm, τα οποία καλύπτουν φασματική περιοχή εύρους 280 nm με διακριτική ικανότητα 0.4 nm και 70 nm με διακριτική ικανότητα 0.1 nm, αντίστοιχα. Η ακτινοβολία που συλλέγεται από το πλάσμα μεταφέρεται μέσω της οπτικής ίνας στη σχισμή εισόδου του φασματογράφου, όπου αναλύεται φασματικά και εν συνεχεία καταγράφεται η ένταση σε κάθε μήκος κύματος (δηλαδή το φάσμα εκπομπής) από ανιχνευτή τύπου ICCD, ο οποίος είναι τοποθετημένος στην έξοδο του φασματογράφου (επίπεδο εστίασης, image plane).

# 3.3.7. Ανιχνευτής

Για την καταγραφή του φάσματος χρησιμοποιείται ανιχνευτής σύζευξης φορτίου με ενισχυτή εικόνας (Intensified Charged Coupled Device, ICCD) της εταιρείας Andor, μοντέλο iStar DHS-734. Μια συσκευή σύζευξης φορτίου (CCD) είναι ένας ανιχνευτής υψηλής ευαισθησίας, ο οποίος αποτελείται από μία δισδιάστατη επιφάνεια μικροσκοπικών φωτοαισθητήρων (pixel), μεγέθους 13.3×13.3 μm, που έχουν την ικανότητα αποθήκευσης φορτίου (δηλαδή λειτουργούν ως πυκνωτές). Τα pixel είναι διατεταγμένα κατάλληλα σχηματίζοντας οριζόντιες σειρές και κατακόρυφες στήλες. Στον ανιχνευτή που χρησιμοποιείται στο πείραμα η διάταξη αποτελείται από 1024 σειρές και 1024 στήλες. Κάθε φωτοαισθητήρας αποτελείται από μία δίοδο πυριτίου με προσμίξεις τύπου p σε υπόστρωμα πυριτίου τύπου n. Κάθε αισθητήρας καλύπτεται από ένα λεπτό φιλμ διοξειδίου του πυριτίου (SiO<sub>2</sub>) επάνω στο οποίο τοποθετούνται αγώγιμα ηλεκτρόδια πυριτίου. Το φως με το οποίο ακτινοβολείται ο ανιχνευτής απορροφάται από την περιοχή p προκαλώντας ηλεκτρονιακή διέγερση και συνεπώς τη μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από τη ζώνη σθένους στη ζώνη αγωγιμότητας και το σχηματισμό οπής στη ζώνη σθένους. Το ηλεκτρόνιο στη ζώνη αγωγιμότητας κινείται ελεύθερα προς το θετικά φορτισμένο ηλεκτρόδιο όπου και αποθηκεύεται. Η οπή μετακινείται προς το υπόστρωμα τύπου n, όπου και συνδέεται με ένα ηλεκτρόνιο.

Ο ανιχνευτής ICCD ενσωματώνει στη συστοιχία CCD ενισχυτή εικόνας αποτελούμενο από τη φωτοκάθοδο, το μικροκαναλικό πλακίδιο (Microchannel Plate - MCP) και φωσφορίζουσα οθόνη. Ο ενισχυτής εικόνας αυξάνει την ευαισθησία του ανιχνευτή κατά παράγοντα 10<sup>4</sup>. Τα φωτόνια στην έξοδο του φασματογράφου (επίπεδο εστίασης) προβάλλονται στον ενισχυτή εικόνας, προσπίπτουν στη φωτοκάθοδο του ενισχυτή, παράγοντας φωτοηλεκτρόνια. Η φωτοκάθοδος ευρίσκεται σε αρνητικό δυναμικό, οπότε τα παραγόμενα φωτοηλεκτρόνια επιταχύνονται από το ηλεκτρικό πεδίο και κατευθύνονται προς το μικροκαναλικό πλακίδιο στο οποίο εφαρμόζεται υψηλή διαφορά δυναμικού, 500 - 1000 V. Η εισαγωγή των πρωτογενών φωτοηλεκτρονίων στο μικροκαναλικό πλακίδιο οδηγεί σε παραγοντας χαρακτηριστική ακτινοβολία (στην ορατή περιοχή του φάσματος) η οποία καταγράφεται από τον αισθητήρα CCD. Μεταβολή της τιμής της τάσης στο μικροκαναλικό πλακίδιο έχει ως αποτέλεσμα την αυξομείωση της ενίσχυσης (gain) όπως φαίνεται στο Σχήμα 3.5.



Σχήμα 3.5. Τυπικό διάγραμμα του συντελεστή ενίσχυσης συναρτήσει της τιμής MCP Gain.

Σημειώνεται ότι η διαδικασία ενίσχυσης δεν αλλοιώνει τη χωρική κατανομή της πρωτογενούς ακτινοβολίας και συνεπώς τη φασματική εικόνα της εκπομπής και αυτό οφείλεται στη δομή του μικροκαναλικού πλακιδίου (συστοιχία μικροδιαύλων) και στη σύζευξή του, μέσω δεσμίδας οπτικών ινών, με τη φωσφορίζουσα οθόνη.

Ο ενισχυτής, εκτός από το να ενισχύει το σήμα εκπομπής, έχει τη δυνατότητα πολύ υψηλής χρονικής απόκρισης (2-3 ns) και έτσι λειτουργεί ως ένας ταχύτατος φωτοφράκτης. Η λειτουργία αυτή βασίζεται στη δυνατότητα ταχείας μεταβολής του εφαρμοζόμενου δυναμικού στη φωτοκάθοδο από θετικό σε αρνητικό και αντιστρόφως. Όταν στη φωτοκάθοδο εφαρμοστεί θετικό δυναμικό, τα φωτοηλεκτρόνια δεν αποκτούν ικανή κινητική ενέργεια για να εισέλθουν στο μικροκαναλικό πλακίδιο, οπότε ουσιαστικά ο ενισχυτής εικόνας παραμένει ανενεργός (κλειστός). Με ταχεία μεταβολή του δυναμικού σε αρνητικό ο ενισχυτής ενεργοποιείται και η εκπομπή καταγράφεται για χρονικό διάστημα τ<sub>Gate</sub> (ελεγχόμενο από την παλμογεννήτρια) στο τέλος του οποίου εφαρμόζεται εκ νέου θετικό δυναμικό με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του ενισχυτή και ουσιαστικά τη διακοπή καταγραφής της εκπομπής. Σημειώνεται ότι γενικά ο αισθητήρας CCD είναι μια συσκευή αργής σάρωσης όμως, 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 εκ τούτου παρουσιάζει εξάρτηση από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.6.



**Σχήμα 3.6**. Τυπικό διάγραμμα κβαντικής απόδοσης της φωτοκαθόδου συναρτήσει του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας [3].

# 3.3.8. Φασματόμετρο Μάζας

Το φασματόμετρο μάζας που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής είναι το Thermo Finnigan LCQ Advantage. Είναι σχεδιασμένο να λειτουργεί με πηγές ιόντων τύπου ESI (Electrospray Ionization), APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) ή NSI (Nanospray Ionization), όμως με

κατάλληλη τροποποίηση της περιοχής εισόδου είναι εφικτή η σύνδεση με την πηγή SSI (Sonic-Spray Ionization).

# Αρχή λειτουργίας

Τα σταγονίδια που σχηματίζονται στην πηγή ιοντισμού εισέρχονται στη θερμαινόμενη μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης, η οποία επιταχύνει την εξάτμιση του διαλύτη και το σχηματισμό μορίων στην αέρια φάση. Από την έξοδο της στήλης, τα μόρια εισέρχονται σε ένα σύστημα υψηλού κενού το οποίο διαθέτει κατάλληλα οπτικά ιόντων τα οποία επιτρέπουν την κατεύθυνση των θετικά ή των αρνητικά φορτισμένων μορίων προς τον αναλυτή μαζών όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.7.

Ο αναλυτής μαζών στο συγκεκριμένο σύστημα είναι ιοντική παγίδα. Το βασικό πλεονέκτημα που παρουσιάζει ο συγκεκριμένος αναλυτής μαζών είναι η ικανότητα παγίδευσης των ιόντων για χρόνους που προσεγγίζουν το ένα δευτερόλεπτο, με αποτέλεσμα να αυξάνει σημαντικά η ευαισθησία της μέτρησης. Το μειονέκτημα όμως της ιοντικής παγίδας είναι η μικρή διακριτική ικανότητα (R ~ 1 m/z) και η περιορισμένη δυναμική περιοχή, η οποία για το συγκεκριμένο σύστημα κυμαίνεται από 55 m/z ως 2000 m/z.



Σχήμα 3.7. Σχηματική αναπαράσταση τομής του φασματόμετρου μάζας, στην οποία διακρίνεται ο κώνος δειγματοληψίας (ion sweep cone) και η μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης (ion transfer capillary) [4].

# 3.4. Βιβλιογραφία

[1] Consumables and Accessories for ICP and ICP-MS, Meinhard<sup>®</sup>, March 2009.

[2] J. L. Todoli and J. M. Mermet, Liquid sample introduction in ICP spectrometry a practical guide, 1<sup>st</sup> edition, Elsevier 2008.

- [3] Andor iStar ICCD user's guide, Andor Technology,.
- [4] Finnigan<sup>TM</sup> LCQ<sup>TM</sup> Series Manual, Thermo.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

# ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ LIBS-SSI-MS

Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφεται η σύνδεση της τεχνικής LIBS με την τεχνική SSI-MS, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS. Η τεχνική LIBS-SSI-MS προσφέρει τη δυνατότητα χαρακτηρισμού ενώσεων όσον αφορά τη στοιχειακή σύσταση και το μοριακό βάρος σε πραγματικό χρόνο. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων σε αερολύματα υδατικών διαλυμάτων επιτυγχάνεται με τη χρήση μεθοδολογίας LIBS που αναπτύχθηκε στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής εργασίας του συγγραφέα και έχει δημοσιευτεί στο περιοδικό Spectrochimica Acta Part B [1, 2].

Η εν λόγω μεθοδολογία LIBS προτείνει το σχηματισμό πλάσματος σε απόσταση 2 mm από το ακροφύσιο του εκνεφωτή όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.1. Ο σχηματισμός πλάσματος επιτυγχάνεται μέσω της εστίασης παλμών λέιζερ ενέργειας  $E_{Pulse} = 200$  mJ, χρονοδιάρκειας τ<sub>Pulse</sub> = 8 ns σε μήκος κύματος  $\lambda = 1064$  nm. Η καταγραφή των φασμάτων LIBS πραγματοποιείται με χρονική καθυστέρηση, τ<sub>Delay</sub> = 20 μs, ενώ η συλλογή της εκπομπής πραγματοποιείται για χρονικό διάστημα, τ<sub>Gate</sub> = 100 μs.



**Σχήμα 4.1.** Φωτογραφία που απεικονίζει το ακροφύσιο του πνευματικού εκνεφωτή και το σχηματιζόμενο πλάσμα.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων, στο αερόλυμα που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή, επιτυγχάνεται με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς με βάση την ανάλυση LIBS πρότυπων διαλυμάτων αλάτων των μελετώμενων στοιχείων. Στο Σχήμα 4.2 παρουσιάζεται αντιπροσωπευτική καμπύλη αναφοράς και τα φάσματα LIBS που καταγράφηκαν κατά την ανάλυση πρότυπων υδατικών διαλυμάτων ιόντων χαλκού σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Κάθε σημείο στην καμπύλη αναφοράς αποτελεί μέσο όρο τριών μετρήσεων και κάθε μέτρηση αντιστοιχεί στο μέσο όρο διακοσίων μεμονωμένων (Single Shot) φασμάτων LIBS. Οι καμπύλες αναφοράς παρουσιάζουν γραμμική συμπεριφορά, με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης,  $R^2 > 0.99$ , για ένα εύρος συγκεντρώσεων από  $1 \times 10^{-6}$  M έως  $1 \times 10^{-4}$  M. Η συγκεκριμένη μεθοδολογία επιτρέπει τη διεξαγωγή μετρήσεων LIBS με υψηλή ευαισθησία και επαναληψιμότητα (%RSD < 5).



Σχήμα 4.2. α) Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και β) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS που καταγράφηκαν κατά τη μέτρηση των πρότυπων υδατικών διαλυμάτων ιόντων Cu<sup>2+</sup> που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς [2].

#### 4.1. Πειραματική διάταξη LIBS-SSI-MS

Για τη διασύνδεση των δύο τεχνικών είναι απαραίτητη η ανάπτυξη και προσαρμογή κατάλληλης διάταξης LIBS στην περιοχή εισαγωγής του δείγματος στο φασματόμετρο μάζας, η οποία θα επιτρέπει το σχηματισμό πλάσματος στο χώρο μεταξύ του ακροφυσίου του εκνεφωτή και της εισόδου του φασματομέτρου μάζας. Στο Σχήμα 4.3 παρουσιάζεται σχηματική αναπαράσταση της γεωμετρίας της υβριδικής διάταξης LIBS-SSI-MS στην περιοχή δημιουργίας του πλάσματος και εισαγωγής του αερολύματος στο φασματόμετρο μάζας.



**Σχήμα 4.3.** Σχηματική αναπαράσταση της υβριδικής διάταξης LIBS-SSI-MS. 1) Φασματόμετρο μάζας, 2) πνευματικός εκνεφωτής, 3) σύστημα μικρομετρικής μετακίνησης, 4) συγκεντρωτικός φακός, 5) δείγμα, 6) τηλεσκόπιο και 7) οπτική ίνα.

Η διάταξη που συνδέει τις δύο τεχνικές αποτελείται από πλατφόρμα αλουμινίου επί της οποίας στηρίζονται τα οπτικά που χρησιμοποιούνται για την κατεύθυνση και εστίαση της δέσμης λέιζερ, ο πνευματικός εκνεφωτής και το σύστημα συλλογής της ακτινοβολίας εκπομπής του πλάσματος. Πιο συγκεκριμένα ο πνευματικός εκνεφωτής τοποθετείται σε σύστημα το οποίο επιτρέπει τη μετακίνηση σε τρεις διαστάσεις (x-y-z) με ακρίβεια της τάξης των 20 μm, έτσι ώστε να ρυθμίζεται η σχετική θέση του άξονα ψεκασμού ως προς την είσοδο του φασματομέτρου μάζας. Το ακροφύσιο του εκνεφωτή τοποθετείται σε απόσταση 4 – 5 mm από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας και κατά μήκος του άξονα εισόδου.



Σχήμα 4.4. Φωτογραφίες της πειραματικής διάταξης της τεχνικής LIBS-SSI-MS.

Για το σχηματισμό πλάσματος στο αερόλυμα χρησιμοποιείται παλμικό λέιζερ τύπου Q-Switched Nd:YAG (Surelite II, Continuum), το οποίο εκπέμπει στα 1064 nm παλμούς χρονοδιάρκειας τ<sub>Pulse</sub> = 8 ns ( $\beta\lambda$ . 3.1.2). Η ακτινοβολία λέιζερ κατευθύνεται μέσω κατάλληλων κατόπτρων προς το συγκεντρωτικό φακό (f = + 50 mm) και εστιάζεται στην περιοχή ανάμεσα στο ακροφύσιο του εκνεφωτή και την είσοδο του φασματομέτρου μάζας κάθετα ως προς τον άξονα του εκνεφωτή. Ο συγκεντρωτικός φακός τοποθετείται σε ένα όμοιο σύστημα μετακίνησης x-y-z, έτσι ώστε να ρυθμίζεται η θέση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος σε σχέση με τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή. Η βέλτιστη αλληλεπίδραση του παλμού λέιζερ και του σχηματιζόμενου πλάσματος με το αερόλυμα επιτυγχάνεται όταν ο άξονας ψεκασμού του εκνεφωτή είναι μετατοπισμένος κατά 2 mm πριν από την εστιακή περιοχή του φακού. Η συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα πραγματοποιείται κάθετα στο επίπεδο που ορίζεται από τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή και τον άξονα διάδοσης της ακτινοβολίας λέιζερ μέσω κατάλληλου τηλεσκοπίου. Το τηλεσκόπιο αποτελείται από ένα σύστημα δύο φακών (f = + 50 mm), το οποίο επιτρέπει την απεικόνιση του πλάσματος σε οπτική ίνα διαμέτρου d = 600 μm με λόγο μεγέθυνσης 1:1. Το τηλεσκόπιο και η οπτική ίνα τοποθετούνται σε αντίστοιχα συστήματα μετακίνησης x-y-z, έτσι ώστε να ρυθμίζεται με ακρίβεια η θέση τους, προκειμένου να εξασφαλίζεται η βέλτιστη συλλογή φωτός. Η συλλεγόμενη ακτινοβολία εκπομπής μεταφέρεται μέσω της οπτική ίνας στο φασματογράφο, όπου πραγματοποιείται φασματική ανάλυση και καταγραφή της από ανιχνευτή τύπου ICCD. Για την καταγραφή του φάσματος LIBS με χρονική καθυστέρηση τ<sub>Delay</sub> σε σχέση με τον παλμό λέιζερ, απαιτείται ο συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή, ο οποίος επιτυγχάνεται μέσω παλμογεννήτριας. Η παλμογεννήτρια έχει την ικανότητα εισαγωγής χρονικής καθυστέρησης σε σχέση με κάποιο ηλεκτρικό σήμα σκανδαλισμού (trigger), το οποίο λαμβάνεται από μία φωτοδίοδο ταχείας απόκρισης (rise time ~ 1 ns), η οποία ανιχνεύει την άφιξη του παλμού λέιζερ στην περιοχή εστίασης.

Για την καταγραφή των φασμάτων μάζας ρυθμίζεται η μέγιστη τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας στα 400 ms, η θερμοκρασία στη θερμαινόμενη μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης στους T = 300 °C και το δυναμικό της πηγής στα 20 V. Κάθε φάσμα που λαμβάνεται αντιστοιχεί στο μέσο όρο τριών μεμονωμένων φασμάτων.

#### 4.2. Βελτιστοποίηση συστήματος LIBS-SSI-MS

Για να επιτευχθεί η βέλτιστη ευαισθησία και επαναληψιμότητα στις μετρήσεις LIBS και SSI-MS είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση της γεωμετρίας της πειραματικής διάταξης. Το ακροφύσιο του εκνεφωτή τοποθετείται σε απόσταση 4 – 5 mm από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας έτσι ώστε να υπάρχει αρκετός χώρος για το σχηματισμό πλάσματος. Η σχετική θέση του άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή ως προς την είσοδο του φασματομέτρου μάζας, ρυθμίζεται μέσω του συστήματος μετακίνησης, παρακολουθώντας το σήμα που καταγράφεται από το φασματόμετρο μάζας κατά τη μέτρηση πρότυπου διαλύματος τριφθοροξικού νατρίου (Sodium Tri-Fluoro-Acetate, STFA). Εν συνεχεία ρυθμίζεται η θέση του συστήματος μετακίνησης τριών διαστάσεων, έτσι ώστε η εστιακή περιοχή να ευρίσκεται 2 mm μετά τον άζονα ψεκασμού του εκνεφωτή. Η γεωμετρία αυτή επιτρέπει τη βέλτιστη αλληλεπίδραση του αερολύματος με τον παλμού λέιζερ ρυθμίζεται στο σχηματιζόμενο πλάσμα. Η ροή του αργού ρυθμίζεται στα 0.65 L/min, ο ρυθμός αναρρόφησης του δείγματος είναι 15 μL/min και η τιμή της ενέργειας του παλμού λέιζερ ρυθμίζεται ως E<sub>Pulse</sub> = 350 mJ.

#### 4.3. Επίδραση της παρουσίας του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας

Η διαδικασία σχηματισμού πλάσματος στον ατμοσφαιρικό αέρα και το εκνέφωμα είναι μία αρκετά βίαιη διεργασία, η οποία οδηγεί σε διαταραχή του περιβάλλοντος στην περιοχή όπου λαμβάνει χώρα. Λόγω του ότι ο σχηματισμός του πλάσματος πραγματοποιείται στην περιοχή μπροστά από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας, η διερεύνηση της επίδρασης που έχει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας είναι αναγκαία. Έχει παρατηρηθεί πειραματικά ότι ο σχηματισμός πλάσματος σε ατμοσφαιρικές συνθήκες οδηγεί στη δημιουργία μορίων, τα οποία προάγουν τις διαδικασίες μεταφοράς φορτίου όπως τα  $O_2^+$ ,  $NO^+$  και  $O_3^+$ , καθώς και συστάδων μορίων (clusters) της μορφής  $[(H_2O)_nH^+]^+$  και  $[(NH_3) (H_2O)_n H^+]^+$  [3,4].

Για τη διερεύνηση της επίδρασης που έχει η παρουσία του πλάσματος, κοντά στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας, στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας πραγματοποιήθηκε σειρά μελετών σε πρότυπα διαλύματα ομοιοπολικών ενώσεων, πεπτιδίων, πρωτεϊνών, και ενώσεων συναρμογής. Κατά τη διεξαγωγή των μελετών ο ρυθμός επανάληψης του λέιζερ ( $f_{Laser}$ ) ρυθμίστηκε στα 10 Hz και η ενέργεια του παλμού λέιζερ διατηρήθηκε σταθερή,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ, ενώ είχε απενεργοποιηθεί η λειτουργία automatic gain control (AGC) του φασματομέτρου μάζας. Η λειτουργία AGC καθορίζει αυτόματα το χρόνο συλλογής της ιοντικής παγίδας ανάλογα με την τιμή της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται, έτσι ώστε να αποφευχθεί η υπερφόρτωσή της με ιόντα. Να σημειωθεί ότι δεν κατέστη δυνατός ο συγχρονισμός του λέιζερ με το φασματόμετρο μάζας, καθώς το φασματόμετρο μάζας δεν διαθέτει ηλεκτρονικά κατάλληλα για να παρέχουν ηλεκτρικό σήμα σκανδαλισμού τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η καταγραφή του φάσματος μάζας, εξαρτάται από την τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας (τ<sub>MS</sub>), και είναι την καταγραφή δύο διαδοχικών φασμάτων μάζας, εξαρτάται από την τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας (τ<sub>MS</sub>), και είναι t = 680 + τ<sub>MS</sub> ms, τιμή η οποία αντιστοιχεί σε συχνότητα f<sub>MS</sub> = 1.47 Hz (τ<sub>MS</sub> = 0.2 ms).

### 4.3.1. Μελέτη διαλυμάτων τριφθοροξικού νατρίου (STFA)

Το τριφθοροξικό νάτριο (Sodium trifluoro acetate, STFA) χρησιμοποιείται ευρέως για τη βαθμονόμηση των φασματομέτρων μάζας, καθώς έχει την ικανότητα να σχηματίζει θετικά και αρνητικά φορτισμένες συστάδες μορίων (clusters) στην αέρια φάση, με γενικό μοριακό τύπο [(CF<sub>3</sub>COONa)<sub>n</sub>Na]<sup>+</sup> και [(CF<sub>3</sub>COONa)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub>COO]<sup>-</sup> αντίστοιχα, οι οποίες καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος τιμών του λόγου m/z (100-4000) [5]. Ο σχηματισμός των συστάδων του STFA αναμένεται να λειτουργεί ως ένας ευαίσθητος δείκτης για τη μελέτη της επίδρασης του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας, καθώς δεν υπάρχει ομοιοπολικός δεσμός μεταξύ των μορίων στις συστάδες παρά μόνο ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Στο Σχήμα 4.5 παρουσιάζεται τυπικό φάσμα μάζας των αρνητικά και θετικά φορτισμένων συστάδων STFA, ενώ στον Πίνακα 4.1 γίνεται η αντιστοίχιση των κορυφών στα σχηματιζόμενα clusters

του STFA. Στο μελετώμενο εύρος τιμών του λόγου m/z παρατηρούνται συστάδες μορίων με  $2 \le n \le 14$ .



**Σχήμα 4.5.** Φάσμα μάζας των α) θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων συστάδων του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}, F_{Sample} = 15 \text{ μl/min}, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V. τ<sub>MS</sub> = 10 ms.$ 

n	Θετικά ιόντα [(CF3COONa)nNa] <sup>+</sup>	Αρνητικά ιόντα [(CF3COONa)nCF3COO] <sup>-</sup>	n	Θετικά ιόντα [(CF3COONa)nNa] <sup>+</sup>	Αρνητικά ιόντα [(CF3COONa)nCF3COO] <sup>-</sup>
1	158.9	248.9	8	1110.8	1200.8
2	294.9	384.9	9	1246.8	1336.8
3	430.9	520.9	10	1382.7	1472.7
4	566.9	656.9	11	1518.7	1608.7
5	702.9	792.8	12	1654.7	1744.7
6	838.8	928.8	13	1790.7	1880.7
7	974.8	1064.8	14	1926.6	2016.6

Πίνακας 4.1. Δομή και μοριακό βάρος των θετικά και αρνητικά φορτισμένων συστάδων μορίων STFA που παρατηρούνται στα φάσματα μάζας.

Στο Σχήμα 4.6 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος (Total Ion Current, TIC) που καταγράφεται από το φασματόμετρο μάζας, κατά τη μέτρηση των αρνητικά (0 < t < 0.7 και 2.7 < t < 4.2 min) και θετικά φορτισμένων (0.7 < t < 1.4 και 1.4 < t < 2.7 min) συστάδων του STFA, με το λέιζερ να βρίσκεται εκτός λειτουργίας (t < 1.4 min) και σε λειτουργία.

Στο χρονικό διάστημα κατά το οποίο το λέιζερ ευρίσκεται σε λειτουργία (t > 1.4 min), λαμβάνει χώρα ο σχηματισμός πλάσματος μεταξύ του ακροφυσίου του εκνεφωτή και της εισόδου του φασματομέτρου μάζας και παρατηρείται περιοδικά η εμφάνιση κορυφών, ενώ αντίστοιχη συμπεριφορά δεν παρατηρείται όταν το λέιζερ βρίσκεται εκτός λειτουργίας. Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται στην παρουσία του πλάσματος τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η καταγραφή του φάσματος μάζας.



**Σχήμα 4.6.** Χρονική εξέλιξη του ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται από το φασματόμετρο μάζας, κατά τη μέτρηση δείγματος STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300°C,  $E_{Pulse}$ = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$  = 10 ms.

Η εμφάνιση των κορυφών είναι περιοδική, καθώς η συχνότητα σχηματισμού πλάσματος όπως και η συχνότητα καταγραφής των φασμάτων μάζας διατηρούνται σταθερές, οπότε τα δύο γεγονότα βρίσκονται περιοδικά σε φάση (σύμπτωση) και εκτός φάσης όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.7.



Σχήμα 4.7. Σχηματική αναπαράσταση της πιθανότητας σύμπτωσης των δύο γεγονότων. Λόγω της διαφοράς τιμής μεταξύ της συχνότητας σχηματισμού πλάσματος (f<sub>Laser</sub> = 10 Hz) και της συχνότητας καταγραφής των φασμάτων μάζας (1.45 Hz), δεν είναι εφικτή η πλήρης σύμπτωση των δύο γεγονότων.

Η τιμή του ιοντικού ρεύματος υπολογίζεται από το άθροισμα των εντάσεων όλων των κορυφών που εμφανίζονται στο φάσμα μάζας σύμφωνα με την εξίσωση:

$$TIC = \sum_{i}^{k} I_{m/z}(i) \qquad (4.1)$$

Στην περίπτωση των θετικά φορτισμένων μορίων του STFA, όταν υπάρχει σύμπτωση των δύο γεγονότων, παρατηρείται παροδική αύξηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά δύο τάξεις μεγέθους, ενώ στην περίπτωση των αρνητικά φορτισμένων μορίων κατά μία τάξη μεγέθους. Δεδομένου ότι ο χρόνος συλλογής της ιοντικής παγίδας παραμένει αμετάβλητος, όπως και η ροή του αερολύματος STFA, γίνεται σαφές ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί σε σχηματισμό νέων χημικών οντοτήτων, οι οποίες, εν συνεχεία, ανιχνεύονται από το φασματόμετρο μάζας, με αποτέλεσμα να παρατηρείται απότομη αύξηση στην τιμή του ολικού ιοντικού ρεύματος. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συμπεριφορά αυτή, δηλαδή η εμφάνιση των κορυφών παρουσία του πλάσματος, παρατηρείται ακόμη και όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται εκτός λειτουργίας, δηλαδή υπό συνθήκες στις οποίες το φασματόμετρο μάζας δεν τροφοδοτείται με δείγμα, οπότε η τιμή του ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται είναι μηδενική. Στις συνθήκες αυτές ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα στο στατικό αέρα και όχι σε περιβάλλον σταγονιδίων αερολύματος, οπότε η εμφάνιση των κορυφών οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η παρουσία του πλάσματος είναι υπεύθυνη για τη συμπεριφορά αυτή.

Δεδομένου ότι τα δύο συστήματα λειτουργούν άνευ συγχρονισμού, η πιθανότητα σύμπτωσης των δύο γεγονότων (δημιουργίας πλάσματος και καταγραφής φάσματος μάζας) εξαρτάται άμεσα από την τιμή του χρόνου συλλογής (τ<sub>MS</sub>) της ιοντικής παγίδας. Στο Σχήμα 4.8 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη του ιοντικού ρεύματος για διαφορετικές τιμές του χρόνου ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας, και παρατηρείται ότι η αύξηση της τιμής του τ<sub>MS</sub> οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των κορυφών που παρατηρούνται ανά μονάδα χρόνου.



**Σχήμα 4.8.** Χρονική εξέλιξη ιοντικού ρεύματος για διάφορες τιμές του χρόνου τ<sub>MS</sub>. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300°C,  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}$ ,  $F_{Sample} = 15 \text{ μl/min}$ , Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.

Η συμπεριφορά αυτή είναι αναμενόμενη διότι η αύξηση της τιμής του τ<sub>MS</sub> οδηγεί σε αύξηση της πιθανότητας σύμπτωσης των δύο γεγονότων. Όταν τ<sub>MS</sub> = 100 ms, σε κάθε φάσμα μάζας καταγράφεται το αποτέλεσμα της επίδρασης από τουλάχιστον έναν παλμό λέιζερ, ενώ υπάρχει πιθανότητα να βρεθεί και δεύτερος παλμός λέιζερ, εντός του χρονικού εύρους καταγραφής του φάσματος μάζας. Με βάση τις συχνότητες επανάληψης των δύο γεγονότων, δηλαδή της συχνότητας σχηματισμού πλάσματος και της συχνότητας καταγραφής των φασμάτων μάζας, είναι εφικτός ο υπολογισμός της πιθανότητας σύμπτωσης. Επειδή πρακτικά υπάρχει διακύμανση του χρόνου που μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών μετρήσεων στο φασματόμετρο μάζας κατά ± 10 ms είναι αδύνατη η ακριβής προσομοίωση της αναμενόμενης συμπεριφοράς. Στον Πίνακα 4.2 παρουσιάζεται η αναμενόμενη τιμή της πιθανότητας σύμπτωσης των δύο γεγονότων, συγκριτικά με αυτή που μετράται πειραματικά, με βάση τον αριθμό των κορυφών που εμφανίζονται στο διάγραμμα της χρονικής εξέλιξης του TIC, για διαφορετικές τιμές του χρόνου συλλογής της ιοντικής παγίδας.

Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι σε 100 δευτερόλεπτα έχουν πραγματοποιηθεί περίπου 140 μετρήσεις από το φασματόμετρο μάζας (τ<sub>MS</sub> = 50 ms), ενώ ο σχηματισμός πλάσματος έχει πραγματοποιηθεί 1000 φορές, σύμπτωση παρατηρείται μόνο σε 69 γεγονότα καταγραφής του φάσματος μάζας, τιμή που αντιστοιχεί σε ποσοστό 50% επί των συνολικών φασμάτων μάζας που καταγράφηκαν στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

Πίνακας 4.2. Πιθανότητα σύμπτωσης των δύο μετρήσεων για διαφορετικές τιμές του χρόνου ολοκλήρωσης του φασματομέτρου μάζας. Ο ρυθμός επανάληψης του λέιζερ διατηρείται σταθερός στα 10 Hz.

Ρυθμός επανάληψης MS (Hz)	Χρόνος ολοκλήρωσης παγίδας (ms)	Πιθανότητα σύμπτωσης / 100 s (υπολογισμός)	Πειραματική τιμή συμπτώσεων / 100 s
1.39	50	68	69
1.43	20	101	111
1.45	10	25	19
1.46	1	6	10

Κατά τη διεξαγωγή των μετρήσεων LIBS-SSI-MS το λέιζερ λειτουργεί σε συχνότητα  $f_{Laser} = 5$  Hz, οπότε η τιμή της πιθανότητας σύμπτωσης αναμένεται να μειωθεί στο μισό. Είναι ενδιαφέρον ότι για τιμές του τ<sub>MS</sub> < 10 ms η πιθανότητα σύμπτωσης των δύο γεγονότων είναι μικρότερη από 10 %.

Στο Σχήμα 4.9 παρουσιάζεται η εξάρτηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος από την τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας (τ<sub>MS</sub>), όταν το λέιζερ βρίσκεται σε λειτουργία και εκτός λειτουργίας. Η εξάρτηση του TIC από την τιμή του τ<sub>MS</sub> όταν το λέιζερ δεν ακτινοβολεί το αερόλυμα παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά όπως αναμένεται, η οποία διατηρείται στην περίπτωση που το λέιζερ είναι σε λειτουργία, ενώ παρατηρείται κατακόρυφη μετατόπιση της καμπύλης προς υψηλότερες τιμές TIC.



**Σχήμα 4.9.** Εξάρτηση της μέσης τιμής του ολικού ιοντικού ρευματος από την τιμή του τ<sub>MS</sub> όταν το λέιζερ είναι σε λειτουργία και εκτός λειτουργίας α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα του STFA σε λογαριθμική κλίμακα. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.

Η κατακόρυφη μετατόπιση δηλώνει ότι υπάρχει μία σταθερή αύξηση στην τιμή της έντασης του σήματος που καταγράφεται όταν το λέιζερ βρίσκεται σε λειτουργία, η οποία οφείλεται στην αύξηση της πιθανότητας σύμπτωσης των δύο γεγονότων. Ωστόσο δεν μπορεί να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο επίδρασης από γεγονότα σχηματισμού πλάσματος, τα οποία ήταν οριακά εκτός φάσης σε σχέση με την καταγραφή του φάσματος μάζας, καθώς η χρονική διάρκεια της διαταραχής που προκαλείται από το πλάσμα είναι της τάξης των 0.1-1 ms.

Στο Σχήμα 4.10 παρουσιάζονται τα φάσματα μάζας των θετικά και αρνητικά φορτισμένων συστάδων του STFA, τα οποία αντιστοιχούν στο μέσο όρο των φασμάτων που καταγράφονται όταν παρατηρείται τοπικό μέγιστο στο ιοντικό ρεύμα (Σχ.4.6), δηλαδή όταν υπάρχει παρουσία του πλάσματος τη στιγμή που πραγματοποιείται η καταγραφή του φάσματος μάζας. Στα φάσματα SSI-MS που αντιστοιχούν στα μέγιστα του ιοντικού ρεύματος παρατηρείται έντονη αύξηση του αριθμού των γραμμών που εμφανίζονται, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στο σχηματισμό νέων χημικών ενώσεων, οι οποίες, εν συνεχεία, ανιχνεύονται από το φασματόμετρο μάζας.

Οι κορυφές που εμφανίζονται απέχουν μεταξύ τους κατά 17 m/z, διαφορά η οποία μπορεί να αποδοθεί στην προσθήκη μορίων OH στις συστάδες που σχηματίζουν τα μόρια του STFA. Να σημειωθεί ότι το φάσμα LIBS (Σχ. 4.2β) αποτελεί αποδεικτικό στοιχείο της παρουσίας μορίων OH στο πλάσμα καθώς παρατηρείται η χαρακτηριστική ταινία εκπομπής από διεγερμένα μόρια OH ( $A^2\Sigma^+ \rightarrow X^2\Pi$ ) στα 308 nm.

98



**Σχήμα 4.10.** α) Φάσμα μάζας των θετικά φορτισμένων ιόντων του STFA που αντιστοιχεί στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spikes), β) σε μεγέθυνση η περιοχή από 980-1020 m/z, γ) Φάσμα μάζας των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του STFA που αντιστοιχεί στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spikes) και δ) σε μεγέθυνση η περιοχή από 1060-1210 m/z. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $τ_{MS}$ = 10 ms.

Για την ταυτοποίηση των ενώσεων που σχηματίζονται, πραγματοποιήθηκαν πειράματα διαδοχικής φασματομετρίας μάζας (MS/MS), κατά τη διεξαγωγή των οποίων ο χρόνος ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας αυξήθηκε στα 100 ms, έτσι ώστε σε κάθε φάσμα μάζας να καταγράφεται το αποτέλεσμα της επίδρασης από τουλάχιστον ένα γεγονός σχηματισμού πλάσματος και να γίνεται εφικτή η μελέτη των ειδών που σχηματίζονται λόγω της παρουσίας του πλάσματος. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε η κορυφή στα 1501 m/z, όπως παρουσιάζεται στο φάσμα μάζας του Σχήματος 4.11. Η κορυφή που επιλέχθηκε εμφανίζεται μόνο όταν υπάρχει σύμπτωση των δύο γεγονότων, όποτε είναι αντιπροσωπευτική της ταυτότητας των ενώσεων που σχηματίζονται παρουσία του πλάσματος.

Στον Πίνακα 4.3 παρουσιάζονται οι κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα MS/MS καθώς και τα χημικά είδη στα οποία αντιστοιχούν. Γίνεται αντιληπτό ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στο σχηματισμό μορίων OH τα οποία, εν συνεχεία, αντιδρούν με τα clusters του STFA σχηματίζοντας νέες συστάδες μορίων.



**Σχήμα 4.11**. Φάσμα MS/MS της κορυφής σε m/z=1501 που παρατηρείται στο φάσμα των θετικά φορτισμένων ιόντων του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300°C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V, τ<sub>MS</sub>= 10 ms.

Οι συστάδες των μορίων του STFA με τα μόρια OH μπορούν να περιγραφούν από τους τύπους  $[(CF_3COONa)_n(OH)_mNa]^+$  και  $[(CF_3COONa)_n(OH)_mCF_3COO]^-$  όπου m = 1, 2, ..., 7. Να σημειωθεί ότι παρατηρείται και ο σχηματισμός συστάδων των θετικά φορτισμένων ιόντων νατρίου με τα μόρια OH που μπορούν να περιγραφούν με το γενικό μοριακό τύπο  $[Na(OH)_n]^+$ , όπου n = 5, 10, 15, ...,.

m/z	Είδος	m/z	Είδος
1501	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>9</sub> (OH) <sub>7</sub> Na] <sup>+</sup>	1143.4	$[(CF_3COONa)_7(OH)_2Na]^+$
1414.6	$[(CF_3COONa)_9(OH)_2Na]^+$	1091.7	$[(CF_3COONa)_6(OH)_7Na]^+$
1363.8	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>8</sub> (OH) <sub>7</sub> Na] <sup>+</sup>	1042.8	$[(CF_3COONa)_6(OH)_4Na]^+$
1330.8	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>8</sub> (OH) <sub>5</sub> Na] <sup>+</sup>	1024.9	$[(CF_3COONa)_6(OH)_3Na]^+$
1278.7	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>8</sub> (OH) <sub>2</sub> Na] <sup>+</sup>	1006.9	$[(CF_3COONa)_6(OH)_2Na]^+$
1228.8	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>7</sub> (OH) <sub>7</sub> Na] <sup>+</sup>	923.6	$[(CF_3COONa)_5(OH)_5Na]^+$
1193.7	[(CF <sub>3</sub> COONa) <sub>7</sub> (OH) <sub>5</sub> Na] <sup>+</sup>	872.6	$[(CF_3COONa)_5(OH)_2Na]^+$

Πίνακας 4.3. Κορυφές που εμφανίζονται στο φάσμα MS/MS του STFA.

Ανακεφαλαιώνοντας, η έντονη και παροδική αύξηση στην τιμή του ΤΙC που παρατηρείται όταν υπάρχει παρουσία του πλάσματος τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η καταγραφή του φάσματος αποδίδεται στο σχηματισμό νέων χημικών ειδών, το κύριο συστατικό των οποίων αποτελούν τα μόρια του STFA. Δεδομένου ότι η τιμή του ολικού ιοντικού ρεύματος είναι ανάλογη της μάζας του αναλύτη, που ανιχνεύεται από το φασματόμετρο μάζας, ο χρόνος συλλογής της ιοντικής παγίδας παραμένει αμετάβλητος όπως και η ροή του STFA, γίνεται σαφές ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί σε αύξηση της μάζας του STFA που ανιχνεύεται από το φασματόμετρο μάζας. Το συμπέρασμα που προκύπτει ενισχύεται από τη χημική δομή των ειδών που σχηματίζονται λόγω της παρουσίας του πλάσματος, καθώς όλα τα νέα είδη έχουν ως δομική μονάδα τα μόρια του STFA.

Για το σχηματισμό των συστάδων του STFA με τα μόρια OH απαιτείται κρούση στην αέρια φάση παρουσία τρίτου σώματος, των μορίων ΟΗ με τα ήδη υπάρχοντα cluster του STFA. Οι διεργασίες αυτές ευνοούνται στην περιοχή σχηματισμού του πλάσματος, όπως και στην περιοχή που καταλαμβάνει το ωστικό κύμα που δημιουργείται από την εκτόνωση του πλάσματος, καθώς εκεί αναμένεται να υπάρχει υψηλότερη αριθμητική πυκνότητα μορίων ΟΗ. Τα μόρια ΟΗ μπορούν να σχηματιστούν στο πλάσμα κατά την κρούση ατόμων υδρογόνου και οξυγόνου παρουσία τρίτου σώματος, είτε απευθείας κατά τη διάσπαση των μορίων νερού. Δεδομένου ότι η πίεση μειώνεται σταδιακά κατά την είσοδο των μορίων στο φασματόμετρο μάζας, με αποτέλεσμα να προκαλείται αύξηση της μέσης ελεύθερης διαδρομής των μορίων, η οποία οδηγεί σε μείωση της πιθανότητας κρούσης, προκύπτει ως λογικό συμπέρασμα ότι ο σχηματισμός των συστάδων STFA-OH πραγματοποιείται πριν την είσοδο των μορίων στο φασματόμετρο μάζας. Σε περίπτωση που τα μόρια του STFA δεν βρίσκονταν στην αέρια φάση αλλά στα σταγονίδια, τα μόρια ΟΗ θα αντιδρούσαν κατά προτίμηση με τα μόρια του διαλύτη (1:1 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN), καθώς υπάρχουν σε σημαντικά υψηλότερη συγκέντρωση, με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται σημαντικά ο σχηματισμός των συστάδων STFA-OH.

Οι διεργασίες που συντελούνται στο πλάσμα, όταν ο σχηματισμός του λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον σταγονιδίων αερολύματος διαφέρουν ανάλογα με το στάδιο της ζωής του πλάσματος. Όπως έχει αναφερθεί και προηγουμένως το πλάσμα μπορεί να θεωρηθεί ως ένα μερικώς ιοντισμένο αέριο, η θερμοκρασία του οποίου, στα πρώτα ns μετά το σχηματισμό του, είναι υψηλότερη των 10000 Κ. Γίνεται αντιληπτό ότι σε αυτές τις συνθήκες προκαλείται πλήρης ατομοποίηση των σταγονιδίων του αερολύματος που βρίσκονται εντός του πλάσματος, με αποτέλεσμα να υπάρχει εμπλουτισμός του πλάσματος με άτομα νατρίου, άνθρακα και φθορίου. Σε αυτήν τη φάση πρέπει να αναφερθεί ότι ο ψεκασμός των σταγονιδίων από τον εκνεφωτή δεν είναι συνεχής αλλά πραγματοποιείται κατά ριπάς με αποτέλεσμα να υπάρχει μεταβλητός αριθμός σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος, συμπεριφορά η οποία αναλύεται στο Κεφάλαιο 5 (βλ. 5.5.). Αν θεωρηθεί ότι ο χρόνος παραμονής του πλάσματος είναι 0.1-1 ms, ένα σταγονίδιο που ταξιδεύει από το ακροφύσιο του εκνεφωτή προς το φασματόμετρο μάζας, με ταχύτητα της τάξης των 100 m/s, θα διέλθει από την περιοχή σχηματισμού πλάσματος μετά από 20 μs, αν υποτεθεί ότι ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιήθηκε τη στιγμή διέλευσης του σταγονιδίου από το ακροφύσιο του εκνεφωτή. Στις συνθήκες αυτές η θερμοκρασία του πλάσματος είναι αρκετά

101

υψηλή, ώστε να προκαλεί εξάτμιση των νεο-εισερχόμενων σταγονιδίων, αλλά αδυνατεί να προκαλέσει την πλήρη ατομοποίηση των συστατικών τους. Το παραπάνω σενάριο δεν αποκλείει την αλληλεπίδραση σταγονιδίων που βρίσκονται «κοντά» στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας με το μέτωπο του πλάσματος που κινείται προς εκείνη την κατεύθυνση. Λόγω της βιαιότητας των διεργασιών εκτόνωσης του πλάσματος, η θερμοκρασία στο μέτωπο του πλάσματος αναμένεται να είναι μικρότερη σε σχέση με τον πυρήνα του πλάσματος, λόγω της έντονης αλληλεπίδρασης με το περιβάλλον, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται αντίστοιχες συνθήκες που να επιτρέπουν το σχηματισμό των συστάδων [(CF<sub>3</sub>COONa)<sub>n</sub>(OH)<sub>m</sub>Na]<sup>+</sup> και [(CF<sub>3</sub>COONa)<sub>n</sub>(OH)<sub>m</sub>CF<sub>3</sub>COO]<sup>-</sup>, οι οποίες, εν συνεχεία, ανιχνεύονται από το φασματόμετρο μάζας. Σε αυτές τις συνθήκες ευνοείται και η αντίδραση των κατιόντων νατρίου με τα αρνητικά φορτισμένες συστάδες του STFA, καθώς η προσθήκη δύο ατόμων νατρίου στις αρνητικό και μπορεί να ερμηνεύσει τη μικρότερη ένταση των μεγίστων του ιοντικού ρεύματος (spikes), τα οποία παρατηρούνται κατά την παρακολούθηση των αρνητικά φορτισμένω.

# $2Na^{+} + [(CF_{3}COONa)_{n}CF_{3}COO]^{-} \rightarrow [(CF_{3}COONa)_{n+1}Na]^{+}$

Είναι φανερό ότι η επίδραση του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας είναι έντονη, αλλά χρονικά περιορισμένη λόγω της πεπερασμένης χρονικής διάρκειας της διαταραχής που προκαλείται από το πλάσμα. Αν αναλογιστεί κανείς ότι η διάρκεια της διαταραχής είναι περίπου 100 μs, τιμή η οποία είναι μικρότερη τουλάχιστον κατά δύο τάξεις μεγέθους συγκριτικά με το χρόνο ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η παρουσία του πλάσματος αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία της φασματομετρίας μάζας καθώς αυξάνεται σημαντικά η αποτελεσματικότητα των διεργασιών εξάτμισης με αποτέλεσμα το φασματόμετρο μάζας να εκμεταλλεύεται σημαντικά υψηλότερο όγκο του αερολύματος. Στο φασματόμετρο μάζας ο σχηματισμός των ιόντων στην αέρια φάση γίνεται κατά τη διέλευση των σταγονιδίων από τη θερμαινόμενη τριχοειδή στήλη ενδιάμεσης πίεσης, της οποίας η θερμοκρασία ρυθμίζεται στους 300 °C. Σε αυτές τις συνθήκες είναι αδύνατον να εξατμιστούν σταγονίδια μεγάλου μεγέθους (διάμετρος σταγονιδίου > 10 μm), οπότε η ανεπαρκής (μη πλήρης) εξάτμιση αποτελεί περιοριστικό παράγοντα όσον αφορά την ικανότητα εκμετάλλευσης των σταγονιδίων από το φασματόμετρο μάζας. Να σημειωθεί ότι το συγκεκριμένο φασματόμετρο μάζας είναι σχεδιασμένο να λειτουργεί με πηγή ηλεκτροψεκασμού, στην οποία δεν απαιτείται η χρήση υψηλότερης θερμοκρασίας για την εξάτμιση των σταγονιδίων. Συμπεραίνουμε ότι το μέγεθος των σταγονιδίων που παράγονται από τον εκνεφωτή έχει σημαντική επίδραση στην

102

ευαισθησία της φασματομετρίας μάζας και ότι η παρουσία του πλάσματος αυξάνει σημαντικά την ευαισθησία της μέτρησης για τις δεδομένες συνθήκες λειτουργίας.

#### 4.3.2. Ανάλυση Γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη είναι ένα τριπεπτίδιο, το οποίο αποτελείται από γλουταμινικό οξύ, κυστεΐνη και γλυκίνη (γ-Glu-Cys-Gly, Σχ. 4.12). Είναι η πιο μικρή και άφθονη θειόλη που παράγεται στα κύτταρα και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο, καθώς αποτελεί ισχυρό αντιοξειδωτικό παράγοντα. Η προστατευτική δράση του πεπτιδίου αφορά τις βλάβες από οξείδωση, επιδρά στα ηλεκτρονιόφιλα που έρχονται από ξένους οργανισμούς και είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση της οξειδωτικής ομοιόστασης.

Για τη μελέτη της επίδρασης που έχει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας της γλουταθειόνης παρασκευάστηκε υδατικό διάλυμα του πεπτιδίου συγκέντρωσης 10 μg/mL. Το ισοηλεκτρικό σημείο (pI) του πεπτιδίου είναι pI = 6.09, οπότε σε pH = 7 αναμένεται να είναι αρνητικά φορτισμένο.



Σχήμα 4.12. Χημική δομή της ανηγμένης γλουταθειόνης ( $C_{10}H_{17}N_3O_6S$ ).

Στο Σχήμα 4.13 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της τιμής της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος, κατά την παρακολούθηση των θετικά και αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης, με το λέιζερ σε λειτουργία και εκτός λειτουργίας. Παρόλο που στις συγκεκριμένες συνθήκες pH αναμένεται να υπερισχύει η αρνητικά φορτισμένη μορφή του πεπτιδίου, ανιχνεύονται και θετικά φορτισμένα μόρια, γεγονός που αποδίδεται στις διεργασίες υπερηχητικού ιοντισμού. Όταν το λέιζερ είναι σε λειτουργία παρατηρείται μείωση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος στο ήμισυ, όταν υπάρχει σύμπτωση, στην περίπτωση των θετικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης, ενώ στην περίπτωση των αρνητικά φορτισμένων μορίων της είναι σε λειτουργία παρατηρείται αύξηση.

Στο Σχήμα. 4.14 παρουσιάζονται τα φάσματα μάζας των θετικά και αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης παρουσία και απουσία παλμών λέιζερ, καθώς και το μέσο φάσμα που καταγράφεται όταν παρατηρείται ελάχιστο στο ιοντικό ρεύμα. Στο φάσμα μάζας που λαμβάνεται κατά την παρακολούθηση των θετικά φορτισμένων μορίων, παρατηρείται ότι η ένταση των κορυφών αυξάνεται παρουσία του πλάσματος, ακόμα και στις περιπτώσεις που παρατηρείται ελάχιστο στο ΤΙC.



Σχήμα 4.13. Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά την παρακολούθηση α) των θετικά και β) των αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  = 15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$ = 10 ms.

Στα φάσματα μάζας που αντιστοιχούν στην καταγραφή των αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης παρατηρείται αύξηση στην ένταση της κορυφής που αντιστοιχεί στο μονομερές της γλουταθειόνης και μείωση στις εντάσεις των κορυφών που αντιστοιχούν σε διμερή και τριμερή της γλουταθειόνης. Η συμπεριφορά αυτή υποδηλώνει ότι η εμφάνιση των αρνητικών κορυφών οφείλεται κυρίως στη μήτρα του διαλύματος, δηλαδή στο νερό, καθώς η διακύμανση στις εντάσεις των κορυφών που αντιστοιχούν στα ιόντα της γλουταθειόνης θα έδινε την αντίθετη συμπεριφορά.



Σχήμα 4.14. Φάσματα μάζας των α) θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης.

Στο Σχήμα 4.15, παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος, που καταγράφεται κατά τη μέτρηση του νερού, το οποίο αποτελεί τη μήτρα στην οποία είναι διαλυμένη η γλουταθειόνη. Παρουσία του πλάσματος παρατηρείται μείωση της μέσης τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται στα θετικά και τα αρνητικά ιόντα. Στην περίπτωση των θετικών ιόντων η συμπεριφορά αυτή είναι πιο έντονη, ενώ εμφανίζονται και οι αρνητικές κορυφές όπως και στην περίπτωση της γλουταθειόνης.



**Σχήμα 4.15.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά την παρακολούθηση α) των θετικά και β) αρνητικά φορτισμένων ενώσεων που περιέχονται στο νερό. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$ = 10 ms.

Η παρουσία του πλάσματος μειώνει την ποσότητα του νερού που εισέρχεται στο φασματόμετρο μάζας, η οποία οδηγεί στην παρατηρούμενη πτώση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος. Το σήμα που καταγράφεται αποτελεί υπόβαθρο, το οποίο οφείλεται στην επαναδιάλυση και μεταφορά στην αέρια φάση ενώσεων που έχουν εναποτεθεί στη θερμαινόμενη μεταφορική στήλη ενδιάμεσης πίεσης. Όταν υπάρχει σύμπτωση, η μείωση είναι εντονότερη καθώς το αερόλυμα αλληλεπιδρά με την πιο ενεργό κατάσταση του πλάσματος, οπότε επιτυγχάνεται εκμετάλλευση μεγαλύτερου όγκου σταγονιδίων. Η μείωση της μέσης τιμής του ιοντικού ρεύματος υποδηλώνει ότι υπάρχει επίδραση ακόμα και όταν δεν υπάρχει πλήρης σύμπτωση.

Όπως συζητήθηκε στην περίπτωση του STFA η παρουσία του πλάσματος ευνοεί τις διεργασίες εξάτμισης των σταγονιδίων που έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της αριθμητικής πυκνότητας των μορίων του αναλύτη στην αέρια φάση, η οποία κατ' επέκταση οδηγεί σε αύξηση της τιμής της έντασης των κορυφών. Το φαινόμενο έχει περιορισμένη επίδραση στην περίπτωση της γλουταθειόνης, συμπεριφορά η οποία υποδηλώνει ότι ενδεχομένως υπάρχει ένας δεύτερος μηχανισμός, που προκαλεί απόσβεση των θετικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης. Λαμβάνοντας υπ' όψην ότι παρουσία του πλάσματος πραγματοποιείται σχηματισμός ριζών OH, υπάρχει πιθανότητα αντίδρασης μεταξύ των θετικά φορτισμένων μορίων της γλουταθειόνης και των μορίων OH στην αέρια φάση, η οποία οδηγεί σε αποφόρτιση των μορίων της γλουταθειόνης σύμφωνα με την αντίδραση:

 $[C_{10}H_{17}N_3O_6S]^+ + OH \rightarrow C_{10}H_{16}N_3O_6S + H_2O^+$ 

Η αντίδραση της ρίζας ΟΗ με τη θετικά φορτισμένη αμινομάδα της γλουταθειόνης οδηγεί σε απόσπαση του κατιόντος υδρογόνου, με αποτέλεσμα να σχηματίζονται κατιόντα νερού και η ηλεκτρικά ουδέτερη μορφή της γλουταθειόνης.

### 4.3.3. Ανάλυση Μυοσφαιρίνης

Η μυοσφαιρίνη είναι μεταλλοπρωτεΐνη η οποία αποτελείται από περίπου 145 αμινοξέα και είναι υπεύθυνη για τη μεταφορά οξυγόνου στους μύες. Έχει μοριακό βάρος 16955 Da και περιέγει ως συμπαράγοντα ένα μόριο αίμης. Η μελέτη της επίδρασης που έγει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας πραγματοποιήθηκε σε υδατικό διάλυμα το οποίο περιέχει μυοσφαιρίνη σε συγκέντρωση 50 μg/mL. Στο διάλυμα της πρωτεΐνης προστέθηκε οξικό οξύ σε συγκέντρωση 1% ν/ν με σκοπό την πρωτονίωση των βασικών αμινοξέων της πρωτεΐνης, καθώς με τον τρόπο αυτό μειώνεται η τιμή του λόγου m/z, έτσι ώστε να ευρίσκεται εντός του εύρους καταγραφής του φασματομέτρου μάζας. Στο Σχήμα 4.16 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση της μυοσφαιρίνης, με το λέιζερ εκτός λειτουργίας ( $0 \le t \le 1.5 \text{ min}$ ) και εν λειτουργία (t > 1.5min). Όταν το λέιζερ βρίσκεται εν λειτουργία στο διάγραμμα εμφανίζονται κορυφές που δηλώνουν ότι υπάρχει απότομη μεταβολή στην τιμή του ΤΙC, όπως και στην περίπτωση του STFA. Στα τοπικά μέγιστα η ένταση του ιοντικού ρεύματος είναι αυξημένη κατά μία τάξη μεγέθους σε σχέση με την τιμή που λαμβάνεται απουσία παλμών λέιζερ. Επίσης παρατηρείται αύξηση της μέσης τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά 6 φορές στο υπόβαθρο, δηλαδή όταν δεν υπάρχει σύμπτωση των δύο γεγονότων. Η συμπεριφορά αυτή υποδηλώνει ότι η παρουσία του πλάσματος έχει επίδραση στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας ακόμη και όταν τα δύο γεγονότα δεν βρίσκονται σε φάση.



**Σχήμα 4.16.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται κατά τη μέτρηση της μυοσφαιρίνης όταν το λέιζερ βρίσκεται εκτός λειτουργίας (0 < t < 1.5 min) και εν λειτουργία (t > 1.5 min). Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C, E<sub>Pulse</sub> = 350 mJ, F<sub>Ar</sub> = 0.65 L/min, F<sub>Sample</sub> =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V, τ<sub>MS</sub>= 10 ms.

Η αύξηση της έντασης του ιοντικού ρεύματος στο υπόβαθρο, ακόμη και όταν δεν υπάρχει σύμπτωση των δύο γεγονότων, μπορεί να ερμηνευθεί με βάση τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων καθώς και τις διεργασίες που συντελούνται κατά την εξάτμιση των σταγονιδίων. Τα μόρια της πρωτεΐνης έχουν υψηλό φορτίο, με αποτέλεσμα η μικρή απώλεια διαλύτη να οδηγεί σε σημαντική αύξηση των απωστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων. Το όριο Rayleigh δηλώνει το μέγιστο φορτίο (q<sub>R</sub>) το οποίο μπορεί να φέρει μία σταγόνα διαμέτρου D.

$$q_{\rm R} = 8\pi (\epsilon_0 \gamma D^3)^{1/2}$$
 (4.2),

όπου ε<sub>0</sub> η ηλεκτρική επιτρεπτότητα του κενού, γ η επιφανειακή τάση της σταγόνας και D η διάμετρος της σταγόνας. Η μείωση της διαμέτρου των σταγονιδίων, εξαιτίας της εξάτμισης μέρους του διαλύτη, λόγω της αλληλεπίδρασης με το πλάσμα, οδηγεί σε αύξηση της πυκνότητας φορτίου και κατ' επέκταση σε σχάση των σταγονιδίων. Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η παραγωγή σταγονιδίων μικρότερου μεγέθους, τα οποία αξιοποιούνται καλύτερα από το φασματόμετρο μάζας, με αποτέλεσμα την αύξηση της ευαισθησίας της ανάλυσης. Το φαινόμενο αναμένεται να έχει ισχυρότερη επίδραση όταν υπάρχει σύμπτωση των δύο γεγονότων καθώς υπάρχει χρονικά μεγαλύτερη αλληλεπίδραση.

Στο Σχήμα 4.17 παρουσιάζεται το μέσο φάσμα που λαμβάνεται, δηλαδή το φάσμα που αντιστοιχεί στο μέσο όρο όλων των φασμάτων που καταγράφηκαν κατά το χρονικό διάστημα στο οποίο το λέιζερ βρίσκεται σε λειτουργία και αντίστοιχα όταν βρίσκεται εκτός λειτουργίας. Στο φάσμα μάζας της πρωτεΐνης παρατηρείται μια ακολουθία κορυφών οι οποίες αντιστοιχούν σε μόρια της πρωτεΐνης με διαφορετικό βαθμό πρωτονίωσης, καθώς και μια κορυφή η οποία αντιστοιχεί στην αίμη (Heme). Η αίμη απομακρύνεται από την πρωτεΐνη λόγω της αποδιάταξης που υφίσταται το μόριο ως αποτέλεσμα της προσθήκης οξικού οξέος, καθώς είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένη με το μόριο της πρωτεΐνης. Το μέσο φορτίο της πρωτεΐνης (Average Charge State, ACS) μπορεί να υπολογιστεί με βάση τις εντάσεις των κορυφών στο φάσμα μάζας σύμφωνα με την εξίσωση [6]:

$$ACS = (\sum I_i N_i) / \sum I_i$$
(4.3)

όπου I<sub>i</sub> η ένταση της κορυφής και N<sub>i</sub> το φορτίο της πρωτεΐνης που αντιστοιχεί στη συγκεκριμένη κορυφή. Παρατηρείται ότι το φάσμα που λαμβάνεται παρουσία του πλάσματος εμφανίζει υψηλότερη ένταση από το αντίστοιχο που καταγράφεται με το λέιζερ εκτός λειτουργίας, ενώ παρατηρείται και μετατόπιση του μεγίστου της κατανομής φορτίων της πρωτεΐνης από 12, όταν το λέιζερ είναι εκτός λειτουργίας, σε 13.6 όταν υπάρχει επίδραση του πλάσματος. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να θεωρηθεί ως αποτέλεσμα της αποδιάταξης των μορίων της πρωτεΐνης κατά την αλληλεπίδρασή τους με το πλάσμα.



Σχήμα 4.17. Φάσμα μάζας της μυοσφαιρίνης και σε μεγέθυνση η ταινία στα 1700 m/z.

Στο Σχήμα 4.18 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της διεργασίας αποσυνέλιξης (deconvolution) των φασμάτων που ελήφθησαν με το λέιζερ σε λειτουργία και εκτός λειτουργίας. Γίνεται εμφανές ότι η παρουσία του πλάσματος δεν έχει επίδραση στον προσδιορισμό του μοριακού βάρους της πρωτεΐνης, καθώς η τιμή που λαμβάνεται όταν υπάρχει επίδραση από το πλάσμα είναι ίδια με την τιμή που λαμβάνεται απουσία του πλάσματος. Ωστόσο η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στην εμφάνιση νέων κορυφών, οι οποίες αντιστοιχούν σε προσθήκη κατιόντων νατρίου στο μόριο της πρωτεΐνης. Απουσία του πλάσματος παρατηρείται η κορυφή που αντιστοιχεί στην προσθήκη ενός ατόμου νατρίου στο μόριο της πρωτεΐνης, ωστόσο παρουσία του λέιζερ η ένταση της κορυφής αυξάνει κατά 16 φορές. Επιπλέον παρατηρείται η εμφάνιση κορυφών που αντιστοιχούν στην προσθήκη δύο, τριών και περισσοτέρων ατόμων νατρίου στο μόριο της πρωτεΐνης. Η συμπεριφορά αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς υποδηλώνει ότι υπάρχει αντίδραση στην αέρια φάση μεταξύ των μορίων της πρωτεΐνης και των θετικά φορτισμένων ιόντων νατρίου που παράγονται στο πλάσμα.



Σχήμα 4.18. Αποτέλεσμα της διαδικασίας αποσυνέλιξης του φάσματος μάζας στο Σχήμα 4.17.

Γίνεται αντιληπτό ότι η μεταβολή που παρατηρείται στην κατανομή φορτίων της πρωτεΐνης παρουσία του πλάσματος σε συνδυασμό με την εμφάνιση των νέων κορυφών στο
διάγραμμα της αποσυνέλιξης οδηγεί στο συμπέρασμα ότι μέρος των μορίων της πρωτεΐνης μεταφέρονται στην αέρια φάση πριν την είσοδο στο φασματόμετρο μάζας. Στις συνθήκες αυτές η πρωτεΐνη υφίσταται περαιτέρω αποδιάταξη λόγω της υψηλής θερμοκρασίας, ενώ ταυτόχρονα υπάρχει αλληλεπίδραση με τα κατιόντα νατρίου.

# 4.3.4. Εξάρτηση από την ενέργεια του παλμού λέιζερ

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της εξάρτησης της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος από την ενέργεια του παλμού λέιζερ κατά την ανάλυση δείγματος STFA. Για τη διεξαγωγή της μελέτης, ο συγκεντρωτικός φακός μετακινήθηκε έτσι ώστε η εστιακή περιοχή (z<sub>o</sub>) να βρίσκεται κατά μήκος του άξονα εισόδου του φασματομέτρου μάζας, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 4.19. Με τη γεωμετρία αυτή εξασφαλίζεται ότι η επίδραση του πλάσματος θα είναι ανιχνεύσιμη ακόμη και όταν το μέγεθος του πλάσματος, το οποίο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ενέργεια του παλμού λέιζερ, είναι αρκετά μικρό. Ο χρόνος ολοκλήρωσης της ιοντικής παγίδας ρυθμίστηκε στα 90 ms, καθώς έτσι εξασφαλίζεται ότι στο φάσμα μάζας καταγράφεται το αποτέλεσμα που έχει η επίδραση ενός μεμονωμένου παλμού λέιζερ, με την τιμή της πιθανότητας σύμπτωσης να βρίσκεται πολύ κοντά στο 100 %.



**Σχήμα 4.19.** Σχηματική απεικόνιση της θέσης του πλάσματος σε σχέση με τη γεωμετρία της πηγής SSI-MS.

Στο Σχήμα 4.20 παρουσιάζεται η εξάρτηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος από την ενέργεια του παλμού λέιζερ. Να σημειωθεί ότι η τιμή  $E_{Pulse} = 0$  mJ αντιστοιχεί στη μέτρηση απουσία παλμών λέιζερ, οπότε δεν υπάρχει επίδραση από το πλάσμα. Ο σχηματισμός πλάσματος στο αερόλυμα παρατηρείται όταν η τιμή της ενέργειας του παλμού λέιζερ υπερβαίνει τα 50 mJ ( $E_{Pulse} \ge 50$  mJ).

Παρατηρείται ότι η αύξηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί σε αύξηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται κατά περίπου μία τάξη μεγέθους στην περίπτωση των θετικά και αρνητικά φορτισμένων μορίων του STFA. Η αύξηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί στη δημιουργία πλάσματος μεγαλύτερου όγκου, υψηλότερης θερμοκρασίας και ηλεκτρονιακής πυκνότητας, με αποτέλεσμα να αυξάνει ο χρόνος ζωής του. Η αλληλεπίδραση του πλάσματος με το αερόλυμα διαρκεί περισσότερο και έχει ως επακόλουθο την αύξηση της συγκέντρωσης των μορίων ΟΗ, καθώς καταναλώνεται μεγαλύτερος όγκος διαλύτη.



**Σχήμα 4.20.** Εξάρτηση ολικού ιοντικού ρεύματος από την ενέργεια του παλμού λέιζερ α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά ιόντα του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$  = 90 ms.

Στο Σχήμα 4.21 παρουσιάζονται φάσματα SSI-MS των θετικά και αρνητικά φορτισμένων ιόντων του STFA που καταγράφηκαν σε διαφορετικές τιμές της ενέργειας παλμού λέιζερ. Παρατηρείται ότι η αύξηση ενέργειας οδηγεί σε αύξηση της έντασης των κορυφών που αντιστοιχούν στα clusters των μορίων του STFA με τα μόρια OH. Επίσης παρατηρείται μικρή αύξηση και στην ένταση των κορυφών των clusters του STFA. Στην περίπτωση των αρνητικών ιόντων του STFA παρατηρείται σε συμφωνία με τον προτεινόμενο μηχανισμό. Δηλαδή η αντίδραση των αρνητικά φορτισμένων clusters με τα κατιόντα νατρίου στο πλάσμα οδηγεί σε απόσβεσή τους.



Σχήμα 4.21. Φάσματα μάζας α) των θετικά και β) των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του STFA σε διαφορετικές τιμές ενέργειας του παλμού λέιζερ (E<sub>Pulse</sub>).

# 4.3.5. Εξάρτηση από τη θέση του πλάσματος

Η θέση της περιοχής σχηματισμού του πλάσματος σε σχέση με τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ευαισθησία και επαναληψιμότητα των

μετρήσεων LIBS. Όπως έχει αναφερθεί, η βέλτιστη αλληλεπίδραση του σχηματιζόμενου πλάσματος με τα σταγονίδια του αερολύματος επιτυγχάνεται όταν το σημείο εστίασης του φακού είναι μετατοπισμένο κατά 2 mm από τον άξονα ψεκασμού. Αυτό συμβαίνει διότι, στις δεδομένες συνθήκες ακτινοβόλησης, ο σχηματισμός του πλάσματος λαμβάνει χώρα σε απόσταση 2 mm πριν την εστιακή περιοχή. Επομένως, με αυτήν τη γεωμετρία επιτυγχάνεται η βέλτιστη αλληλεπίδραση του σχηματιζόμενου πλάσματος Στο πλαίσιο της παρούσας μελέτης η θέση της περιοχής σχηματισμού του πλάσματος ρυθμίζεται μετακινώντας το συγκεντρωτικό φακό κατά μήκος του άξονα z κάθετα στον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή (άξονας y). Με αυτόν τον τρόπο διατηρείται σταθερή η γεωμετρία της πηγής SSI, δηλαδή η απόκριση της τεχνικής SSI-MS, και επιτρέπεται η μελέτη της επίδρασης που έχει η περιοχή σχηματισμού του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας. Η γεωμετρία της πειραματικής διάταξης παρουσιάζεται στο Σχήμα 4.22. Η διάδοση του παλμού λέιζερ λαμβάνει χώρα με τη φορά που υποδεικνύει ο άξονας z, οπότε η μετακίνηση του πλάσματος προς αυτή την κατεύθυνση ορίζεται ως θετική ενώ προς την αντίθετη κατεύθυνση αρνητική.



Σχήμα 4.22. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης.

Στο Σχήμα 4.23 παρουσιάζεται η εξάρτηση της τιμής της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος από τη θέση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος. Είναι εμφανές ότι η επίδραση του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας ελαττώνεται σημαντικά όταν απομακρυνθεί κατά 4-5 mm από την είσοδο του φασματομέτρου μάζας, με κατεύθυνση αντίθετη της διάδοσης του παλμού λέιζερ. Ωστόσο, η μετακίνηση στην αντίθετη κατεύθυνση δεν οδηγεί σε σημαντική μεταβολή του ιοντικού ρεύματος. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να ερμηνευθεί με βάση την εκτόνωση του πλάσματος. Το μέτωπο του πλάσματος που κινείται με κατεύθυνση αντίθετη της διάδοσης του παλμού λέιζερ είναι πιο ισχυρό, όπως θα συζητηθεί και στο κεφάλαιο 5, με αποτέλεσμα η επίδραση να είναι πιο έντονη.



**Σχήμα 4.23.** Εξάρτηση της τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος από τη θέση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος α) για τα θετικά και β) για τα αρνητικά ιόντα του STFA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $E_{Pulse}$  = 350 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  =15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V,  $\tau_{MS}$  = 90 ms.

# 4.4. Επικύρωση τεχνικής LIBS-SSI-MS

Το κύριο χαρακτηριστικό της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS είναι η ικανότητα εξαγωγής πληροφοριών σχετικών με τη στοιχειακή και τη μοριακή σύσταση των εξεταζόμενων ενώσεων ταυτόχρονα και σε πραγματικό χρόνο. Για την επικύρωση της προτεινόμενης μεθοδολογίας πραγματοποιήθηκε σειρά μελετών σε πρότυπα υδατικά διαλύματα μεταλλικών ιόντων ασβεστίου (Ca<sup>2+</sup>) και βαρίου (Ba<sup>2+</sup>), στα οποία προστέθηκε αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) με σκοπό τον σχηματισμό των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA, αντίστοιχα. Επίσης μελετήθηκε διάλυμα ένωσης συναρμογής μεταλλικών ιόντων χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και ερβίου (Er<sup>3+</sup>), συμπλοκοποιημένων με 4 ανιόντα του 2αμινοϊσοβουτυτικού οξέος (aib), οξικά ανιόντα (CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>), νιτρικά ανιόντα (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) και ανιόντα υδροξυλίου (OH<sup>-</sup>), με γενικό μοριακό τύπο [Cu<sub>6</sub><sup>II</sup>Er<sup>III</sup>(aib)<sub>6</sub>(OH)<sub>3</sub>(OAc)<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]. Τέλος, η μεθοδολογία LIBS-SSI-MS εφαρμόστηκε στην ανάλυση υδατικών διαλυμάτων μεταλλοπρωτεϊνών. Κατά τη διεξαγωγή των μελετών και οι δύο τεχνικές λειτουργούν υπό τυπικές συνθήκες μέτρησης. Πιο συγκεκριμένα το λέιζερ λειτουργεί με ρυθμό επανάληψης 5 Ηz, ενώ η καταγραφή των φασμάτων μάζας πραγματοποιείται έχοντας την λειτουργία AGC ενεργοποιημένη, ενώ κάθε φάσμα μάζας αντιστοιχεί στο μέσο όρο τριών μετρήσεων.

# 4.4.1. Μελέτη συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA

Για την αξιολόγηση της ακρίβειας της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS πραγματοποιήθηκε σειρά μετρήσεων σε πρότυπα υδατικά διαλύματα ιόντων ασβεστίου και βαρίου συμπλοκοποιημένων με EDTA. Για την παρασκευή των συμπλόκων χρησιμοποιήθηκε στερεό EDTA το οποίο διαλύθηκε σε διάλυμα υδροξειδίου του αμμωνίου, στο οποίο έπειτα προστέθηκε η επιθυμητή ποσότητα των ιόντων Ca<sup>2+</sup> ή Ba<sup>2+</sup>.

$$EDTA_{(s)} + 4NH_4OH_{(aq)} \rightarrow (EDTA)^{4-}_{(aq)} + 4NH_{4(aq)}^{+} + 4H_2O_{(l)}$$
$$(EDTA)^{4-}_{(aq)} + 2Ca^{2+}_{(aq)} \rightarrow EDTA(Ca)_{2(aq)}$$

Για τη διάλυση του EDTA στο νερό χρησιμοποιήθηκε υδροξείδιο του αμμωνίου και όχι κάποια άλλη βάση, όπως το υδροξείδιο του νατρίου, λόγω της υψηλής πτητικότητάς του, η οποία ευνοεί την απομάκρυνσή του από τα σταγονίδια σε μορφή αμμωνίας (NH<sub>3</sub>). Να σημειωθεί ότι στα διαλύματα των συμπλόκων το EDTA υπάρχει σε μεγάλη περίσσεια, περισσότερο από δύο τάξεις μεγέθους σε σχέση με τη συγκέντρωση των μεταλλικών ιόντων ασβεστίου και βαρίου, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η πλήρης συναρμογή των μεταλλικών ιόντων στο EDTA.

Στο Σχήμα 4.24 παρουσιάζονται τα φάσματα SSI-MS των θετικά και αρνητικά φορτισμένων συμπλόκων των ιόντων Ca<sup>2+</sup> και Ba<sup>2+</sup> με το EDTA. Η κυρίαρχη κορυφή στα φάσματα αντιστοιχεί στα ιόντα του EDTA. Στα θετικά και τα αρνητικά ιόντα παρατηρείται η ανάπτυξη ομάδων κορυφών, οι οποίες αντιστοιχούν στις φορτισμένες συστάδες που δημιουργούν τα μόρια του EDTA με τα μεταλλικά ιόντα.



**Σχήμα 4.24.** Φάσματα μάζας α) των αρνητικά και β) των θετικά φορτισμένων ιόντων των συμπλόκων Ca-EDTA, και γ) των θετικά και δ) των αρνητικά φορτισμένων ιόντων των συμπλόκων Ba-EDTA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  = 15 μL/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V (Ca-EDTA) και 70 V (Ba-EDTA).

Στον Πίνακα 4.4 παρουσιάζονται οι κορυφές που παρατηρούνται στα φάσματα SSI-MS των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA, καθώς και τα χημικά είδη στα οποία αντιστοιχούν. Να σημειωθεί ότι με αύξηση του δυναμικού επιτάχυνσης της πηγής μπορεί να επιτευχθεί μερική διάσπαση των συστάδων, όπως φαίνεται στην περίπτωση των συμπλόκων Ba-EDTA.

Ca-EDTA				Ba-EDTA			
Ωετικά ιόντα Αονητικά		ητικά ιόντα	Ωετικά ιόντα		Αονητικά ιόντα		
m/7	Cluster	m/z	Cluster	m/z	Cluster	m/z	Cluster
293.3	[EDTA+H] <sup>+</sup>	291.4	[EDTA-H]	293.3	[EDTA+H] <sup>+</sup>	291.4	[EDTA-H] <sup>-</sup>
331.3	[EDTA+Ca <sup>2+</sup> -H] <sup>+</sup>	329.4	[EDTA+Ca <sup>2+</sup> - 3H] <sup>-</sup>	315.4	[EDTA+Na] <sup>+</sup>	427.3	[EDTA+Ba <sup>2+</sup> -3H] <sup>-</sup>
585.1	[2EDTA+H] <sup>+</sup>	583	[2EDTA-2H]	331.3	[EDTA+Ca <sup>2+</sup> -H] <sup>+</sup>	449.3	[EDTA+Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> -4H] <sup>-</sup>
623.4	[2EDTA+Ca <sup>2+</sup> - H] <sup>+</sup>	621.3	[2EDTA+Ca <sup>2+</sup> - 3H] <sup>-</sup>	429.3	[EDTA+Ba <sup>2+</sup> -H] <sup>+</sup>	465.4	[EDTA+Ba <sup>2+</sup> +Ca <sup>2+</sup> -5H] <sup>-</sup>
661.4	[2EDTA+2Ca <sup>2+</sup> - 3H] <sup>+</sup>	659.5	[2EDTA+2Ca <sup>2+</sup> - 5H] <sup>-</sup>	451.4	[EDTA+Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> - 2H] <sup>+</sup>	855.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> -5H] <sup>-</sup>
699.5	[2EDTA+3Ca <sup>2+</sup> - 5H] <sup>+</sup>	697.5	[2EDTA+3Ca <sup>2+</sup> - 7H] <sup>-</sup>	857.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> -3H] <sup>+</sup>	877.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> -6H] <sup>-</sup>
876.9	[3EDTA+H] <sup>+</sup>	875	[3EDTA-H]	879.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> - 4H] <sup>+</sup>	893.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> +Ca <sup>2+</sup> -7H] <sup>-</sup>
915.2	[3EDTA+Ca <sup>2+</sup> - H] <sup>+</sup>	913.2	[3EDTA+Ca <sup>2+</sup> - 3H] <sup>-</sup>	895.3	[2EDTA+2Ba <sup>2+</sup> +Ca <sup>2+</sup> - 5H] <sup>+</sup>	991.2	[2EDTA+3Ba <sup>2+</sup> -7H] <sup>-</sup>
953.2	[3EDTA+2Ca <sup>2+</sup> - 3H] <sup>+</sup>	951.3	[3EDTA+2Ca <sup>2+</sup> - 5H] <sup>-</sup>	993.3	[2EDTA+3Ba <sup>2+</sup> -5H] <sup>++</sup>	1283.2	[3EDTA+3Ba <sup>2+</sup> -7H] <sup>-</sup>
991.3	[3EDTA+3Ca <sup>2+</sup> - 5H] <sup>+</sup>	989.3	[3EDTA+3Ca <sup>2+</sup> - 7H] <sup>-</sup>	1015.1	[2EDTA+3Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> - 6H] <sup>+</sup>	1305.2	[3EDTA+3Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> -8H] <sup>-</sup>
1029.4	[3EDTA+4Ca <sup>2+</sup> - 8H] <sup>+</sup>	1027.5	[3EDTA+4Ca <sup>2+</sup> - 10H] <sup>-</sup>	1031.2	[2EDTA+3Ba <sup>2+</sup> +Ca <sup>2+</sup> - 7H] <sup>+</sup>	1343.3	[3EDTA+3Ba <sup>2+</sup> +Na <sup>+</sup> +Ca <sup>2+</sup> - 10H] <sup>-</sup>

Πίνακας 4.4. Παρατηρούμενες κορυφές στο φάσμα μάζας των θετικών και των αρνητικών ιόντων του Ca-EDTA.

Παράλληλα με την καταγραφή των φασμάτων SSI-MS πραγματοποιήθηκε καταγραφή των φασμάτων LIBS. Στα φάσματα LIBS των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές γραμμές εκπομπής των ατόμων ασβεστίου και βαρίου. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων στα διαλύματα των συμπλόκων επιτεύχθηκε με βάση κατάλληλες καμπύλες αναφοράς, για την κατάρτιση των οποίων χρησιμοποιήθηκαν αμιγώς υδατικά διαλύματα των μεταλλικών ιόντων. Στο Σχήμα 4.25 παρουσιάζονται τα φάσματα LIBS των συμπλόκων με το EDTA καθώς και των πρότυπων διαλυμάτων των ιόντων Ca<sup>2+</sup> και Ba<sup>2+</sup> που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάρτιση των καμπύλων αναφοράς.



**Σχήμα 4.25.** Φάσματα LIBS υδατικών διαλυμάτων α) ιόντων  $Ca^{2+}$ , β)  $Ba^{2+}$  και καμπύλες αναφοράς, γ) για το ασβέστιο και δ) για το βάριο. Παράμετροι μετρήσεων:  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $\tau_{Delay} = 40 \text{ µs}$ ,  $\tau_{Gate} = 50 \text{ µs}$ ,  $F_{Sample} = 15 \text{ µl/min}$ .

Οι καμπύλες αναφοράς παρουσιάζουν γραμμική συμπεριφορά στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων, με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης ( $\mathbb{R}^2$ ) να είναι της τάξης του  $\mathbb{R}^2 = 0.99$ . Τα όρια ανίχνευσης που υπολογίζονται για τα στοιχεία με βάση τις καμπύλες αναφοράς είναι 0.11 μg/mL για το ασβέστιο και 0.17 μg/mL για το βάριο. Στον Πίνακα 4.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων επικύρωσης. Τα αποτελέσματα των μελετών δείχνουν ότι υπάρχει απόκλιση της τάξης του 20 %, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην εναπόθεση των μεταλλικών ιόντων στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας, που έχει ως αποτέλεσμα ο επόμενος παλμός να εκμεταλλεύεται την ποσότητα που εμπεριέχεται στα σταγονίδια καθώς και μέρος της ποσότητας που έχει εναποτεθεί στην είσοδο του φασματομέτρου μάζας.

**Πίνακας 4.5.** Αποτελέσματα ποσοτικού προσδιορισμού των ιόντων  $Ca^{2+}$  και  $Ba^{2+}$  σε πρότυπα διαλύματα των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA.

A cíour a	Συγκέντρωση μεταλ	9/ Auguranan*		
Δειγμα	Πραγματική	Μετρούμενη	70 Avaktijoi	
Ca-EDTA	2.0	2.0	100	
Ca-EDTA	6.0	7.4	123	
<b>Ba-EDTA</b>	2.0	2.4	120	
<b>Ba-EDTA</b>	6.0	4.6	77	

\*% Ανάκτηση= C Μετρούμενη/C Πραγματική x100 %

Για την αξιολόγηση της ακρίβειας της τεχνικής LIBS-SSI-MS πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε πρότυπα δείγματα των συμπλόκων. Οι πραγματικές συγκεντρώσεις των διαλυμάτων καθώς και οι πειραματικές μετρήσεις παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.3. Τα αποτελέσματα των μελετών δείχνουν ότι η ακρίβεια της τεχνικής LIBS-SSI-MS είναι ικανοποιητική.

Στο Σχήμα 4.26 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της έντασης του ολικού ιοντικού ρεύματος που καταγράφεται κατά τη μέτρηση των συμπλόκων Ca-EDTA και Ba-EDTA. Και σε αυτήν την περίπτωση παρατηρείται η εμφάνιση μεγίστων (spikes) ωστόσο η έντασή τους είναι μειωμένη. Αυτό συμβαίνει διότι το φασματόμετρο μάζας λειτουργεί σε τυπικές συνθήκες, οπότε κάθε φάσμα εξάγεται από το μέσο όρο τριών μετρήσεων. Γίνεται αντιληπτό ότι με αυτόν τον τρόπο η ένταση των μεγίστων (spikes) μειώνεται στο ένα τρίτο. Στο μέσο φάσμα δεν εμφανίζονται προϊόντα προσθήκης ριζών OH, αλλά γενικά παρατηρείται αύξηση της μέσης τιμής του ολικού ιοντικού ρεύματος παρουσία του πλάσματος, όπως και στην περίπτωση της μυοσφαιρίνης.



**Σχήμα 4.26.** Χρονική εξέλιξη της έντασης του ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση των φασμάτων μάζας των συμπλόκων α) Ca-EDTA και β) Ba-EDTA.

#### 4.4.2. Μελέτη συμπλόκου Cu6-Er

Για την αξιολόγηση της ακρίβειας και της δυναμικής της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS πραγματοποιήθηκε μελέτη του συμπλόκου  $[Cu_6^{II}Er^{III}(aib)_6(OH)_3(OAc)_3(NO_3)_3]$  το οποίο συντέθηκε από την ερευνητική ομάδα του Καθηγητή Κ. Μήλιου [7]. Το σύμπλοκο Cu<sub>6</sub>-Er διαλύθηκε σε ακετονιτρίλιο (CH<sub>3</sub>CN), καθώς υφίσταται υδρόλυση σε πρωτικούς διαλύτες, όπως το νερό. Το σύμπλοκο αποτελείται από ιόντα χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και ερβίου (Er<sup>3+</sup>) συναρμοσμένα με έξι ανιόντα του 2-αμινοϊσοβουτυτικού οξέος (aib = 2-amino-isobutyric acid anions), τρία οξικά ανιόντα (OAc = Acetate), τρία ανιόντα υδροξυλίου (OH<sup>-</sup>) και τρία νιτρικά ανιόντα (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Στο Σχήμα 4.24α παρουσιάζεται η δομή του συμπλόκου, στην οποία τα μεταλλικά ιόντα χαλκού διατάσσονται σε δομή τριγωνικού πρίσματος, σχηματίζοντας έναν «κλωβό», εντός του οποίου ευρίσκεται το κατιόν του ερβίου.

Η στοιχειομετρική αναλογία των ιόντων Cu<sup>2+</sup>/Er<sup>3+</sup> στο σύμπλοκο είναι 6:1 ενώ το μοριακό βάρος του είναι Mr = 1573 amu. Με την τεχνική LIBS-SSI-MS είναι εφικτός ο πλήρης χαρακτηρισμός του συμπλόκου, δηλαδή ο προσδιορισμός του μοριακού του βάρους καθώς και της στοιχειομετρικής αναλογίας των μεταλλικών ιόντων. Στο Σχήμα 4.27 (β, γ, δ) παρουσιάζεται το φάσμα LIBS και τα φάσματα SSI-MS των θετικά και αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου. Η κύρια κορυφή στο φάσμα SSI-MS των θετικά φορτισμένων ιόντων αντιστοιχεί στο σύμπλοκο (M), το οποίο έχει απωλέσει μία νιτρική ομάδα, ενώ η κύρια κορυφή στο φάσμα SSI-MS των αρνητικά φορτισμένων ιόντων αντιστοιχεί στην πρόσληψη μιας επιπλέον νιτρικής ομάδας από το σύμπλοκο. Τα φάσματα SSI-MS παρουσιάζουν χαρακτηριστική υφή, η οποία οφείλεται στην παρουσία των μεταλλικών ιόντων Er και Cu.



**Σχήμα 4.27.** α) Κρυσταλλική δομή του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er. Με μωβ απεικονίζεται το κατιόν του ερβίου Er<sup>3+</sup>, ενώ με πράσινο τα κατιόντα χαλκού (Cu<sup>2+</sup>), β) φάσμα LIBS του συμπλόκου, γ) φάσμα μάζας των αρνητικά και δ) φάσμα μάζας των θετικά φορτισμένων ιόντων του σύμπλοκου. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 70V,  $E_{Pulse} = 350$  mJ,  $\tau_{Delay} = 40$  μs,  $\tau_{Gate} = 50$  μs.

Ο υπολογισμός του μοριακού βάρους του συμπλόκου πραγματοποιείται λαμβάνοντας υπ' όψην την τιμή του λόγου m/z που αντιστοιχεί στην κορυφή με την υψηλότερη αφθονία στο φάσμα μάζας των θετικά και των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου. Η τιμή

του μοριακού βάρους είναι Mr<sub>comp</sub>= 1574, όπως υπολογίζεται από τη μέση τιμή του λόγου m/z σύμφωνα με την εξίσωση:

$$Mr_{comp} = ((Mr_{comp} - Mr_{NO_3^-}) + (Mr_{comp} + Mr_{NO_3^-}))/2$$
(4.4)

Η τιμή που υπολογίζεται από τη στοιχειομετρία του συμπλόκου, λαμβάνοντας υπ' όψη τη μάζα των ισοτόπων, με τη μεγαλύτερη αφθονία στο σύμπλοκο, είναι Mr = 1573 amu. Παρατηρείται ότι η μετρούμενη τιμή του μοριακού βάρους της ένωσης συναρμογής είναι σε αρκετά καλή συμφωνία με την τιμή που αναμένεται βάσει της στοιχειομετρίας του συμπλόκου.

Στο φάσμα LIBS του συμπλόκου παρατηρείται ισχυρή εκπομπή από τα ουδέτερα άτομα γαλκού καθώς και εκπομπή από ατομικά ιόντα ερβίου. Επίσης παρατηρείται εκπομπή από διεγερμένα μόρια CN και NH. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης των μεταλλικών ιόντων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα των μεταλλικών ιόντων σε διαλύτη ακετρονιτρίλιο έτσι ώστε η μήτρα των προτύπων να είναι ίδια με εκείνη του δείγματος. Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού και ερβίου πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικές μετρήσεις, διατηρώντας την ίδια γεωμετρία, λόγω της μεγάλης διαφοράς στην ένταση των γραμμών εκπομπής. Πιο συγκεκριμένα για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του ερβίου αυξήθηκε η τιμή του MCP Gain από 100 σε 150. Στις συνθήκες μέτρησης του ερβίου το σήμα της εκπομπής από τα άτομα του γαλκού είναι σγεδόν σε κορεσμό με αποτέλεσμα να είναι αδύνατη η κατάρτιση καμπύλης αναφοράς. Στο Σχήμα 4.28 παρουσιάζονται τα φάσματα LIBS και οι καμπύλες αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του χαλκού και του ερβίου. Η κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς για τον χαλκό πραγματοποιήθηκε μέσω της καταγραφής της έντασης της γραμμής στα 327.396 nm, ενώ η καμπύλη αναφοράς για το έρβιο καταρτίστηκε με βάση τη γραμμή εκπομπής των ατομικών ιόντων στα 369.265 nm. Η τιμή του ορίου ανίχνευσης για το έρβιο είναι 1.69×10<sup>-5</sup> M ή 2.83 μg/mL.

Η τιμή της συγκέντρωσης του χαλκού και του ερβίου στο διάλυμα του συμπλόκου που μετρήθηκε είναι [Cu] =  $9.6 \times 10^{-4}$  M και [Er] =  $1.6 \times 10^{-4}$  M αντίστοιχα. Από τις τιμές των συγκεντρώσεων είναι εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειομετρικής αναλογίας των δύο στοιχείων [Cu]/[Er] στο σύμπλοκο. Η τιμή που προκύπτει είναι [Cu]/[Er] = 5.9 και ευρίσκεται σε συμφωνία με την τιμή που εξάγεται από τη στοιχειομετρία του συμπλόκου.

118



**Σχήμα 4.28.** α) Φάσματα LIBS του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er και των πρότυπων διαλυμάτων ερβίου και β) καμπύλη αναφοράς για το έρβιο, γ) Φάσματα LIBS του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er και των πρότυπων διαλυμάτων χαλκού και δ) καμπύλη αναφοράς για το χαλκό. Παράμετροι μετρήσεων:  $E_{Pulse} = 350 \text{ mJ}$ ,  $\tau_{Delay} = 40 \text{ µs}$ ,  $\tau_{Gate} = 50 \text{ µs}$ ,  $F_{Sample} = 15 \text{ µl/min}$ .

Μελετήθηκε η επίδραση που έχει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας του συμπλόκου. Στο Σχήμα 4.29 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου. Να σημειωθεί ότι, κατά τη διάρκεια της μέτρησης, η λειτουργία AGC είναι ενεργοποιημένη, οπότε η τιμή του χρόνου συλλογής της ιοντικής παγίδας συνεχώς μεταβάλλεται.



**Σχήμα 4.29.** Χρονική εξέλιξη του ολικού ιοντικού ρεύματος κατά τη μέτρηση φασμάτων μάζας των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er.

Γίνεται αντιληπτό ότι σε αυτές τις συνθήκες είναι αδύνατον να υπάρξει περιοδικότητα όσον αφορά τη συχνότητα εμφάνισης των μεγίστων ιοντικού ρεύματος (spikes). Στο Σχήμα

4.30 παρουσιάζεται το φάσμα που αντιστοιχεί στα spikes και το φάσμα που λαμβάνεται όταν το λέιζερ είναι εκτός λειτουργίας. Παρατηρείται ότι η παρουσία του πλάσματος, τη χρονική στιγμή που πραγματοποιείται η μέτρηση SSI-MS, έχει έντονη επίδραση στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας, καθώς δημιουργείται ένας μεγάλος αριθμός ιόντων που καλύπτουν όλο το εύρος τιμών του λόγου m/z. Ωστόσο η ένταση της κορυφής που αντιστοιχεί στο μοριακό ιόν του συμπλόκου δεν μεταβάλλεται. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να εξηγηθεί με τους μηχανισμούς που περιγράφηκαν και προηγουμένως.



**Σχήμα 4.30.** Φάσματα SSI-MS των αρνητικά φορτισμένων ιόντων του συμπλόκου Cu<sub>6</sub>-Er α) στα μέγιστα ιοντικού ρεύματος (spikes) και β) απουσία λέιζερ.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η συμπεριφορά αυτή παρατηρείται επίσης κατά τη μέτρηση καθαρού διαλύτη και συνάγεται ότι οφείλεται στο ακετονιτρίλιο. Λόγω της αυξημένης πολυπλοκότητας των φασμάτων δεν πραγματοποιήθηκε προσπάθεια ταυτοποίησης των μοριακών ιόντων που δημιουργούνται όταν υπάρχει επίδραση από το πλάσμα.

# 4.5. Χαρακτηρισμός μεταλλοπρωτεϊνών

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 σημαντική στο πεδίο της μεταλλομικής ανάλυσης. 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 σχετικά δύσκολος και απαιτητικός, καθώς προϋποθέτει το συνδυασμό πολλαπλών τεχνικών για τον χαρακτηρισμό τους. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν πρότυπα διαλύματα μεταλλοπρωτεϊνικών συμπλόκων γνωστής περιεκτικότητας με σκοπό τον προσδιορισμό της στοιχειακής σύστασης και του μοριακού τους βάρους με την τεχνική LIBS-SSI-MS. Τα μεταλλοπρωτεϊνικά σύμπλοκα που μελετήθηκαν είναι η σουπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase, SOD) και η αλακταλβουμίνη (Lactalbumin-a, LALBA).

# 4.5.1. Σουπεροξειδική δισμουτάση (SOD)

Η SOD είναι μια πρωτεΐνη με ενζυμική δράση που συναντάται στους ιστούς των θηλαστικών. Η πρωτεΐνη αποτελείται από δύο όμοιες υπομονάδες μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες. Κάθε μονομερές της πρωτεΐνης αποτελείται από 151 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 16.3 kDa και περιέχει ένα ιόν χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) και ένα ιόν ψευδαργύρου (Zn<sup>2+</sup>). Ο ρόλος της SOD είναι ιδιαίτερα σημαντικός καθώς αποτελεί βασικό στοιχείο του μηχανισμού άμυνας των οργανισμών απέναντι στις ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Η SOD είναι υπεύθυνη για τη διάσπαση των ριζών σουπεροξειδίου (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) σε υπεροξείδιο του υδρογόνου και μοριακό οξυγόνο σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:

$$2O_2^{-}+2H^{+} \xrightarrow{\text{SOD}} O_2 + H_2O_2$$

Για τη μελέτη της πρωτεΐνης παρασκευάσθηκε υδατικό διάλυμα με συγκέντρωση [SOD] = 1.1 mg/mL, το οποίο στη συνέχεια οξινίστηκε μέσω της προσθήκης οξικού οξέος (1% v/v). Η προσθήκη του οξικού οξέος είναι απαραίτητη ώστε να πρωτονιωθούν τα βασικά αμινοξέα της πρωτεΐνης, διαδικασία που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του λόγου m/z εντός του εύρους καταγραφής του φασματόμετρου μάζας. Η διαδικασία της πρωτονίωσης οδηγεί σε διάσπαση του συμπλόκου της SOD καθώς οι δύο υπομονάδες είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένες μεταξύ τους.

Στο Σχήμα 4.31 παρουσιάζονται τα φάσματα LIBS και SSI-MS της SOD. Στο φάσμα LIBS της πρωτεΐνης παρατηρούνται οι χαρακτηριστικές γραμμές των ατόμων χαλκού, καθώς και εκπομπή από διεγερμένα μόρια OH. Στο φάσμα SSI-MS της πρωτεΐνης παρατηρείται μια ακολουθία κορυφών σε διάφορες τιμές του λόγου m/z, στην οποία κάθε κορυφή αντιστοιχεί στην υπομονάδα της πρωτεΐνης με διαφορετικό βαθμό πρωτονίωσης.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ιόντων χαλκού στο διάλυμα της πρωτεΐνης πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Για την επικύρωση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε ανεξάρτητη ανάλυση στο διάλυμα της SOD με την τεχνική ICP-MS. Στο Σχήμα 4.32 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς και τα φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων και του διαλύματος της πρωτεΐνης. Η τιμή της συγκέντρωσης του χαλκού στο διάλυμα της πρωτεΐνης μετρήθηκε με την τεχνική LIBS [Cu]<sub>SOD</sub> =  $3.24 \times 10^{-5}$  M, ενώ η τιμή που μετρήθηκε με την τεχνική ICP-MS είναι [Cu]<sub>SOD</sub> =  $3.4 \times 10^{-5}$  M.



**Σχήμα 4.31.** α) Φάσμα LIBS και β) φάσμα SSI-MS της SOD. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300°C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  = 15 μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.  $E_{Pulse}$  = 200 mJ,  $\tau_{Delay}$  = 20 μs,  $\tau_{Gate}$  = 100 μs.



**Σχήμα 4.32.** Καμπύλη αναφοράς ιόντων χαλκού (Cu<sup>2+</sup>) σε διάλυμα 50% v/v μεθανόλης σε νερό. Παράμετροι μετρήσεων:  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min,.  $E_{Pulse} = 200$  mJ,  $\tau_{Delay} = 20$  μs,  $\tau_{Gate} = 100$  μs.

Στο Σχήμα 4.33 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της διαδικασίας αποσυνέλιξης του φάσματος SSI-MS της SOD. Η κύρια κορυφή στα 15597 Da αντιστοιχεί στην αρο μορφή της υπομονάδας της SOD, στην οποία υπάρχει απώλεια των μεταλλικών ιόντων [8]. Ωστόσο παρατηρούνται κορυφές που αντιστοιχούν σε προϊόντα προσθήκης νατρίου, καλίου και ασβεστίου στην υπομονάδα της SOD, καθώς και κορυφές που αντιστοιχούν στην παρουσία των ιόντων χαλκού και ψευδαργύρου.



Σχήμα 4.33. Αποσυνέλιξη του φάσματος SSI-MS της SOD (Σχ. 4.31 β).

Συνδυάζοντας τα δεδομένα που καταγράφηκαν από την τεχνική LIBS-SSI-MS είναι εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειομετρικής αναλογίας των ιόντων χαλκού προς την πρωτεΐνη. Με βάση την τιμή του μοριακού βάρους της υπομονάδας της SOD, που μετρήθηκε, μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση της SOD στο διάλυμα που αναλύθηκε. Η συγκέντρωση της SOD στο διάλυμα είναι 1.1 mg/mL οπότε, λαμβάνοντας υπ' όψη την τιμή του μοριακού βάρους, υπολογίζεται η μοριακότητα του διαλύματος της SOD, [SOD] =  $3.5x10^{-5}$  M. Η τιμή της στοιχειομετρικής αναλογίας του χαλκού προς την SOD είναι [Cu]/[SOD] =  $0.92 \pm 0.05$ . Η τιμή που αναμένεται για ένα ιδανικό διάλυμα της SOD στην οποία η πρωτεΐνη είναι κορεσμένη με ιόντα χαλκού και ψευδαργύρου είναι 2. Από τα δεδομένα και τη σύγκριση με την αναμενόμενη τιμή εξάγεται το συμπέρασμα ότι στο διάλυμα που αναλύθηκε η SOD δεν είναι πλήρως ενεργός, καθώς η συγκέντρωση των ιόντων χαλκού είναι μικρότερη από την αναμενόμενη. Το πρότυπο δείγμα της πρωτεΐνης είχε συγκεκριμένη ενεργότητα του ενζύμου, οπότε γίνεται αντιληπτό ότι η ρύθμιση της ενεργότητας του ενζύμου πραγματοποιήθηκε αφαιρώντας ποσότητα των ιόντων χαλκού.

# 4.5.2. α-λακταλβουμίνη (LALBA)

Η α-λακταλβουμίνη (Lactalbumin-alpha, LALBA) είναι μια σχετικά μικρή μεταλλοπρωτεΐνη, που περιέχεται στο γάλα. Η ένωση της LALBA με τη β-1,4γαλακτοτρανσφεράση οδηγεί στο σχηματισμό της συνθάσης της λακτόζης, ενός ενζύμου που ρυθμίζει τη βιοσύνθεση της λακτόζης στα θηλαστικά. Το μοριακό βάρος της LALBA είναι 14.18 kDa, και είναι γνωστό ότι δεσμεύει ισχυρά ιόντα ασβεστίου (Ca<sup>2+</sup>) και ψευδαργύρου (Zn<sup>2+</sup>).

Στο Σχήμα 4.34 παρουσιάζεται το φάσμα LIBS και το φάσμα SSI-MS διαλύματος LALBA σε διαλύτη 1:1 CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O, περιεκτικότητας 2 mg/mL. Στο διάλυμα προστέθηκε οξικό οξύ όπως και στην περίπτωση της SOD σε τελική συγκέντρωση 1% v/v.

Στο φάσμα LIBS εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές γραμμές εκπομπής του ασβεστίου καθώς και οι μοριακές ταινίες εκπομπής του CN. Ο σχηματισμός του CN στο πλάσμα οφείλεται κυρίως στην παρουσία της μεθανόλης στη μήτρα του διαλύματος. Στο φάσμα μάζας της LALBA παρατηρείται μια ακολουθία κορυφών που αντιστοιχούν στην πρωτεΐνη με διαφορετικό βαθμό πρωτονίωσης.



**Σχήμα 4.34.** α) Φάσμα LIBS και β) φάσμα SSI-MS της LALBA. Παράμετροι μετρήσεων: Θερμοκρασία θερμαινόμενης μεταφορικής στήλης ενδιάμεσης πίεσης = 300 °C,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min,  $F_{Sample}$  = 15 μl/min, Δυναμικό πηγής = 20 V.  $E_{Pulse}$  = 200 mJ,  $\tau_{Delay}$  = 20 μs,  $\tau_{Gate}$  = 100 μs.

Πραγματοποιήθηκε ποσοτικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο διάλυμα της πρωτεΐνης με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν σε διάλυμα 1:1 CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O. Στο Σχήμα 4.35 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς και τα φάσματα LIBS που αντιστοιχούν στα πρότυπα διαλύματα και στο διάλυμα της LALBA. Η συγκέντρωση του ασβεστίου στο διάλυμα της πρωτεΐνης μετρήθηκε  $ω_{\zeta}[Ca]_{LALBA} = 2.18 \times 10^{-4} M.$ 



**Σχήμα 4.35.** α) Καμπύλη αναφοράς για το ασβέστιο και β) φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων και διαλύματος LALBA. Παράμετροι μετρήσεων:  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μl/min, Δυναμικό επιτάχυνσης πηγής = 20 V.  $E_{Pulse} = 350$  mJ,  $\tau_{Delay} = 20$  μs,  $\tau_{Gate} = 100$  μs.

Στο Σχήμα 4.36 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της διαδικασίας αποσυνέλιξης του φάσματος μάζας της LALBA. Η τιμή του μοριακού βάρους της πρωτεΐνης που εξάγεται είναι 14183 Da και βρίσκεται σε συμφωνία με τη βιβλιογραφία [9]. Με βάση την τιμή του μοριακού βάρους της πρωτεΐνης, που μετρήθηκε με την τεχνική LIBS-SSI-MS, υπολογίζεται η τιμή της μοριακότητας του διαλύματος της LALBA, [LALBA] =  $1.41 \times 10^{-4}$  M. Συνδυάζοντας όλα τα δεδομένα που ελήφθησαν με την τεχνική LIBS-SSI-MS είναι εφικτός ο προσδιορισμός της στοιχειομετρικής αναλογίας των ιόντων ασβεστίου ανά μόρια LALBA, [Ca]/[LALBA] = 1.54. Η συγκέντρωση των ιόντων Ca<sup>2+</sup> επιβεβαιώθηκε και με ανεξάρτητη ξεχωριστή μέτρηση με την τεχνική ICP-MS. Η αναμενόμενη τιμή του λόγου είναι μονάδα και η διαφορά που παρατηρείται οφείλεται στο πρότυπο δείγμα της πρωτεΐνης το οποίο περιείχε περίσσεια ασβεστίου, ώστε να εξασφαλιστεί ο κορεσμός της πρωτεΐνης.



Σχήμα 4.36. Αποτέλεσμα αποσυνέλιξης του φάσματος SSI-MS της LALBA (Σχ. 4.34 β).

# 4.6. Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, πραγματοποιήθηκε επιτυχώς ανάπτυξη της υβριδικής αναλυτικής τεχνικής LIBS-SSI-MS, η οποία παρέχει την ικανότητα εξαγωγής πληροφοριών σχετικών με τη στοιχειακή σύσταση και το μοριακό βάρος των εξεταζόμενων ενώσεων σε πραγματικό χρόνο. Η ακρίβεια και η δυναμική της τεχνικής LIBS-SSI-MS αξιολογήθηκε μέσω της μελέτης συμπλόκων ασβεστίου και βαρίου με το EDTA, δύο μεταλλοπρωτεϊνών, πιο συγκεκριμένα της σουπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και της α-λακταλβουμίνης (LALBA), καθώς και μίας ένωσης συναρμογής η οποία περιέχει μεταλλικά ιόντα χαλκού και ερβίου ([Cu<sub>6</sub><sup>II</sup>Er<sup>III</sup>(aib)<sub>6</sub>(OH)<sub>3</sub>(OAc)<sub>3</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], Mr = 1574 amu).

Στην περίπτωση των μεταλλοπρωτεϊνών η εφαρμογή της τεχνικής LIBS-SSI-MS επιτρέπει τον προσδιορισμό του λόγου των συγκεντρώσεων των μεταλλικών ιόντων προς τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης ([M<sup>+</sup>]:[Πρωτεΐνη]). Η τιμή του λόγου [M<sup>+</sup>]:[Πρωτεΐνη] αντανακλά τη στοιχειομετρία του μεταλλοϊόντος στην πρωτεΐνη και συνδέεται άμεσα με την ενεργότητα αυτής και κατ' επέκταση με τη βιολογική της δραστικότητα. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση των υπόλοιπων ενώσεων φανερώνουν ότι η τεχνική LIBS-SSI-MS πληροί τις προϋποθέσεις που απαιτούνται ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διεξαγωγή μελετών ειδοταυτοποίησης.

Επιπροσθέτως μελετήθηκε η επίδραση που έχει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το πλάσμα έχει ισχυρή επίδραση όταν, ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται κατά το χρονικό διάστημα της καταγραφής του φάσματος μάζας. Ειδικότερα στην περίπτωση του τριφθοροξικού νατρίου παρατηρήθηκε ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στο σχηματισμό

συστάδων (cluster) των μορίων του STFA με μόρια OH, τα οποία παράγονται στο πλάσμα, ενώ δεν καταγράφηκε ανάλογη συμπεριφορά στην περίπτωση της μυοσφαιρίνης και της γλουταθειόνης, αν και τα φάσματα μάζας παρουσίασαν αυξημένο υπόβαθρο. Παρά την παρουσία του πλάσματος δεν παρατηρήθηκε επιλεκτική θραυσματοποίηση των μορίων που εξετάστηκαν, καθώς το φαινόμενο παρουσιάζει ευρεία διασπορά και τελικώς ανιχνεύεται κυρίως ως αύξηση του υποβάθρου, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει επίδραση στον προσδιορισμό του μοριακού βάρους. Η παρουσία του πλάσματος είχε θετική συνεισφορά στην ευαισθησία της τεχνικής SSI-MS, ωστόσο, σε τυπικές συνθήκες λειτουργίας η επίδραση μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα.

# 4.7. Βιβλιογραφία

[1] Κωνσταντίνος Μαρματάκης, 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), Μεταπτυχιακή Εργασία Ειδίκευσης, Τμήμα Χημείας –Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο 2014.

[2] K. Marmatakis, S.A. Pergantis, D. Anglos, Elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules using laser induced breakdown spectroscopy and sonic spray ionization mass spectrometry: A step towards full integration and simultaneous analysis, Spectrochimica Acta Part B, 126 (2016) 103–109.

[3] A. Bierstedt, H. Kersten, R. Glaus, I. Gornushkin, U. Panne, J. Riedel, Characterization of an Airborne Laser-Spark Ion Source for Ambient Mass Spectrometry, Anal. Chem., 89 (2017) 3437–3444.

[4] J. Moros, J. Laserna, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) of Organic Compounds: A Review, Appl. Spectrosc., 73 (2019) 963–1011.

[5] M. Moini, B.L. Jones, R.M. Rogers, L. Jiang, Sodium trifluoroacetate as a tune/calibration compound for positive- and negative-ion electrospray ionization mass spectrometry in the mass range of 100-4000 Da, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 9 (1998) 977–980.

[6] C. Zhao, T.D. Wood, S. Bruckenstein, Shifts in protein charge state distributions with varying redox reagents in nanoelectrospray triple quadrupole mass spectrometry, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 16 (2005) 409–416.

[7] G.J. Sopasis, A.B. Canaj, A. Philippidis, M. Siczek, T. Lis, J.R.O. Brien, M.M. Antonakis, S.A. Pergantis, C.J. Milios, Heptanuclear Heterometallic [Cu<sub>6</sub>Ln] Clusters: Trapping Lanthanides into Copper Cages with Artificial Amino Acids, Inorg. Chem., 51 (2012) 5911–5918.

[8] M. Borges-Alvarez, F. Benavente, M. Vilaseca, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot, Characterization of superoxide dismutase 1 (SOD-1) by electrospray ionization-ion mobility mass spectrometry, J. Mass Spectrom., 48 (2013) 60–67.

[9] N. Murai, Y. Hiraoka, T. Segawa, K. Kuwajima, S. Sugai, **alpha-Lactalbumin: a calcium Metalloprotein**, Biochem. Biophys. Res. Commun., 95 (1980) 1098–1104.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

# ΜΕΛΕΤΗ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΜΕ ΧΡΟΝΙΚΩΣ ΑΝΑΛΥΟΜΕΝΗ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΗ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

Η κατανόηση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο πλάσμα και διέπουν την αλληλεπίδραση του παλμού του λέιζερ και του σχηματιζόμενου πλάσματος με τα σταγονίδια του αερολύματος είναι μείζονος σημασίας για την αύξηση της ευαισθησίας της τεχνικής LIBS, καθώς επηρεάζει σε σημαντικό βαθμό τη δυναμική της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS. Η ευαισθησία των μετρήσεων LIBS καθορίζεται από την ένταση των γραμμών εκπομπής των μελετώμενων στοιχείων, η οποία σύμφωνα με την κατανομή Boltzmann, εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία του πλάσματος και τη μάζα του αναλύτη που έχει μεταβεί στην κατάσταση πλάσματος.

Οπως έχει προαναφερθεί, η μεθοδολογία που ακολουθείται κατά τη διεξαγωγή μετρήσεων LIBS στο αερόλυμα προτείνει τη χρήση παλμών λέιζερ ενέργειας 200 mJ για το σχηματισμό πλάσματος, ο πνευματικός εκνεφωτής τοποθετείται περίπου 2 mm μακριά από το σχηματιζόμενο πλάσμα, ενώ ο άξονας ψεκασμού είναι μετατοπισμένος κατά 2 mm πριν την εστιακή περιοχή του φακού (βλ. Ενότητα 4.2 και Σχ. 4.3, 4.4). Η καταγραφή των φασμάτων LIBS πραγματοποιείται με χρονική καθυστέρηση τ<sub>Delay</sub> = 20 μs και χρόνο ολοκλήρωσης τ<sub>Gate</sub> = 100 μs. Για τη διεξαγωγή ποσοτικής ανάλυσης προτείνεται η εξαγωγή του μέσου όρου 200 φασμάτων καθένα από τα οποία αντιστοιχεί σε ένα γεγονός σχηματισμού πλάσματος (single shot). Σημειώνεται ότι η επαναληψιμότητα των μετρήσεων μεμονωμένου παλμού (single shot) είναι χαμηλή και, ως εκ τούτου, η συλλογή των 200 φασμάτων είναι απαραίτητη προϋπόθεση. Ακολουθώντας τη συγκεκριμένη μεθοδολογία επιτυγχάνεται η διεξαγωγή

Στο Σχήμα 5.1 παρουσιάζεται η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση σε διαφορετικές σειρές μετρήσεων LIBS σε υδατικά διαλύματα ιόντων Cu<sup>2+</sup> και Na<sup>+</sup> (τα δεδομένα ελήφθησαν στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής εργασίας του συγγραφέα [1]). Κάθε σειρά μετρήσεων αντιστοιχεί σε 1000 παλμούς λέιζερ και η τυπική απόκλιση που παρουσιάζει ο μέσος όρος μέτρησης, σε κάθε σειρά, είναι της τάξης του RSD ~ 60 %, τιμή απαγορευτική για τη διεξαγωγή αξιόπιστης ποσοτικής ανάλυσης. Ωστόσο η σχετική τυπική απόκλιση που προκύπτει από την εξαγωγή της μέσης τιμής των διαδοχικών σετ μετρήσεων είναι RSD < 5%, τιμή η οποία υποδηλώνει ότι η μέση ένταση του καταγραφόμενου σήματος του αναλύτη παραμένει σταθερή.



**Σχήμα 5.1.** Αποτέλεσμα μετρήσεων LIBS σε υδατικά διαλύματα που περιέχουν μεταλλικά ιόντα α) Cu<sup>2+</sup> και β) Na<sup>+</sup> με συγκέντρωση 1.0×10<sup>-4</sup> M και 2.5×10<sup>-3</sup> M, αντίστοιχα [1].

Στην περίπτωση των υδατικών διαλυμάτων ιόντων Na<sup>+</sup>, η ένταση της εκπομπής από τα άτομα Na στο πλάσμα είναι ανάλογη του πληθυσμού των ατόμων στη διεγερμένη κατάσταση, N<sub>exc</sub>, καθώς επίσης και του συνολικού αριθμού ατόμων Na που ευρίσκονται στο πλάσμα Ν, σύμφωνα με την κατανομή Boltzmann. Ο συνολικός αριθμός των ατόμων Na στο πλάσμα εξαρτάται από τον όγκο των σταγονιδίων που ατομοποιήθηκαν. 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. Η ένταση της εκπομπής, I<sub>Na</sub>, είναι αντιπροσωπευτική του συνολικού πληθυσμού των ατόμων του νατρίου στο πλάσμα και κατ' επέκταση στο διάλυμα (I<sub>Na</sub> ~ N<sub>exc</sub> ~ N ~ n), οπότε το πηλίκο I<sub>Na</sub>/C είναι ανάλογο του όγκου. Στο Σχήμα 5.2 παρουσιάζονται ιστογράμματα τα οποία δείχνουν την συχνότητα εμφάνισης των καταγραφόμενων τιμών έντασης, της γραμμής εκπομπής των ουδετέρων ατόμων νατρίου στα 589.592 nm, που προκύπτει από ένα σετ 1000 μετρήσεων που ελήφθησαν κατά τη μελέτη δύο υδατικών διαλυμάτων Na<sup>+</sup> σε συγκεντρώσεις 1.17 μg/mL και 23.1 μg/mL.

Παρατηρείται ότι η κατανομή του λόγου I<sub>Na</sub>/C είναι σταθερή και ανεξάρτητη της συγκέντρωσης του νατρίου. Η συμπεριφορά αυτή δηλώνει ότι σε ένα σετ μετρήσεων LIBS ο μέσος όγκος των σταγονιδίων που ατομοποιούνται παραμένει σταθερός. Αλλά κάθε γεγονός σχηματισμού πλάσματος περιλαμβάνει αλληλεπίδραση με διαφορετικό όγκο σταγονιδίων οπότε η εξαγωγή μεγάλου μέσου όρου από ένα μεγάλο αριθμό μετρήσεων δίνει τη μέση εικόνα, η οποία είναι αντιπροσωπευτική της συγκέντρωσης του νατρίου στο διάλυμα.



**Σχήμα 5.2.** Ιστογράμματα που απεικονίζουν τη συχνότητα εμφάνισης των καταγραφόμενων τιμών έντασης της γραμμής εκπομπής του νατρίου στα 589.592 nm σε ένα σετ μετρήσεων 1000 παλμών για τα ιόντα Na<sup>+</sup> σε συγκέντρωση α) 1.17 μg/mL και β) 23.1 μg/mL [1].

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι για την κατανόηση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα στο πλάσμα, το οποίο δημιουργείται στο αερόλυμα, είναι αναγκαία η απεικονιστική μελέτη του πλάσματος. Πιο συγκεκριμένα τα ερωτήματα που τίθενται είναι αν σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> = 20 μs έχουν ολοκληρωθεί οι διεργασίες εξάτμισης και ατομοποίησης των σταγονιδίων, ποια είναι η αριθμητική πυκνότητα των σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος, κατά πόσο υπάρχει πλήρης εκμετάλλευση των σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού αλληλεπίδραση του πλάσματος με το αερόλυμα. Η κατανόηση των συγκεκριμένων διεργασιών αναμένεται να οδηγήσει σε βελτίωση της ευαισθησίας της μεθοδολογίας LIBS.

# 5.1. Πειραματική διάταξη

Για τη μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στο στατικό αέρα καθώς και σε περιβάλλον σταγονιδίων αερολύματος, το οποίο δημιουργείται από την πνευματική εκνέφωση υδατικών διαλυμάτων, αναπτύχθηκε κατάλληλη διάταξη LIBS, η οποία επιτρέπει το σχηματισμό πλάσματος στο αερόλυμα (Σχήμα 5.3) και συνδυάζεται με διάταξη οπτικής απεικόνισης (Σχήμα 5.4).



Σχήμα 5.3. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης LIBS.

Παλμοί λέιζερ στα 1064 nm, χρονοδιάρκειας 8 ns, που εκπέμπονται από παλμικό λέιζερ τύπου Q-Switched Nd:YAG, οδηγούνται μέσω κατάλληλων οπτικών προς το συγκεντρωτικό φακό (επιπεδόκυρτος, f = + 50 mm), μέσω του οποίου εστιάζονται στην εστιακή περιοχή του φακού. Στην πορεία της δέσμης προς το συγκεντρωτικό φακό παρεμβάλλεται κατάλληλος οπτικός εξασθενητής, ο οποίος επιτρέπει τη ρύθμιση της ενέργειας του παλμού λέιζερ. Όταν η ροή οπτικής ισχύος στην περιοχή εστίασης του παλμού λέιζερ υπερβεί την τιμή κατωφλίου, η οποία για τον αέρα είναι I<sub>Thres</sub> ~ 20 GW/cm<sup>2</sup>, καθίσταται εφικτός ο σχηματισμός πλάσματος. Ο πνευματικός εκνεφωτής τοποθετείται σε σύστημα, το οποίο επιτρέπει μετακίνησή του σε 3 διαστάσεις (x-y-z) με ακρίβεια της τάξης των 10 μm, οπότε επιτυγχάνεται ρύθμιση της θέσης του ακροφυσίου του εκνεφωτή σε σχέση με την εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού ώστε ο σχηματισμός πλάσματος να λαμβάνει χώρα στο αερόλυμα.

Στο Σχήμα 5.4 παρουσιάζεται το τμήμα της πειραματικής διάταξης που επιτρέπει την απεικονιστική μελέτη του πλάσματος και την εξέλιξη αυτού με το χρόνο. Πιο συγκεκριμένα η ακτινοβολία που εκπέμπεται από το πλάσμα συλλέγεται από κατάλληλο τηλεσκόπιο (τηλεσκόπιο 1, Nikon 383359) και απεικονίζεται στην επιφάνεια ανιχνευτή τύπου ICCD. Το τηλεσκόπιο τοποθετείται σε σύστημα μετακίνησης μικρομετρικής ακρίβειας, το οποίο επιτρέπει τη ρύθμιση της απόστασης (a) του τηλεσκοπίου από το πλάσμα, ανάλογα με τη μεγέθυνση που απαιτείται.



Σχήμα 5.4. Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται για την απεικονιστική μελέτη του πλάσματος και φωτογραφίες αυτής. Η διάδοση του παλμού λέιζερ πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα z, η διάδοση του αερολύματος πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα y, ενώ η συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα πραγματοποιείται κατά μήκος του άξονα x.

Η διάταξη επιτρέπει τη λήψη δισδιάστατων εικόνων του πλάσματος, με χωρική ανάλυση 26 μm στην περίπτωση που η απεικόνιση είναι 1:1. Για την καταγραφή των φασμάτων LIBS χρησιμοποιείται ένα δεύτερο τηλεσκόπιο (τηλεσκόπιο 2), το οποίο τοποθετείται αντιδιαμετρικά ως προς το τηλεσκόπιο 1 σε απόσταση 5 cm από την περιοχή σχηματισμού του πλάσματος. Το τηλεσκόπιο 2 αποτελείται από δύο επιπεδόκυρτους φακούς (f = + 50 mm), του πλάσματος επιτυγχάνοντας την 1:1 απεικόνιση του πλάσματος στην οπτική ίνα.

Για την καταγραφή των εικόνων και των φασμάτων LIBS σε διακριτές χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub> μετά την άφιξη του παλμού λέιζερ στην εστία του συγκεντρωτικού φακού, είναι απαραίτητος ο συγχρονισμός του ανιχνευτή με το λέιζερ. Ο συγχρονισμός των δύο συστημάτων πραγματοποιείται μέσω παλμογεννήτριας, η οποία ενεργοποιείται από τον ηλεκτρικό παλμό που παράγεται τη στιγμή ενεργοποίησης του Q-Switch του λέιζερ. Με αυτήν τη συνδεσμολογία είναι εφικτή η καταγραφή εικόνων του πλάσματος με χρονική ανάλυση της τάξης των 8 ns, από τη στιγμή δημιουργίας του πλάσματος (τ<sub>Delay</sub>=0).



Σχήμα 5.5. Φάσματα LIBS α) του αερολύματος που περιέχει άτομα Ca, β) του περιβάλλοντος αέρααργού, και φάσματα διαπερατότητας των φίλτρων που χρησιμοποιήθηκαν για την απεικόνιση της εκπομπής γ) του ασβεστίου και δ) του οξυγόνου.

Για τη μελέτη των διεργασιών που συντελούνται στο πλάσμα είναι απαραίτητη η καταγραφή εικόνων που αντικατοπτρίζουν τη συμπεριφορά συγκεκριμένων στοιχείων στο πλάσμα. Για το λόγο αυτό στην πορεία του φωτός προς τον ανιχνευτή παρεμβάλλονται κατάλληλα φίλτρα ζώνης τα οποία επιτρέπουν τη διέλευση ακτινοβολίας σε στενή περιοχή

μηκών κύματος επιτρέποντας την απομόνωση των γραμμών ατομικής εκπομπής των στοιχείων που πρόκειται να μελετηθούν. Πιο συγκεκριμένα για τη μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα καταγράφεται η εκπομπή από τα διεγερμένα άτομα οξυγόνου στα 777 nm, ενώ για τη μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα καταγράφεται η εκπομπή από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου στα 393.4 και 396.8 nm (Πίνακας 2.1). Στο Σχήμα 5.5 παρουσιάζονται τα φάσματα εκπομπής του πλάσματος στη φασματική περιοχή 380-400 nm και 720-790 nm καθώς και τα φάσματα διαπερατότητας των φίλτρων που επιτρέπουν τη διέλευση των συγκεκριμένων γραμμών εκπομπής.

# 5.2. Χαρακτηρισμός της περιοχής εστίασης του παλμού λέιζερ

Ο προσδιορισμός της εστιακής περιοχής του συγκεντρωτικού φακού στα 1064 nm πραγματοποιήθηκε μέσω της καταγραφής εικόνων του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε συνθήκες κατωφλίου. Όταν η μέση ενέργεια του παλμού λέιζερ είναι E<sub>Pulse</sub> ~ 7.5 mJ ένας στους δέκα παλμούς λέιζερ οδηγεί σε σχηματισμό πλάσματος, οπότε γίνεται αντιληπτό ότι σε αυτές τις συνθήκες η ροή οπτικής ισχύος υπερβαίνει την τιμή κατωφλίου μόνο στην εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού. Στο Σχήμα 5.6 παρουσιάζεται αντιπροσωπευτική εικόνα του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα όταν E<sub>Pulse</sub> ~ 7.5 mJ, η καταγραφή της οποίας επιτυγχάνεται παρακολουθώντας την εκπομπή από τα διεγερμένα άτομα οξυγόνου, το οποίο αποτελεί κύριο συστατικό του ατμοσφαιρικού αέρα. Είναι εμφανές ότι η περιοχή σχηματισμού πλάσματος έχει σχήμα έλλειψης, συμπεριφορά η οποία προβλέπεται από την οπτική.



**Σχήμα 5.6.** α) Εικόνα του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες κατωφλίου και τα χωρικά προφίλ της έντασης του φωτός, β) κατά μήκος του άξονα z και γ) κατά μήκος του άξονα y. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 0$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  ns,  $E_{Pulse} = 7.5$  mJ, Φίλτρο: Ο. Η διάδοση του λέιζερ λαμβάνει χώρα στον άξονα z κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην εικόνα (από κάτω προς τα πάνω).

Από την ανάλυση των χωρικών προφίλ της έντασης της ακτινοβολίας που καταγράφεται στους άξονες z και y είναι εφικτός ο προσδιορισμός του μεγέθους του πλάσματος στις δεδομένες συνθήκες. Το μήκος του πλάσματος στον άξονα z μετρούμενο στο

FWHM είναι  $d_{z(FWHM)} = 250 \ \mu\text{m}$ , ενώ η τιμή που υπολογίζεται στο 10% της μέγιστης έντασης είναι  $d_{z(10\%)} = 500 \ \mu\text{m}$ , αντίστοιχα οι τιμές που υπολογίζονται στον άξονα y είναι  $d_{y(FWHM)} = 70 \ \mu\text{m}$  και  $d_{y(10\%)} = 130 \ \mu\text{m}$ . Το μέγιστο της έντασης ορίζει το εστιακό σημείο (y<sub>0</sub>, z<sub>0</sub>).

# 5.3. Εξάρτηση της θέσης σχηματισμού πλάσματος στον στατικό αέρα από την ενέργεια του παλμού λέιζερ

Μελετήθηκε η εξάρτηση της θέσης της περιοχής σχηματισμού πλάσματος στον στατικό αέρα ως προς την ενέργεια του παλμού λέιζερ και στο Σχήμα 5.7 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος, που δημιουργείται σε στατικό αέρα για διαφορετικές τιμές ενέργειας του παλμού. Όταν η ενέργεια του παλμού λέιζερ είναι κοντά στην τιμή κατωφλίου ( $E_{Pulse} = 7.5 \text{ mJ}$ ) ο σχηματισμός του πλάσματος λαμβάνει χώρα μόνο στην εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού. Η αύξηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί στη βαθμιαία μετατόπιση της περιοχής σχηματισμού του πλάσματος πριν την εστιακή περιοχή του φακού. Αυτό συμβαίνει διότι λόγω της υψηλής ενέργειας του παλμού λέιζερ η ροή οπτικής ισχύος υπερβαίνει την τιμή κατωφλίου πριν την περιοχή εστίασης με αποτέλεσμα να παρατηρείται ο σχηματισμός πλάσματος σε περιοχή με z < z<sub>0</sub>.



**Σχήμα 5.7.** α) Εικόνες του πλάσματος κατά τη στιγμή του σχηματισμού του για διαφορετικές τιμές της ενέργειας του παλμού λέιζερ καταγεγραμμένες με τ<sub>Delay</sub> = 0 ns, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns, β) εξάρτηση της έντασης της εκπομπής από την ενέργεια του παλμού λέιζερ και γ) απόσταση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος από την εστιακή περιοχή (|z-z<sub>0</sub>|) ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ. Φίλτρο: Ο. Η κίτρινη γραμμή δηλώνει τη θέση εστίασης του λέιζερ, ενώ η διάδοση της δέσμης λαμβάνει χώρα κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω).

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι όταν η τιμή της ενέργειας του παλμού λέιζερ  $E_{Pulse} > 160 \text{ mJ}$  ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε απόσταση περίπου 2 mm πριν την περιοχή εστίασης του συγκεντρωτικού φακού. Για να εξασφαλιστεί επομένως η βέλτιστη αλληλεπίδραση του αερολύματος με τον παλμό λέιζερ και το σχηματιζόμενο πλάσμα, ο άξονας του εκνεφωτή (y) θα πρέπει να τοποθετηθεί 2 mm πριν από το εστιακό σημείο του φακού, έτσι ώστε το σχηματιζόμενο αερόλυμα να ευρίσκεται εντός της περιοχής σχηματισμού πλάσματος. Τα αποτελέσματα της απεικονιστικής μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με την προτεινόμενη μεθοδολογία LIBS, στην οποία η θέση βέλτιστης αλληλεπίδρασης προσδιορίστηκε, παρατηρώντας την ένταση της εκπομπής από τα συστατικά του αερολύματος, ως συνάρτηση της απόστασης του εκνεφωτή από την περιοχή εστίασης του παλμού λέιζερ [1,2].

Στις εικόνες που παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.7 εμφανίζεται μια ανομοιομορφία στο πλάσμα, πιο συγκεκριμένα φαίνεται ότι στη δεξιά πλευρά των εικόνων υπάρχει μια «αιχμή», η οποία υποδηλώνει ότι το πλάσμα στη συγκεκριμένη περιοχή είναι ισχυρότερο και εμφανίζεται λίγο πιο επίμηκες συγκριτικά με την αριστερή περιοχή. Η συμπεριφορά αυτή αποδίδεται στην ανομοιόμορφη κατανομή της ενέργειας του παλμού λέιζερ στη διατομή της δέσμης. Στο Σχήμα 5.8 παρουσιάζεται το χωρικό προφίλ του παλμού λέιζερ το οποίο παρέχει πληροφορίες σχετικά με την κατανομή της ενέργειας στη διατομή της δέσμης, όπως αποτυπώνεται σε φωτογραφικό χαρτί το οποίο τοποθετήθηκε κάθετα στον άξονα διάδοσης του παλμού λέιζερ. Η αλληλεπίδραση της δέσμης λέιζερ με το χαρτί οδηγεί σε φωτοαποδόμηση και σχηματισμό πλάσματος.



**Σχήμα 5.8.** Χωρικό προφίλ παλμού λέιζερ συγκριτικά με εικόνα του πλάσματος που δημιουργείται από παλμούς ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 156 mJ.

Η αποτελεσματικότητα της διαδικασίας φωτοαποδόμησης εξαρτάται από την ενέργεια του παλμού λέιζερ, οπότε κατ' αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η αποτύπωση του χωρικού προφίλ της δέσμης. Είναι εμφανές ότι υπάρχει ανομοιομορφία στην χωρική κατανομή της ενέργειας του παλμού λέιζερ, η οποία είναι πιο έντονη στο δεξιό τμήμα της δέσμης, όπου εμφανίζονται περισσότερα τοπικά μέγιστα έντασης (hot spots). Η παρουσία των hot spots δηλώνει ότι στη συγκεκριμένη περιοχή η ενέργεια του παλμού είναι σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με τις γειτονικές περιοχές. Η παρατηρούμενη ανομοιογένεια διατηρείται κατά την εστίαση του παλμού λέιζερ και οδηγεί στη συμπεριφορά που καταγράφεται στις εικόνες του Σχήματος 5.7.

# 5.4. Μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της χρονικής εξέλιξης του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα από την εστίαση παλμών λέιζερ ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 170 mJ, το αποτέλεσμα της οποίας παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.9. Η καταγραφή των εικόνων πραγματοποιήθηκε παρακολουθώντας την εκπομπή ακτινοβολίας από διεγερμένα άτομα οξυγόνου (Ο Ι, 777 nm) σε διάφορες χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub>. Στην πρώτη εικόνα παρουσιάζεται η θέση της περιοχής εστίασης, η οποία επισημαίνεται με την κίτρινη γραμμή και στις υπόλοιπες εικόνες.

Το πλάσμα μετά το σχηματισμό του εκτονώνεται προς όλες τις κατευθύνσεις αυξάνοντας σταδιακά το μέγεθός του. Το μέτωπο του πλάσματος που κινείται σε αντίθετη κατεύθυνση από τον παλμό λέιζερ ορίζεται ως πρόσθιο μέτωπο (Plasma Front), το μέτωπο που έχει ίδια κατεύθυνση με τον παλμό λέιζερ ορίζεται ως οπίσθιο μέτωπο (Plasma Tail). Τα μέτωπα που εκτονώνονται κάθετα ως προς την κατεύθυνση διάδοσης του λέιζερ αναφέρονται ως πλευρικά μέτωπα και διακρίνονται σε δεξιό (Right Side Front) και αριστερό μέτωπο (Left Side Front) κατ' αντιστοιχία με τον τρόπο που αντιλαμβάνεται ο αναγνώστης τις διευθύνσεις.

Το μέγεθος του πλάσματος αυξάνει σταδιακά για χρονικό διάστημα τ<sub>Delay</sub> = 4-5 με μετά το σχηματισμό του, ενώ στη συνέχεια μειώνεται βαθμιαία λόγω της μη αντιστρεπτής απώλειας ενέργειας προς το περιβάλλον. Η μη αντιστρεπτή απώλεια ενέργειας προς το περιβάλλον ήνεται αντιληπτή από τη συνεχή μείωση της τιμής της καταγραφόμενης έντασης της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας. Με βάση τα δεδομένα στο Σχήμα 5.9γ, τα οποία περιγράφουν την εξέλιξη της έντασης της εκπομπής εξάγεται το συμπέρασμα ότι η κινητική που ακολουθεί η αποδιέγερση των ατόμων οξυγόνου είναι σύνθετη και για την περιγραφή της απαιτούνται τουλάχιστον δύο εκθετικές συναρτήσεις.

Είναι εμφανές ότι η εκτόνωση του πλάσματος είναι εντονότερη κατά μήκος του άξονα διάδοσης της ακτινοβολίας λέιζερ, καθώς υπάρχει πιο εκτεταμένη αλληλεπίδραση του πρόσθιου μετώπου του πλάσματος με την ακτινοβολία λέιζερ το χρονικό διάστημα κατά το οποίο είναι παρών ο παλμός λέιζερ. Οι προτεινόμενοι μηχανισμοί, οι οποίοι ερμηνεύουν την



παρατηρούμενη συμπεριφορά του πλάσματος είναι δύο και αναφέρονται ως Laser-Supported Detonation Wave (LSDW) και Laser-Supported Radiation Wave (LSRW) [3].

**Σχήμα 5.9.** α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β) χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής σε κανονική κλίμακα και γ) σε λογαριθμική κλίμακα. Η πρώτη εικόνα δηλώνει τη θέση εστίασης του λέιζερ. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση αυτή σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns, Φίλτρο: Ο. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Φίλτρο: Ο. Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Σύμφωνα με το μηχανισμό LSDW ένα τμήμα της ενέργειας του παλμού λέιζερ απορροφάται από τον αέρα προκαλώντας τη διέγερση και τον ιοντισμό του με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια πρωταρχική κατάσταση του πλάσματος, η οποία εκτονώνεται και συντελεί στη δημιουργία ωστικού κύματος (shock wave) το οποίο διαδίδεται ομοιόμορφα προς όλες τις κατευθύνσεις. Η αλληλεπίδραση του αερίου με το ωστικό κύμα οδηγεί σε θέρμανση και ιοντισμό των ατόμων/μορίων του αερίου, δημιουργώντας μια οπτικώς πυκνή περιοχή, η οποία εμφανίζει αυξημένη ικανότητα απορρόφησης της ακτινοβολίας λέιζερ. Το πρόσθιο μέτωπο του πλάσματος, αλληλεπιδρά ισχυρότερα με τον παλμό λέιζερ, καθώς κινείται προς τον συγκεντρωτικό φακό, δηλαδή αντίθετα στην κατεύθυνση διάδοσης του παλμού λέιζερ, με αποτέλεσμα να αλληλεπιδρά νωρίτερα με τον παλμό λέιζερ. Η διεργασία οδηγεί σε εναπόθεση μεγαλύτερου τμήματος της ενέργειας του παλμού λέιζερ στο πρόσθιο μέτωπο, με αποτέλεσμα να παρατηρείται πιο έντονη εκτόνωση του πλάσματος σε αυτήν την περιοχή.

Σύμφωνα με το μηχανισμό LSRW η ακτινοβολία (στην περιοχή του υπεριώδους ακτίνων X), που εκπέμπεται από την αρχική κατάσταση του πλάσματος, απορροφάται από τα μόρια του αερίου και οδηγεί σε έντονη θέρμανση και ιοντισμό του. Οπότε κατ' αντιστοιχία με το μηχανισμό LSDW δημιουργείται μία οπτικώς πυκνή περιοχή, η οποία απορροφά ισχυρότερα την ακτινοβολία λέιζερ. Η διάδοση της κατάστασης αυτής αντίθετα από τη διάδοση του παλμού λέιζερ, υποστηρίζεται από τον παλμό λέιζερ και οδηγεί στην εναπόθεση μεγαλύτερου ποσού ενέργειας στο πρόσθιο μέτωπο του πλάσματος.

Στο Σχήμα 5.10 παρουσιάζεται η μετατόπιση όλων των μετώπων του πλάσματος, σε κανονική και λογαριθμική κλίμακα, όπως υπολογίστηκε με βάση τα δεδομένα του Σχήματος 5.9. Η μετατόπιση των μετώπων του πλάσματος υπολογίστηκε, από τα χωρικά προφίλ της έντασης σε κάθε εικόνα κατά μήκος του άξονα z και y. Η αρχική θέση των μετώπων ορίστηκε, σε τιμή  $\tau_{\text{Delay}} = 0$  ns, ως η θέση στην οποία η ένταση της καταγραφόμενης ακτινοβολίας αντιστοιχεί σε ποσοστό 10% της μέγιστης τιμής της έντασης. Για τον προσδιορισμό της μετακίνησης των μετώπων του πλάσματος πραγματοποιήθηκε καταγραφή της θέσης στην οποία η ένταση της ακτινοβολίας αντιστοιχεί σε ποσοστό 10% της τιμής αυτής από την αντίστοιχη τιμή που προσδιορίστηκε σε τ<sub>Delay</sub> = 0 ns.

Παρατηρείται ότι το πρόσθιο και το οπίσθιο μέτωπο του πλάσματος απομακρύνονται από την αρχική τους θέση για χρόνους τ<sub>Delay</sub>  $\leq$  4-6 μs, ενώ εν συνεχεία παρατηρείται μετακίνηση στην αντίθετη κατεύθυνση, η οποία υποδηλώνει ότι το πλάσμα εισέρχεται σε μία φάση συρρίκνωσης. Τα πλάγια μέτωπα του πλάσματος μελετήθηκαν σε δύο περιοχές, η μία είναι στο ύψος της εστιακής περιοχής, z ~ 4.7 mm, ενώ η δεύτερη στη θέση z ~ 3 mm. Τα πλάγια μέτωπα στη θέση z ~ 3 mm παρουσιάζουν συμπεριφορά αντίστοιχη με το πρόσθιο και το οπίσθιο μέτωπο. Τα πλάγια μέτωπα του πλάσματος στη θέση z ~ 4.7 mm απομακρύνονται από την αρχική τους θέση για χρόνους τ<sub>Delay</sub>  $\leq$  4 μs, ενώ στη συνέχεια δεν παρατηρείται μεταβολή στη θέση τους. Αυτό συμβαίνει διότι κατά τη συρρίκνωση του πλάσματος αυξάνει σταδιακά η πίεση του αερίου, οπότε στη συγκεκριμένη περιοχή υπάρχει εξισορρόπηση της εξωτερικής πίεσης με την πίεση του πλάσματος, με αποτέλεσμα να μην παρατηρείται μεταβολή στη θέση των μετώπων.

Από τη μελέτη της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος ως προς το χρόνο είναι εφικτή η εξαγωγή πληροφοριών σχετικά με τον μηχανισμό της εκτόνωσης του πλάσματος. Πιο συγκεκριμένα εάν θεωρηθεί ότι ο σχηματισμός του πλάσματος είναι ισοδύναμος με σημειακή έκρηξη η μετατόπιση των μετώπων του πλάσματος ως προς το χρόνο (R(t)) μπορεί να περιγραφεί ικανοποιητικά με το μοντέλο Taylor-Sedov [4,5]:

$$\mathbf{R}(t) = \xi (E/\rho_b)^{1/(n+2)} t^{2/(n+2)}$$
(5.1)

όπου Ε είναι το ποσό της ενέργειας που απελευθερώνεται κατά την έκρηξη,  $\rho_b$  η πυκνότητα του αέρα και ξ μία σταθερά που σχετίζεται με την ειδική θερμοχωρητικότητα του συστήματος. Το n αποτελεί παράμετρο, η οποία μπορεί να λάβει την τιμή 1, 2 ή 3 ανάλογα με το μηχανισμό που πραγματοποιείται η εκτόνωση του συστήματος. Όταν n = 1 η εκτόνωση του συστήματος πραγματοποιείται μέσω επίπεδων κυμάτων, όταν n = 2 η εκτόνωση του συστήματος πραγματοποιείται μέσω κυλινδρικών κυμάτων και όταν n = 3 η εκτόνωση του συστήματος οδηγεί στη δημιουργία σφαιρικών κυμάτων.

Μέσω της προσαρμογής κατάλληλης συνάρτησης που περιγράφει ευθεία της μορφής  $f(x) = ax+\beta$  στο διάγραμμα του λογάριθμου της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος ως προς το λογάριθμο του χρόνου είναι εφικτός ο υπολογισμός της τιμής που λαμβάνει η παράμετρος n σύμφωνα με το μοντέλο Sedov για σημειακή έκρηξη. Από την τιμή της κλίσης της ευθείας (0.67  $\rightarrow$  n = 1, 0.5  $\rightarrow$  n = 2, 0.4  $\rightarrow$  n = 3) εξάγεται η τιμή της παραμέτρου n η οποία εμπεριέχει την πληροφορία σχετικά με το μηχανισμό εκτόνωσης του πλάσματος. Η τιμή που υπολογίζεται για το πρόσθιο μέτωπο είναι 0.4 ενώ για το οπίσθιο 0.42, τιμές οι οποίες αντιστοιχούν σε n=3, οπότε εξάγεται το συμπέρασμα ότι στις δεδομένες συνθήκες η εκτόνωση του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα πραγματοποιείται μέσω σφαιρικών κυμάτων.

Η περιγραφή της μετατόπισης των πλευρικών μετώπων του πλάσματος στην περιοχή εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ z ~ 4.7 mm, για  $100 \le \tau_{Delay} \le 2000$  ns είναι σε συμφωνία με το μοντέλο Sedov για n = 3 όπως και στην περίπτωση του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου του πλάσματος. Ωστόσο στη θέση z ~ 3 mm δεν είναι εφικτή η περιγραφή των δεδομένων με το μοντέλο Sedov. Η συμπεριφορά αυτή του πλάσματος είναι λογική καθώς δεν υπάρχει κάποιο εμπόδιο στην εκτόνωση του πλάσματος, οπότε αναμένεται να υπάρχει ομοιόμορφη εκτόνωση προς όλες τις κατευθύνσεις. Στην περίπτωση σχηματισμού πλάσματος στην επιφάνεια στερεών υλικών η τιμή που λαμβάνει το n είναι 0.2, τιμή η οποία δηλώνει ότι

η εκτόνωση του πλάσματος πραγματοποιείται μέσω κυλινδρικών κυμάτων [6]. Γίνεται αντιληπτό ότι ο μηχανισμός εκτόνωσης του πλάσματος εξαρτάται άμεσα από τις συνθήκες στις οποίες λαμβάνει χώρα ο σχηματισμός πλάσματος.



**Σχήμα 5.10.** Χρονική εξέλιξη της θέσης α, β) του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου, γ, δ) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 4.7 mm και ε, στ) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 3 mm που δημιουργείται στον στατικό αέρα σε κανονική κλίμακα (δεξιά) και λογαριθμική κλίμακα (αριστερά).

Στο Σχήμα 5.11 παρουσιάζεται η πρώτη παράγωγος της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος ως προς το χρόνο, η οποία εκφράζει την τιμή της ταχύτητας εκτόνωσης του πλάσματος (vexp) τη δεδομένη χρονική στιγμή. Παρατηρείται ότι η τιμή της vexp ,για το πρόσθιο και το οπίσθιο μέτωπο του πλάσματος, τα πρώτα ns μετά το σχηματισμό του πλάσματος είναι υψηλότερη από 1 km/s, ενώ μειώνεται κατά μία τάξη μεγέθους σε τ<sub>Delay</sub> >

400 ns. Για τιμές τ<sub>Delay</sub> > 4 μs η υ<sub>exp</sub> λαμβάνει αρνητικές τιμές, οι οποίες δηλώνουν ότι το πλάσμα εισέρχεται σε μια κατάσταση συμπίεσης. Η ταχύτητα εκτόνωσης των πλευρικών μετώπων του πλάσματος είναι κατά μία τάξη μεγέθους μικρότερη από την ταχύτητα του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου.



**Σχήμα 5.11.** Ταχύτητα εκτόνωσης του πλάσματος ως προς το χρόνο τ<sub>Delay</sub> α) του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου και β) του δεξιού και του αριστερού μετώπου του πλάσματος στη θέση z ~ 4.7 mm.

Εάν θεωρηθεί ότι το πλάσμα έχει κυλινδρικό σχήμα είναι εφικτός ο προσδιορισμός του όγκου του πλάσματος. Η προσέγγιση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα δεδομένα των εικόνων για τιμές 500 ns < τ<sub>Delay</sub> < 7000 ns. Στο Σχήμα 5.12 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη του όγκου του πλάσματος. Ο όγκος του πλάσματος αυξάνει συνεχώς από τη στιγμή σχηματισμού του μέχρι τ<sub>Delay</sub> = 4-6 μs, οπότε λαμβάνει τη τιμή V<sub>Plume</sub> ~ 40 mm<sup>3</sup>, ενώ στη συνέχεια μειώνεται έως τ<sub>Delay</sub> ~ 10 μs. Στη συνέχεια το πλάσμα εισέρχεται σε μία δεύτερη φάση εκτόνωσης όπου αυξάνεται συνεχώς ο όγκος του μέχρι τη στιγμή της απόσβεσής του λόγω της μη αντιστρεπτής μεταφοράς ενέργειας προς το περιβάλλον.



Σχήμα 5.12. Χρονική εξέλιξη του όγκου του πλάσματος.

Στο Σχήμα 5.13 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος για χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 15 μs. Το μέγεθος του πλάσματος φαίνεται να αυξάνει, καθώς εισέρχεται σε μία δεύτερη φάση

εκτόνωσης. Για την καταγραφή των εικόνων έχει αυξηθεί η τιμή του χρόνου συλλογής από  $\tau_{Gate} = 10$  ns σε  $\tau_{Gate} = 10$  μs, διότι η εκπομπή του πλάσματος έχει εξασθενήσει σημαντικά. Το πλάσμα εμφανίζει μια τάση διάσπασης σε δύο τμήματα σε χρόνους  $\tau_{Delay} > 15$  μs, με την διαδικασία να ολοκληρώνεται στα 50 μs. Η απόσβεση της οπτικής εκπομπής και κατ' επέκταση του πλάσματος παρατηρείται σε  $\tau_{Delay} = 90$  μs.



Σχήμα 5.13. Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Η διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> αναγράφεται σε κάθε εικόνα. Φίλτρο: Ο. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Η εξέλιξη του πλάσματος που αποτυπώνεται στις εικόνες του Σγήματος 5.9 και του Σχήματος 5.13 βρίσκεται σε συμφωνία με τα δεδομένα αντίστοιχης μελέτης που πραγματοποιήθηκε από την ερευνητική ομάδα του Harilal [3]. Πιο συγκεκριμένα οι ερευνητές μελέτησαν την εξέλιξη του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα, από παλμούς λέιζερ ενέργειας 55 mJ σε μήκος κύματος  $\lambda = 1064$  nm. Η απεικονιστική μελέτη του πλάσματος πραγματοποιήθηκε μέσω της καταγραφής της οπτικής εκπομπής του πλάσματος, όπως και μέσω της τεχνικής της σκιαγραφίας. Η τεχνική της σκιαγραφίας είναι ευαίσθητη στη μεταβολή του δείκτη διάθλασης του εξεταζόμενου μέσου, οπότε παρέχει πιο ακριβείς πληροφορίες σχετικά με την εμφάνιση ανομοιογένειας στο μέσο. Τα αποτελέσματα των δύο τεχνικών είχαν διαφορές όσον αφορά την χρονική εξέλιξη της θέσης των μετώπων του πλάσματος, οι οποίες αποδόθηκαν στην απόσβεση της εκπομπής στη ζώνη αλληλεπίδρασης του μετώπου του πλάσματος με τον στατικό αέρα. Η εκτόνωση του πλάσματος σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 15 με αποδίδεται στην αλληλεπίδραση του ωστικού κύματος που ανακλάται πίσω προς το πλάσμα μετά την αρχική αποσύζευξή του από το πλάσμα. Η συμπεριφορά αυτή οδηγεί σε επαναθέρμανση του πλάσματος με αποτέλεσμα να παρατηρείται εκ νέου ξανά η εκτόνωσή του.

#### 5.5. Χαρακτηρισμός του αερολύματος με Laser Sheet Imaging

Για την κατανόηση των διεργασιών που διέπουν την αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια του αερολύματος, είναι απαραίτητη η γνώση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών του αερολύματος όπως και της πυκνότητας των σταγονιδίων. Η πειραματική διάταξη της τεχνικής LSI (Laser Sheet Imaging, LSI) που χρησιμοποιήθηκε αποτελεί τροποποίηση της ήδη υπάρχουσας πειραματικής διάταξης που παρουσιάστηκε στο Σχήμα 5.3. Η τροποποίηση της διάταξης αφορά στην τοποθέτηση ενός κυλινδρικού φακού εστιακής απόστασης f = +10 cm στη θέση του συγκεντρωτικού φακού. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στην καταγραφή της σκέδασης της ακτινοβολίας λέιζερ από τα σταγονίδια του αερολύματος, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.14. Πιο συγκεκριμένα παλμοί λέιζερ στα 532 nm (2<sup>η</sup> αρμονική Nd:YAG) κατευθύνονται προς τον κυλινδρικό φακό (f = +10 cm), με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα οπτικό «φύλλο» λέιζερ, το πάχος του οποίου στην εστιακή περιοχή είναι 25 μm. Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων η θέση τοποθέτησης του εκνεφωτή ρυθμίστηκε έτσι ώστε το πάχος του «φύλλου» λέιζερ που διέρχεται από το αερόλυμα να είναι περίπου 100 μm. Η συλλογή του φωτός που σκεδάζεται στο ανιχνευτή ICCD. Η χωρική ανάλυση που επιτυγχάνεται με την παρούσα πειραματική διάταξη είναι της τάξης των 26 μm.



Σχήμα 5.14. Σχηματική περιγραφή της τεχνικής laser sheet imaging.

Όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται σε λειτουργία τροφοδοτείται με συνεχή ροή αργού η τιμή της οποίας είναι  $F_{Ar} \sim 0.65$  L/min. Η ταχύτητα των ατόμων του αργού που διέρχονται από το ακροφύσιο του εκνεφωτή μπορεί να υπολογιστεί από την τιμή της ροής με βάση την εξίσωση F = dV/dt, η οποία μπορεί να μετασχηματιστεί σε F = A(dx/dt), όπου A είναι το εμβαδόν της επιφάνειας από την οποία διέρχεται το αέριο και dx/dt είναι η γραμμική ταχύτητα των ατόμων του αργού ( $\upsilon_{Ar}$ ). Λαμβάνοντας  $\upsilon π$ ' όψη ότι η διάμετρος του ακροφυσίου του εκνεφωτή είναι  $v_{Ar} \sim 420$  m/s ή 1.3 Mach. Η τιμή της ταχύτητας των ατόμων αργού είναι ενδεικτική της μέγιστης ταχύτητας που μπορούν να λάβουν τα σταγονίδια που ψεκάζονται από τον πνευματικό εκνεφωτή. Η τιμή  $\upsilon_{Ar}$  είναι προσεγγιστική καθώς η μέτρηση της ροής του αργού όπως και η μέτρηση της διαμέτρου του ακροφυσίου εμπεριέχουν σφάλματα. Ωστόσο η τιμή που υπολογίζεται είναι λογική, καθώς οι εκνεφωτές αυτού του τύπου είναι σχεδιασμένοι να

λειτουργούν με υπερηχητικές ροές αργού, καθώς η αεροδυναμική σχάση των σταγονιδίων οδηγεί στο σχηματισμό σταγονιδίων μικρότερου μεγέθους (βλ. 2.8.).

Στο Σχήμα 5.15 παρουσιάζονται εικόνες του αερολύματος οι οποίες καταγράφηκαν παρατηρώντας τη σκέδαση της ακτινοβολίας λέιζερ στα 532 nm από τα σταγονίδια του αερολύματος. Κάθε εικόνα αντιστοιχεί σε ακτινοβόληση του εκνεφώματος με έναν μόνο παλμό λέιζερ. Να σημειωθεί ότι ο εκνεφωτής έχει τοποθετηθεί οριακά εκτός της εικόνας έτσι ώστε να αποφευχθεί ο κορεσμός του ανιχνευτή λόγω σκέδασης της δέσμης λέιζερ από το ακροφύσιο του εκνεφωτή. Το «φύλλο» λέιζερ διέρχεται από το κέντρο του εκνεφώματος, ενώ η κατανομή ενέργειας κατά μήκος του οπτικού «φύλλου» δεν είναι ομοιογενής, λόγω του κυκλικού προφίλ της κάθετης διατομής της δέσμης λέιζερ. Η διάρκεια του παλμού λέιζερ είναι 8 ns, οπότε τα σταγονίδια είναι πρακτικά ακίνητα κατά το χρονικό διάστημα καταγραφής της εικόνας.





**Σχήμα 5.15.** Στιγμιότυπα (διάρκειας ~ 10 ns) απεικόνισης του αερολύματος που έχουν ληφθεί με μεμονωμένους παλμούς λέιζερ (single shot).

Γίνεται αντιληπτό ότι η συμπεριφορά αυτή επηρεάζει σημαντικά τη μάζα του αναλύτη που μεταφέρεται στην κατάσταση πλάσματος, καθώς φαίνεται ότι σε κάθε τυχαίο
στιγμιότυπο αποτυπώνεται διαφορετικός αριθμός και συνεπώς όγκος σταγονιδίων. Αυτό ερμηνεύει την αυξημένη αβεβαιότητα των μετρήσεων LIBS με μεμονωμένους παλμούς (single shot) όπως προαναφέρθηκε στην εισαγωγή του παρόντος κεφαλαίου. Επίσης παρατηρείται ότι η αριθμητική πυκνότητα των σταγονιδίων είναι αρκετά υψηλή, ενώ ταυτόχρονα υπάρχει ανομοιομορφία όσον αφορά το μέγεθος των σταγονιδίων. Η συμπεριφορά αυτή είναι αναμενόμενη καθώς οι πνευματικοί εκνεφωτές είναι σχεδιασμένοι να παράγουν επί το πλείστον σταγονίδια διαμέτρου μικρότερης των 10 μm, δεδομένου ότι μόνο αυτά τα σταγονίδια είναι πλήρως εκμεταλλεύσιμα από το πλάσμα που χρησιμοποιείται στην τεχνική ICP-MS [7, 8]. Λόγω της χαμηλής οπτικής διακριτικής ικανότητας του συστήματος είναι αδύνατη η ποσοτικοποίηση του μεγέθους των σταγονιδίων οπότε από τα δεδομένα των εικόνων μπορούν να εξαχθούν μόνο ποιοτικά συμπεράσματα.

Στο Σχήμα 5.16 παρουσιάζεται εικόνα του αερολύματος η οποία προκύπτει από την άθροιση σαράντα εικόνων single shot. Στην εικόνα αυτή παρατηρείται σαφώς η γεωμετρία της διαμήκους τομής του εκνεφώματος, η οποία παρουσιάζει τριγωνικό σχήμα και οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η τρισδιάστατη δομή του αερολύματος έχει κωνικό σχήμα. Από τα δεδομένα της εικόνας (Σχήμα 5.16β) είναι εφικτός ο προσδιορισμός της ημιγωνίας (θ) του κώνου, η οποία στη συγκεκριμένη περίπτωση υπολογίζεται ως θ ~ 17°. Η τιμή της γωνίας που υπολογίζεται είναι σε συμφωνία με τις τιμές που παρατίθενται στην βιβλιογραφία [7].



Σχήμα 5.16. Εικόνα του αερολύματος που προκύπτει από το άθροισμα 40 εικόνων single shot.

Από τα δεδομένα των εικόνων είναι εφικτή η εκτίμηση του αριθμού των σταγονιδίων που ευρίσκονται εντός της επιφάνειας που καταλαμβάνει το πλάσμα. Η τιμή που υπολογίζεται με βάση τα δεδομένα στο Σχήμα 5.15 κυμαίνεται μεταξύ 0 και 100. Λαμβάνοντας υπ' όψην την τρισδιάστατη δομή του αερολύματος και του πλάσματος, γίνεται αντιληπτό ότι η τιμή αυτή αναμένεται να αυξηθεί σημαντικά.

# 5.6. Χρονική εξέλιξη του πλάσματος που σχηματίζεται σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία του αερολύματος.

Ο σχηματισμός πλάσματος σε συνθήκες εκνέφωσης λαμβάνει χώρα σε περιβάλλον το οποίο αποτελείται από μίγμα του στατικού αέρα με το αέριο εκνέφωσης, το οποίο στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι το αργό. Όταν ο εκνεφωτής βρίσκεται σε λειτουργία τροφοδοτείται συνεχώς με αργό, η ροή του οποίου είναι F<sub>Ar</sub> ~ 0.65 L/min.

Στο Σχήμα 5.17 και 5.18 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία των σταγονιδίων του αερολύματος για το χρονικό διάστημα 0 ns  $\leq \tau_{\text{Delay}} \leq 8$  μs και 11 μs  $\leq \tau_{\text{Delay}} \leq 71$  μs αντίστοιχα. Η καταγραφή των εικόνων πραγματοποιήθηκε μέσω της χρήσης κατάλληλου φίλτρου, το οποίο επιτρέπει τη διέλευση ακτινοβολίας στη φασματική περιοχή, όπου εμφανίζονται οι γραμμές ατομικής εκπομπής του ασβεστίου (βλ. Σχ. 5.5γ).

Οι εικόνες που καταγράφονται απουσία των σταγονιδίων είναι αντιπροσωπευτικές του σχήματος του πλάσματος καθώς καταγράφεται η εκπομπή ακτινοβολίας από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια λόγω φαινομένου πέδησης. Ο εκνεφωτής έχει τοποθετηθεί σε απόσταση 2 mm πριν από την εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού, θέση η οποία είναι εμφανής στις εικόνες (z ~ 3.7 mm) καθώς τμήμα της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα ανακλάται στο ακροφύσιο του εκνεφωτή.

Παρατηρείται ότι σε συνθήκες εκνέφωσης ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε δύο διακριτές περιοχές, πριν από την πραγματική εστία του συγκεντρωτικού φακού. Όπως έχει αναφερθεί και στην ενότητα 5.3, όταν η ενέργεια του παλμού λέιζερ είναι υψηλότερη από 150 mJ ο σχηματισμός πλάσματος παρατηρείται περίπου 1.5 mm πριν την εστία του φακού, καθώς η ροή οπτικής ισχύος υπερβαίνει την τιμή κατωφλίου πριν από το εστιακό σημείο. Η εμφάνιση της δεύτερης περιοχής σχηματισμού πλάσματος ακόμη πιο μακριά από την εστία (προς το λέιζερ) αποδίδεται στην παρουσία του αργού, καθώς η περιοχή αυτή ευρίσκεται μπροστά από το ακροφύσιο του εκνεφωτή οπότε αναμένεται να είναι πλούσια σε αργό. Η τιμή κατωφλίου σχηματισμού πλάσματος στο αργό είναι χαμηλότερη σε σχέση με την αντίστοιχη τιμή για τον ατμοσφαιρικό αέρα (βλ. 2.4.4.).

Τα μέτωπα από τις δύο περιοχές σχηματισμού πλάσματος καθώς εκτονώνονται στο χώρο συγκρούονται μετά από χρόνο τ<sub>Delay</sub> ~ 50 ns, και η διεργασία αυτή οδηγεί στο σχηματισμό ζώνης, ανάμεσα στις δύο εστίες, εντός της οποίας δεν παρατηρείται οπτική εκπομπή. Η επικάλυψη των δύο περιοχών ολοκληρώνεται μετά από τ<sub>Delay</sub> ~300 ns.



Σχήμα 5.17. α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β) χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το πλάσμα σε κανονική κλίμακα και γ) σε λογαριθμική κλίμακα. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά μήκος του άξονα z στην την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Οι εικόνες έχουν κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζουν.

Στην περιοχή πολύ κοντά στο ακροφύσιο του εκνεφωτή παρατηρείται σταδιακά η ανάπτυξη ζώνης στην οποία η εκπομπή από το πλάσμα είναι ισχυρότερη. Η συμπεριφορά αυτή και πάλι ερμηνεύεται από την παρουσία του αργού, καθώς το πλάσμα στην περιοχή που είναι πιο πλούσια σε αργό αναμένεται να παρουσιάζει υψηλότερη θερμοκρασία και ηλεκτρονιακή πυκνότητα. Είναι εμφανές ότι η παρουσία της ροής αργού οδηγεί σε σημαντική μείωση της συμμετρίας του πλάσματος, συμπεριφορά, η οποία δεν παρατηρήθηκε κατά τη μελέτη του πλάσματος στον στατικό αέρα. Η παρουσία του πλάσματος κοντά στο ακροφύσιο του εκνεφωτή λειτουργεί ως εμπόδιο στη ροή του αργού, με αποτέλεσμα να προκαλείται αύξηση της πίεσης τοπικά στη συγκεκριμένη περιοχή. Μετά από χρόνο τ<sub>Delay</sub> ~ 1 μs εμφανίζονται παραμορφώσεις στο πλάσμα, οι οποίες πιθανότατα οφείλονται στη διέλευση του αργού περιμετρικά του πλάσματος. Με την πάροδο του χρόνου η παραμόρφωση του πλάσματος γίνεται όλο και πιο έντονη, γεγονός που υποδηλώνει ότι η πίεση της ροής αργού είναι υψηλότερη από αυτήν του πλάσματος, με αποτέλεσμα η διέλευση του αργού περιμετρικά του πλάσματος να οδηγεί σε συμπίεση και σταδιακή απόσβεση αυτού.

Στο Σχήμα 5.18 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος για χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 11 μs. Η τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης έχει αυξηθεί, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs, καθώς έχει εξασθενήσει σημαντικά η εκπομπή (βλ. Σχ. 5.17β, γ). Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 11 μs παρατηρείται μερική διάτρηση του πλάσματος από τη ροή αργού, η οποία οδηγεί στο σχηματισμό δύο ζωνών. Με την πάροδο του χρόνου η ζώνη μπροστά από το ακροφύσιο του εκνεφωτή μετακινείται προς την εστιακή περιοχή ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται εξασθένηση της εκπομπής. Η δεύτερη ζώνη εκπομπής φαίνεται να σταθεροποιείται στο ύψος της εστιακής περιοχής έως ότου επέλθει η απόσβεση του πλάσματος. Η συμπεριφορά του πλάσματος σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 21 μs θυμίζει σε μεγάλο βαθμό την εξέλιξη του πλάσματος που σχηματίζεται στον στατικό αέρα (βλ. Σχ. 5.9).



**Σχήμα 5.18.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs (τ<sub>Delay</sub> < 50 μs) και 20 μs (τ<sub>Delay</sub> > 50 μs), Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Η χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής από το πλάσμα παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.17 (β, γ). Παρατηρείται ότι η ένταση φθίνει απότομα από τη στιγμή δημιουργίας του πλάσματος ενώ έχει ουσιαστικά μηδενιστεί σε χρόνους  $\tau_{\text{Delay}} > 40$  μs. Η κινητική που ακολουθεί η εκπομπή όπως καταγράφεται από τα δεδομένα των εικόνων του πλάσματος δεν είναι εφικτό να περιγραφεί με συνάρτηση απλής εκθετικής μείωσης, καθώς οι διεργασίες που συντελούνται είναι σύνθετες. Όπως έχει προαναφερθεί, η χρήση του φίλτρου στα 403 nm επιτρέπει την καταγραφή της ακτινοβολίας πέδησης, η οποία αποτελεί ακτινοβολία υποβάθρου για την τεχνική LIBS (βλ. 2.3.1). Η ένταση της ακτινοβολίας πέδησης είναι ισχυρή κατά τα πρώτα στάδια της δημιουργίας του πλάσματος, καθώς τότε η θερμοκρασία και η ηλεκτρονιακή πυκνότητα του πλάσματος λαμβάνουν τη μέγιστη τιμή τους, και εξασθενεί με την πάροδο του χρόνου καθώς προχωρούν οι διεργασίες επανασύνδεσης των ελεύθερων ηλεκτρονίων με τα ατομικά ιόντα στο πλάσμα.

Στο Σχήμα 5.19 παρουσιάζεται η μετατόπιση του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου του πλάσματος ως συνάρτηση του χρόνου καθυστέρησης τ<sub>Delay</sub>. Να σημειωθεί ότι λόγω της σημαντικής παραμόρφωσης που υφίσταται το πλάσμα δεν ήταν εφικτή η μελέτη των πλευρικών μετώπων του πλάσματος. Η ανάλυση της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος με βάση το μοντέλο Sedov πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε στην ενότητα 5.4. Η κλίση της ευθείας στο Σχήμα 5.19β για το πρόσθιο μέτωπο λαμβάνει την τιμή 0.52, η οποία αντιστοιχεί σε n = 2, ενώ η κλίση της ευθείας για το οπίσθιο μέτωπο λαμβάνει την τιμή 0.4, η οποία αντιστοιχεί σε n = 3. Η εκτόνωση του οπίσθιου μετώπου του πλάσματος ακολουθεί τον ίδιο μηγανισμό στο στατικό αέρα και σε συνθήκες εκνέφωσης. Στην περίπτωση του πρόσθιου μετώπου παρατηρείται μεταβολή στο μηχανισμό εκτόνωσης του πλάσματος, η οποία φανερώνει ότι υπάρχει σημαντική επίδραση από την παρουσία της ροής του αργού. Το πρόσθιο μέτωπο του πλάσματος αλληλεπιδρά άμεσα με τη ροή του αργού εν αντιθέσει με το οπίσθιο μέτωπο, όπου η αλληλεπίδραση φαίνεται να είναι περιορισμένη λόγω της γεωμετρικής θέσης αυτού σε σχέση με το ακροφύσιο του εκνεφωτή. Η μεταβολή του μηγανισμού εκτόνωσης του πρόσθιου μετώπου από n=3 στον στατικό αέρα σε n=2 σε συνθήκες εκνέφωσης δηλώνει ότι η ροή του αργού συμπεριφέρεται ως εμπόδιο ενάντια στην ελεύθερη εκτόνωση του πρόσθιου μετώπου του πλάσματος.



Σχήμα 5.19. Χρονική εξέλιξη της θέσης του πρόσθιου και του οπίσθιου μετώπου του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης, απουσία σταγονιδίων, σε α) κανονική και β) λογαριθμική κλίμακα.

### 5.7. Χρονική εξέλιξη του πλάσματος που σχηματίζεται στο αερόλυμα

Για τη μελέτη της εξέλιξης του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα, χρησιμοποιείται διάλυμα ιόντων ασβεστίου σε συγκέντρωση [Ca] = 10.000 μg/mL. Η προσθήκη ασβεστίου σε τόσο υψηλή συγκέντρωση επιτρέπει την παρακολούθηση των σταγονιδίων, καθώς η διαπερατότητα του φίλτρου στην φασματική περιοχή που εμφανίζονται οι γραμμές εκπομπής από τα άτομα ασβεστίου είναι της τάξης του 1%, οπότε με τον τρόπο αυτό αναμένεται να αυξηθεί ο λόγος I<sub>Ca</sub>/I<sub>Background</sub>.

Στο Σχήμα 5.20 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος, σε τ<sub>Delay</sub> = 0 ns, που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία και παρουσία των σταγονιδίων αερολύματος. Είναι εμφανές ότι και στις δύο περιπτώσεις ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε δύο διακριτές περιοχές. Ωστόσο, παρουσία του αερολύματος, σε μία από τις πέντε εικόνες, παρατηρείται σημαντικά υψηλότερη ένταση εκπομπής στη δεύτερη περιοχή σχηματισμού πλάσματος. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να ερμηνευθεί βάσει της συμπεριφοράς του πνευματικού εκνεφωτή. Όπως προαναφέρθηκε (βλ. 5.5) ο ψεκασμός σταγονιδίων από τον πνευματικό εκνεφωτή είναι ασυνεχής, οπότε η παρατηρούμενη συμπεριφορά αποδίδεται στην παρουσία σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος τη στιγμή άφιξης του παλμού λέιζερ. Η σχετικά μικρή συχνότητα εμφάνισης του φαινομένου, είναι σε συμφωνία με τη συμπεριφορά του εκνεφωτή που παρουσιάζεται στο Σχήμα 5.15. Η παρουσία των σταγονιδίων έχει επίδραση στις φυσικοχημικές ιδιότητες του περιβάλλοντος δημιουργίας πλάσματος, καθώς η υψηλή αριθμητική πυκνότητα του αερολύματος αυξάνει την ικανότητα απορρόφησης της ακτινοβολίας λέιζερ. Το αποτέλεσμα της συγκεκριμένης διεργασίας είναι η απορρόφηση μεγαλύτερου ποσοστού της ενέργειας του παλμού λέιζερ στην συγκεκριμένη περιοχή με αποτέλεσμα να δημιουργείται πιο ισχυρό πλάσμα.



**Σχήμα 5.20.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε συνθήκες εκνέφωσης σε τ<sub>Delay</sub>= 0 ns, α) απουσία σταγονιδίων, β) και γ) παρουσία σταγονιδίων. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Στο Σχήμα 5.21 παρουσιάζονται οι εικόνες του πλάσματος για 0 ns  $\leq \tau_{\text{Delay}} \leq 8$  μs. Η εξέλιξη του πλάσματος είναι όμοια με αυτήν που καταγράφηκε στην ενότητα 5.5. Στις εικόνες του πλάσματος που καταγράφηκαν σε χρόνους  $\tau_{\text{Delay}} > 2$  μs παρατηρείται η εμφάνιση φωτεινών κηλίδων, η ύπαρξη των οποίων αποδίδεται στην παρουσία σταγονιδίων στη συγκεκριμένη περιοχή του πλάσματος. Να σημειωθεί ότι, απουσία του αερολύματος, δεν παρατηρήθηκε σε καμμία περίπτωση αντίστοιχη συμπεριφορά.



**Σχήμα 5.21.** α) Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του, β,γ) χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής όπως καταγράφεται από τα δεδομένα των εικόνων σε κανονική και λογαριθμική κλίμακα αντίστοιχα. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 ns. Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Οι εικόνες έχουν κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζουν.

Η εξάτμιση και ατομοποίηση ενός σταγονιδίου, το οποίο περιέχει ασβέστιο, εντός του πλάσματος αφήνει τοπικά περίσσεια ατόμων ασβεστίου, η εκπομπή των οποίων παρατηρείται ως μια φωτεινή κηλίδα. Οι φωτεινές κηλίδες παρατηρούνται κυρίως στην περιοχή κοντά στο ακροφύσιο του εκνεφωτή, όπου και αναμένεται να υπάρχει έντονη παρουσία σταγονιδίων. Ο αριθμός και το μέγεθος των κηλίδων που καταγράφονται σε κάθε μέτρηση διαφέρει, συμπεριφορά η οποία αποδίδεται στην παρουσία μεταβλητού αριθμού σταγονιδίων στον όγκο που καταλαμβάνει το πλάσμα.

Στο Σχήμα 5.22 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος που καταγράφονται σε χρόνο  $\tau_{Delay} = 2$  με με χρόνο συλλογής  $\tau_{Gate} = 500$  ns. Η αύξηση στην τιμή του χρόνου  $\tau_{Gate}$  οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας της μέτρησης, οπότε είναι εφικτή η παρατήρηση σταγονιδίων μικρότερου μεγέθους. Παρατηρείται ότι οι εικόνες παρουσιάζουν υψηλή επαναληψιμότητα όσον αφορά το σχήμα του πλάσματος, όμως ο αριθμός και το μέγεθος των κηλίδων που εμφανίζονται σε κάθε εικόνα διαφέρει, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι υπάρχει μεταβλητός αριθμός σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού του πλάσματος. Τα σταγονίδια είτε προϋπάρχουν στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος πριν την άφιξη του παλμού λέιζερ, είτε εισέρχονται στο πλάσμα μετά το σχηματισμό του.

Στο Σχήμα 5.23 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος, στις οποίες εμφανίζονται κηλίδες, για τ<sub>Delay</sub> = 2-8 μs, με χρόνο συλλογής τ<sub>Gate</sub> = 500 ns. Παρατηρείται ότι η αύξηση στην τιμή του τ<sub>Delay</sub> οδηγεί σε μείωση της πιθανότητας παρατήρησης των κηλίδων. Αυτό συμβαίνει διότι τα σταγονίδια στο πλάσμα εισέρχονται αρχικά σε μια διαδικασία εξάτμισης, κατά την οποία απομακρύνεται το νερό, αφήνοντας πίσω την ποσότητα του ασβεστίου που φέρει το κάθε σταγονίδιο σε μορφή άλατος. Το άλας του ασβεστίου στη συνέχεια ατομοποιείται και διαχέεται σταδιακά στο πλάσμα, με αποτέλεσμα την παρατήρηση φωτεινής κηλίδας. Καθώς προχωρούν οι διεργασίες διάχυσης στο πλάσμα, το μέγεθος των κηλίδων αυξάνει με αποτέλεσμα να υπάρχει επικάλυψη με γειτονικές κηλίδες, οπότε σταδιακά να καθίστανται μη διακριτές.

Η ερευνητική ομάδα του Hahn πραγματοποίησε απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται σε μεμονωμένα σταγονίδια διαμέτρου 50 μm σε περιβάλλον αζώτου [9]. Για το σχηματισμό του πλάσματος χρησιμοποιήθηκαν παλμοί λέιζερ ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 314 mJ στα 1064 nm, ενώ στα σταγονίδια πραγματοποιήθηκε προσθήκη ασβεστίου σε συγκέντρωση 500 μg/mL. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι αρχικά λαμβάνει χώρα εξάτμιση του νερού στη σταγόνα ακολουθούμενη από ατομοποίηση, με τη διεργασία να ολοκληρώνεται μετά από χρονικό διάστημα της τάξης του 1 μs. Η συγκριτική μελέτη των διεργασιών διάχυσης του υδρογόνου και του ασβεστίου έδειξε ότι η τιμή του συντελεστή διάχυσης του υδρογόνου είναι κατά μία τάξη μεγέθους υψηλότερη συγκριτικά με την αντίστοιχη του ασβεστίου. Η παρουσία των σταγόνων οδηγεί σε τοπική διαταραχή του πλάσματος, η οποία εξομαλύνεται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 15-20 μs.

Η πλήρης απουσία φωτεινών κηλίδων από τις εικόνες που καταγράφονται σε χρόνους  $\tau_{Delay} > 8$  με δηλώνει ότι οι διεργασίες ατομοποίησης έχουν ολοκληρωθεί πλήρως οπότε πλέον η κύρια διεργασία που συντελείται είναι η διάχυση. Επίσης η συμπεριφορά αυτή δηλώνει ότι το πλάσμα εισέρχεται σε μία κατάσταση στην όποια είναι αδύνατη η ατομοποίηση των νεοεισερχόμενων σταγονιδίων.



**Σχήμα 5.22.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε τ<sub>Delay</sub> =2 με μετά το σχηματισμό του. Κάθε εικόνα αντιστοιχεί σε έναν παλμό λέιζερ. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 500 ns. Φίλτρο: Ca, E<sub>Pulse</sub> = 160 mJ. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Ο εκνεφωτής είναι τοποθετημένος στη θέση z = 4 mm. Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.



**Σχήμα 5.23.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα σε τ<sub>Delay</sub> = 2-8 με μετά το σχηματισμό του. Κάθε εικόνα αντιστοιχεί σε έναν παλμό λέιζερ. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 500 ns. Φίλτρο: Ca,  $E_{Pulse} = 160$  mJ. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Για να διευκρινιστεί η χρονική κλίμακα στην οποία ξεκινούν οι διεργασίες ατομοποίησης των συστατικών των σταγονιδίων πραγματοποιήθηκε καταγραφή φασμάτων LIBS σε διάφορες χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub> μετά το σχηματισμό του πλάσματος, τα οποία παρουσιάζονται στο Σχήμα 5.24. Η οπτική ίνα τοποθετήθηκε σε κατάλληλη θέση ώστε να συλλέγεται η ακτινοβολία που εκπέμπεται από περιοχή στο κέντρο του πλάσματος, όπως αυτό γίνεται αντιληπτό από το ανθρώπινο μάτι. Οι ατομικές γραμμές εκπομπής των ιόντων ασβεστίου γίνονται ευδιάκριτες σε τ<sub>Delay</sub> = 300 ns μετά το σχηματισμό του πλάσματος. Η παρουσία των γραμμών, τόσο νωρίς οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι διαδικασίες ατομοποίησης και διάχυσης έχουν προχωρήσει σημαντικά, συμπεριφορά που μπορεί να επιτευχθεί στην περίπτωση ύπαρξης πολύ μικρών σταγονιδίων (d < 5 μm). Η παρουσία σταγονιδίων αυτού του μεγέθους είναι αναμενόμενη για εκνεφωτές αυτού του τύπου (βλ. 3.1).



**Σχήμα 5.24.** Φάσματα LIBS του αερολύματος που περιέχει ασβέστιο σε διακριτές χρονικές στιγμές τ<sub>Delay</sub> μετά το σχηματισμό του. Διάρκεια παρατήρησης τ<sub>Gate</sub> = 10 ns.

Στο Σχήμα 5.25 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος για χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 10 μs, απουσία και παρουσία σταγονιδίων. Σε τ<sub>Delay</sub> = 11 μs παρατηρείται ότι η ένταση της εκπομπής στη ζώνη μπροστά από τον εκνεφωτή είναι ισχυρότερη από τη δεύτερη ζώνη παρουσία σταγονιδίων, συμπεριφορά που αποδίδεται στον εμπλουτισμό του πλάσματος με ασβέστιο. Το ασβέστιο σταδιακά διαχέεται από τη ζώνη μπροστά από τον εκνεφωτή προς την εστιακή περιοχή (κίτρινη γραμμή). Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 20 μs η διαδικασία μετακίνησης έχει ολοκληρωθεί οπότε παρατηρείται σταθεροποίηση του πλάσματος στη συγκεκριμένη περιοχή έως ότου επέλθει η απόσβεσή του. Γενικότερα υπάρχει σημαντική διαφορά στις σχετικές εντάσεις των εικόνων που καταγράφονται παρουσία και απουσία σταγονιδίων, οπότε γίνεται εμφανής η συμπεριφορά του ασβεστίου στο πλάσμα. Η μεθοδολογία LIBS που ακολουθείται προτείνει την εισαγωγή χρονικής καθυστέρησης τ<sub>Delay</sub> = 20 μs πριν την καταγραφή των φασμάτων. Γίνεται αντιληπτό ότι η τιμή αυτή είναι η βέλτιστη καθώς έχουν ολοκληρωθεί οι διεργασίες ατομοποίησης και διάχυσης των συστατικών των σταγονιδίων στο πλάσμα με αποτέλεσμα να υπάρχει υψηλή ομοιογένεια στο πλάσμα. Είναι σημαντικό ότι μετά από χρόνο  $\tau_{Delay} = 20$  μs το πλάσμα εντοπίζεται σε μία συγκεκριμένη περιοχή του χώρου και δεν μετακινείται περαιτέρω, οπότε ευνοείται η συλλογή ακτινοβολίας για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα που οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας της μέτρησης LIBS. Ο χρόνος ολοκλήρωσης ρυθμίζεται στα τ<sub>Gate</sub> = 100 μs, τιμή η οποία επιτρέπει τη συλλογή του συνόλου της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από τα άτομα ασβεστίου έως ότου επέλθει η απόσβεση του πλάσματος.



**Σχήμα 5.25.** Εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται σε στατικό αέρα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, τ<sub>Delay</sub>, μετά το σχηματισμό του. Με την κίτρινη γραμμή επισημαίνεται η θέση εστίασης σε όλες τις εικόνες. Διάρκεια παρατήρησης, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs (τ<sub>D</sub> < 50 μs) και 20 μs (τ<sub>D</sub> > 50 μs), Φίλτρο: Ca. Η δέσμη του λέιζερ διαδίδεται κατά την κατεύθυνση του βέλους που υποδεικνύεται στην 1<sup>η</sup> εικόνα (από κάτω προς τα πάνω). Κάθε εικόνα έχει κανονικοποιηθεί ως προς τη μέγιστη τιμή έντασης της εκπομπής που παρουσιάζει.

Στο Σχήμα 5.26 παρουσιάζονται εικόνες του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα, σε τ<sub>Delay</sub> = 0, τ<sub>Delay</sub> = 4 μs, και τ<sub>Delay</sub> = 20 μs ταυτόχρονα με την εικόνα του αερολύματος. Είναι εμφανές ότι η περιοχή σχηματισμού πλάσματος στη θέση z ~ 3.7 mm ευρίσκεται στο κέντρο του αερολύματος, ενώ η δεύτερη εκτός του αερολύματος. Η παρουσία των φωτεινών κηλίδων στην εικόνα που καταγράφεται σε τ<sub>Delay</sub> = 4 μs είναι σε πλήρη συμφωνία με τη γεωμετρία του αερολύματος. Είναι εμφανές ότι το πλάσμα αλληλεπιδρά με το σύνολο του αερολύματος που βρίσκεται στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος μέχρι τ<sub>Delay</sub> ~ 10 μs. Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> = 20 μs παρατηρείται ότι το πλάσμα βρίσκεται εκτός της περιοχής που καταλαμβάνει το αερόλυμα. Ωστόσο δεν αποκλείεται να υπάρχει θερμική αλληλεπίδραση με τα σταγονίδια του αερολύματος, η οποία οδηγεί σε εξάτμιση των σταγονιδίων και τη γενικότερη επίδραση που μελετήθηκε στο κεφάλαιο 4.



**Σχήμα 5.26.** Εικόνες του πλάσματος που σχηματίζεται στο αερόλυμα σε υπέρθεση με την εικόνα του αερολύματος σε α)  $\tau_{\text{Delay}} = 0$  ns, β)  $\tau_{\text{Delay}} = 4$  μs και γ)  $\tau_{\text{Delay}} = 21$  μs. Όλες οι εικόνες είναι στην ίδια κλίμακα.

### 5.8. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά πραγματοποιήθηκε απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που σχηματίζεται, από την εστίαση παλμών λέιζερ ενέργειας E<sub>Pulse</sub>=170 mJ, σε στατικό αέρα και στο αερόλυμα, με σκοπό τον προσδιορισμό του μηχανισμού εκτόνωσης του συστήματος καθώς και την κατανόηση των διεργασιών που διέπουν την αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια και το αποτέλεσμα που έχουν στην ευαισθησία της τεχνικής LIBS. Η απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στο στατικό αέρα είναι σημαντική καθώς αποτελεί το ιδανικό σύστημα, το οποίο διαταράσσεται από τη ροή του αργού και των σταγονιδίων.

Από τη μελέτη της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος ως προς το χρόνο, με την προσέγγιση ότι ο σχηματισμός πλάσματος είναι ισοδύναμος με σημειακή έκρηξη, σύμφωνα με το μοντέλο Sedov, προσδιορίστηκε ο μηχανισμός που ακολουθεί η εκτόνωση του πλάσματος. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η εκτόνωση του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα πραγματοποιείται μέσω σφαιρικών κυμάτων, ενώ σε συνθήκες εκνέφωσης η εκτόνωση του πρόσθιου μετώπου πραγματοποιείται μέσω κυλινδρικών κυμάτων και του οπίσθιου μέσω σφαιρικών κυμάτων. Η μεταβολή στο μηχανισμό εκτόνωσης αποδίδεται στην έντονη παρουσία της ροής του αργού, η οποία λειτουργεί ως εμπόδιο στην ελεύθερη εκτόνωση του πλάσματος, ενώ παράλληλα οδηγεί σε σημαντική μείωση της συμμετρίας του πλάσματος.

Όταν ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε συνθήκες εκνέφωσης παρατηρούνται δύο περιοχές σχηματισμού πλάσματος, η μία εκ των οποίων ευρίσκεται εντός του αερολύματος ενώ η δεύτερη στο περιβάλλον αέρα-αργού. Η μελέτη του πλάσματος το οποίο σχηματίζεται σε σταγονίδια, τα οποία περιέχουν ασβέστιο, επέτρεψε την καταγραφή των σταγονιδίων ως φωτεινές κηλίδες. Το μέγεθος και ο αριθμός των κηλίδων που

157

εμφανίζονται σε κάθε εικόνα του πλάσματος διαφέρει, συμπεριφορά η οποία αποδίδεται στα χαρακτηριστικά του αερολύματος και ευρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τα συμπεράσματα που είχαν εξαχθεί από τη μελέτη των φασματικών δεδομένων που πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής εργασίας του συγγραφέα [1]. Η ποιοτική μελέτη του αερολύματος που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή έδειξε ότι το σχηματιζόμενο αερόλυμα παρουσιάζει κωνική γεωμετρία, με γωνία φ = 34°, ενώ ο ψεκασμός σταγονιδίων από τον εκνεφωτή είναι ασυνεχής με αποτέλεσμα να υπάρχει μεταβλητός αριθμός σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος. Η αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια περιλαμβάνει αρχικά διεργασίες εξάτμισης των σταγονιδίων, και εν συνέχεια ατομοποίηση των συστατικών τους και σταδιακή διάχυση αυτών στο πλάσμα. Η έναρξη των διεργασιών ατομοποίησης παρατηρείται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 350 ns, ενώ ολοκλήρωση των διεργασιών παρατηρείται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 8 μs. Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 8 μs παρατηρείται μετατόπιση του πλάσματος προς το ύψος της εστιακής περιοχής και η παραμονή του εκεί έως την απόσβεσή του. Η περιογή που καταλαμβάνει το πλάσμα ευρίσκεται εκτός του κώνου που καταλαμβάνει το αερόλυμα, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι σε χρόνους  $\tau_{\text{Delay}} > 8$  με υπάρχει μόνο θερμική αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια ικανή να οδηγήσει σε εξάτμιση αυτών. Στις συνθήκες αυτές αναμένεται να αναπτύσσονται τα φαινόμενα τα οποία μελετήθηκαν στο κεφάλαιο 4 και ερμηνεύουν την επίδραση της παρουσίας του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας.

# 5.9. Βιβλιογραφία

[1] Κ. Μαρματάκης, 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), Μεταπτυχιακή Εργασία, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, 2014.

[2] K. Marmatakis, S.A. Pergantis, D. Anglos, Elemental and molecular analysis of metal containing biomolecules using laser induced breakdown spectroscopy and sonic spray ionization mass spectrometry: A step towards full integration and simultaneous analysis, Spectrochimica Acta Part B, 126 (2016) 103–109.

[3] S.S. Harilal, B.E. Brumfield, M.C. Phillips, Lifecycle of laser-produced air sparks, Phys. Plasmas., 22 (2015) 063301-13.

[4] Y. B. Zel'dovich and Y. P. Raizer, **Physics of Shock Waves and High-Temperature Hydrodynamic Phenomena**, W. Hayes and R. Probstein, Academic Press, New York, vol. I, 1966.

[5] L. I. Sedov, **Similarity and Dimensional Methods in Mechanics**, Gostekhizdat, Moscow, 4th edn., 1957. English transl. ed. M. Holdt, Academic Press, New York, 1959

[6] R. Noll, R. Sattmann, V. Sturm, S. Winkelmann, **Space- and time-resolved dynamics of plasmas generated by laser double pulses interacting with metallic samples**, J. Anal. At. Spectrom., 19 (2004) 419–428.

[7] J. L. Todoli and J. M. Mermet, Liquid sample introduction in ICP spectrometry a practical guide, 1<sup>st</sup> edition, Elsevier, 2008.

[8] G. C. Chan, G.M. Hieftje, Local cooling , plasma reheating and thermal pinching induced by single aerosol droplets injected into an inductively coupled plasma, Spectrochimica Acta Part B, 121 (2016) 55–66.

[9] 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. Anal. At. Spectrom., 25 (2010) 1921–1930.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

# **UV-FEMTOSECOND LIBS**

Η διερεύνηση της χρήσης παλμών λέιζερ χρονοδιάρκειας τ<sub>Pulse</sub> < 1 ps για το σχηματισμό πλάσματος ξεκίνησε τη δεκαετία του 1980, μετά την ανάπτυξη των πρώτων συστημάτων λέιζερ υπερβραχέων παλμών. Το 1989 η ερευνητική ομάδα του Schappert, ήταν η πρώτη που διεξήγαγε μελέτη της δημιουργίας πλάσματος σε επιφάνεια αλουμινίου κατά την εστίαση παλμών λέιζερ, μήκους κύματος  $\lambda = 248$  nm και χρονοδιάρκειας 700 fs, από λέιζερ KrF [1]. Η πρώτη αναφορά για εφαρμογή υπερβραχέων παλμών λέιζερ στην αναλυτική χημεία ήρθε σχεδόν μια δεκαετία αργότερα από την ερευνητική ομάδα του Niemax [2], στο πλαίσιο έρευνας με στόχο τον χαρακτηρισμό διαφόρων τύπων κραμάτων ορειχάλκου (Cu-Zn).

Η χρήση υπερβραχέων παλμών λέιζερ για το σχηματισμό πλάσματος προσφέρει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά συγκριτικά με τη χρήση παλμών λέιζερ στην κλίμακα των ns. Μεταξύ αυτών είναι η χαμηλότερη τιμή κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος, η μεταφορά του υλικού απευθείας στην κατάσταση πλάσματος χωρίς τη διέλευσή του από τις ενδιάμεσες θερμοδυναμικές καταστάσεις (στην περίπτωση των στερεών και υγρών δειγμάτων), ενώ τα φάσματα παρουσιάζουν χαμηλό υπόβαθρο συνεχούς, οπότε η καταγραφή της εκπομπής γίνεται εφικτή με χρήση απλούστερης οργανολογίας, καθώς δεν είναι κρίσιμη η εισαγωγή χρονικής καθυστέρησης. Σημειώνεται όμως ότι η απουσία αλληλεπίδρασης του παλμού λέιζερ με το πλάσμα, στα αρχικά στάδια σχηματισμού του, οδηγεί εν γένει σε χαμηλότερης έντασης εκπομπή, γεγονός το οποίο μειώνει την ευαισθησία της ανάλυσης.

Η ερευνητική ομάδα του Russo εκμεταλλευόμενη τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του πλάσματος που δημιουργείται από υπερβραχείς παλμούς λέιζερ ανέπτυξε μία καινοτόμο μεθοδολογία η οποία επιτρέπει τον προσδιορισμό της ισοτοπικής αναλογίας των στοιχείων του δείγματος [3]. Η τεχνική αυτή εκμεταλλεύεται την εκπομπή από διατομικά μόρια που σχηματίζονται στο πλάσμα (βλ. 2.3.3.) και αναφέρεται ως Laser Ablation Molecular Isotopic Spectrometry (LAMIS).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διεξαγωγή μετρήσεων LIBS με συνδυασμό δύο παλμών, οι οποίοι διεγείρουν το δείγμα με μικρή χρονική καθυστέρηση μεταξύ τους (1-100 ps). Η μεθοδολογία αυτή είναι γνωστή ως DP-LIBS (Double Pulse LIBS) και παρουσιάζει

υψηλότερη ευαισθησία, πλέον της μίας τάξης μεγέθους, ανάλογα με τη γεωμετρία που θα χρησιμοποιηθεί, και τα χαρακτηριστικά (μήκος κύματος, χρονική διάρκεια και ενέργεια) των παλμών λέιζερ [4]. Σε πειράματα που διενεργήθηκαν στο εργαστήριό μας μελετήθηκε η ευαισθησία της τεχνικής LIBS και τα χαρακτηριστικά του πλάσματος που σχηματίζεται σε στερεά υλικά (κράμα Cu-Zn, σίδηρο, πυρίτιο, αλουμίνιο και θειικό βάριο) με χρήση ενός παλμού και ζεύγους παλμών λέιζερ χρονοδιάρκειας 450 fs στα 248 nm [5, 6]. Τα αποτελέσματα των μελετών έδειξαν ότι η ευαισθησία της τεχνικής LIBS αυξάνει κατά παράγοντα 3 - 10 στην περίπτωση που ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται με χρήση ζεύγους παλμών λέιζερ, οι οποίοι χωρίζονται χρονικά κατά 100 ps, σε σχέση με το σχηματισμό πλάσματος με έναν παλμό λέιζερ όταν η προσφερόμενη ενέργεια και στις δύο περιπτώσεις είναι ίδια. Η χρονική διάρκεια του παλμού όπως και η τιμή της χρονικής καθυστέρησης (tinterpulse) που εισάγεται μεταξύ των παλμών λέιζερ ευρίσκεται στην ίδια χρονική κλίμακα με αυτήν της αλληλεπίδρασης των φωνονίων του υλικού με τα ηλεκτρόνια στο υλικό. Η συμπεριφορά αυτή εξασφαλίζει ότι η ενέργεια του παλμού λέιζερ εναποτίθενται πλήρως στο υλικό και ακολουθείται από την εξαγωγή του υλικού από την επιφάνεια προς σχηματισμό πλάσματος. Η χρήση του ζεύγους παλμών οδηγεί στη δημιουργία πλάσματος, το οποίο παρουσιάζει υψηλότερη θερμοκρασία και ηλεκτρονιακή πυκνότητα και αυξημένο χρόνο ζωής. Επίσης παρατηρείται σημαντική αύξηση στην αριθμητική πυκνότητα του αναλύτη που εισάγεται στο πλάσμα, παράμετρος η οποία είναι υπεύθυνη για την ενίσχυση του σήματος.

Η διάδοση ενός υπερβραχέος παλμού λέιζερ στον αέρα οδηγεί σε σχηματισμό μικροδιαύλων (καναλιών) πλάσματος, τα οποία αναφέρονται ως νήματα (filaments). Η νηματοποίηση οφείλεται σε διεργασίες πολυφωτονικού ιοντισμού των μορίων του αέρα, οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό πλάσματος [7, 8]. Η παρατήρηση των filaments γίνεται εφικτή όταν η ισχύς του παλμού λέιζερ υπερβεί μία τιμή κατωφλίου της τάξης των μερικών GW. Ο σχηματισμός των νημάτων πλάσματος, παρατηρείται κατά μήκος της πορείας εστίασης του παλμού λέιζερ και προκύπτει από συνδυασμό δυο ανταγωνιστικών φαινομένων. Λόγω της υψηλής ισχύος του παλμού αυξάνει μη γραμμικά ο δείκτης διάθλασης του αέρα, περισσότερο στο κέντρο της δέσμης και λιγότερο στην περιφέρεια με αποτέλεσμα αυτό-εστίαση (self-focusing) του παλμού και έναρξη δημιουργίας πλάσματος. Τα παραγόμενα ηλεκτρόνια όμως τροποποιούν αντίθετα το δείκτη διάθλασης του μέσου με αποτέλεσμα την απεστίαση της δέσμης. Η διεργασίες αυτές επαναλαμβάνονται αλληλοδιαδεχόμενες η μία την άλλη και μακροσκοπικά παρατηρείται ότι κατά την διάδοση παλμών σε

162

μεγάλες αποστάσεις. Σε εφαρμογή της νηματοποίησης υπερβραχέων παλμών λέιζερ, δείχθηκε στο εργαστήριό μας η δυνατότητα διεξαγωγής μετρήσεων LIBS, με σκοπό την ανάλυση υλικών σχετικών με αντικείμενα πολιτιστικής κληρονομίας σε αποστάσεις της τάξης των 10 m από την έξοδο του λέιζερ [9]. Η διεξαγωγή μετρήσεων LIBS σε αποστάσεις της τάξης των δεκάδων μέτρων επηρεάζεται και από τη μεταβολή των συνθηκών της ατμόσφαιρας, (στροβιλισμός, σωματίδια, κτλ.). Η ερευνητική ομάδα του Laserna μελέτησε την επίδραση που έχει η παρουσία στροβιλισμών στην ατμόσφαιρα στη διάδοση δέσμης λέιζερ και ειδικότερα στην ενέργεια του παλμού λέιζερ που φτάνει στην εστιακή περιοχή και στην ένταση του καταγραφόμενου σήματος LIBS. Στην εν λόγω μελέτη, για το σχηματισμό πλάσματος χρησιμοποιήθηκε ζεύγος παλμών λέιζερ οι οποίοι είχαν χωρική και χρονική σύμπτωση ( $\lambda$  = 1064 nm, τ<sub>Pulse</sub> = 5.5 ns, συνολική ενέργεια E<sub>Pulse</sub> = 1.5 J). Η ανίχνευση του σήματος ατομικής εκπομπής κατέστη εφικτή σε απόσταση 120 m από την πηγή λέιζερ [10]. Η ερευνητική ομάδα του Wolf έδειξε ότι με τη χρήση υπερβραχέων παλμών λέιζερ μήκους κύματος  $\lambda$  = 795 nm, χρονοδιάρκειας τ<sub>Pulse</sub> = 400 fs και ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 350 mJ η απόσταση μπορεί να αυξηθεί στα 180 m [11].

### 6.1. Πειραματική διάταξη

Για τη δημιουργία πλάσματος στο αερόλυμα που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή χρησιμοποιήθηκε λέιζερ διεγερμένων διμερών KrF, το οποίο εκπέμπει στα 248 nm παλμούς χρονοδιάρκειας 450 fs. Η ακτινοβολία λέιζερ οδηγείται μέσω κατάλληλων οπτικών προς το συγκεντρωτικό φακό (f = +50 mm) και εστιάζεται στο αερόλυμα, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.1. Η διάμετρος της δέσμης στην περιοχή εστίασης του συγκεντρωτικού φακού είναι 30 μm. Στην πορεία της δέσμης προς το συγκεντρωτικό φακό παρεμβάλλεται κατάλληλος οπτικός εξασθενητής, ο οποίος επιτρέπει ρύθμιση της ενέργειας. Τόσο ο συγκεντρωτικός φακός όσο και ο πνευματικός εκνεφωτής τοποθετούνται σε κατάλληλες μικρομετρικές βάσεις, οι οποίες επιτρέπουν μετακίνηση σε τρεις διαστάσεις, x-yz, με ακρίβεια της τάξης των 20 μm, έτσι ώστε να ρυθμίζεται επακριβώς η θέση της περιοχής σχηματισμού πλάσματος σε σχέση με τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή. Η συλλογή της ακτινοβολίας που εκπέμπεται από το πλάσμα πραγματοποιείται μέσω κατάλληλου τηλεσκοπίου κάθετα ως προς το επίπεδο που ορίζεται από τον άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή και τον άξονα διάδοσης της ακτινοβολίας λέιζερ. Το τηλεσκόπιο αποτελείται από σύστημα δύο φακών (f = + 50 mm), και επιτρέπει την 1:1 απεικόνιση του πλάσματος σε οπτική ίνα διαμέτρου d = 600 μm. Το τηλεσκόπιο και η οπτική ίνα τοποθετούνται σε αντίστοιχα συστήματα μετακίνησης x-y-z, έτσι ώστε να ρυθμίζεται με ακρίβεια η θέση τους προκειμένου να εξασφαλίζεται η βέλτιστη συλλογή της εκπομπής. Η συλλεγόμενη ακτινοβολία μεταφέρεται μέσω της οπτικής ίνας στο φασματογράφο, όπου πραγματοποιείται φασματική ανάλυση και καταγραφή της έντασης της εκπομπής από ανιχνευτή τύπου ICCD. Για την καταγραφή του φάσματος LIBS με χρονική καθυστέρηση τ<sub>Delay</sub> σε σχέση με τον παλμό λέιζερ, απαιτείται ο συγχρονισμός του λέιζερ με τον ανιχνευτή. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω παλμογεννήτριας η οποία έχει τη δυνατότητα εισαγωγής χρονικής καθυστέρησης σε σχέση με κάποιο ηλεκτρικό σήμα σκανδαλισμού (trigger). Το σήμα σκανδαλισμού στην προκειμένη περίπτωση λαμβάνεται από φωτοδίοδο ταχείας απόκρισης (rise time ~ 1 ns), η οποία ανιχνεύει την άφιξη του παλμού λέιζερ στην περιοχή εστίασης.



Σχήμα 6.1. Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης UV-fs-LIBS.

### 6.2. Φωτοαποδόμηση του αέρα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ

Η ενέργεια του παλμού λέιζερ είναι μία από τις σημαντικότερες παραμέτρους που υπεισέρχεται στις μετρήσεις LIBS, καθώς έχει επίδραση στη θερμοκρασία, την ηλεκτρονιακή πυκνότητα και τη μάζα του υλικού που θα μεταβεί σε κατάσταση πλάσματος. Πραγματοποιήθηκε διερεύνηση της επίδρασης που έχει η ενέργεια του παλμού λέιζερ στο σχηματισμό πλάσματος όταν η δημιουργία του λαμβάνει χώρα σε στατικό αέρα καθώς και υπό συνθήκες εκνέφωσης (σταθερή ροή αργού,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min) απουσία σταγονιδίων. Στο Σχήμα 6.2 παρουσιάζεται η εξάρτηση της έντασης της εκπομπής των ουδετέρων ατόμων α) οξυγόνου στα 777.42 nm ( ${}^5S_2 \rightarrow {}^5P_{1,2,3}$ , 3 γραμμές οι οποίες δεν διαχωρίζονται φασματικά με το δεδομένο φασματογράφο), β) αζώτου στα 746.831 nm ( ${}^4S_{3/2} \rightarrow {}^4P_{5/2}$ ) και γ) αργού στα LIBS. Από τα δεδομένα του Σχήματος 6.2 είναι εφικτός ο προσδιορισμός του κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος στον στατικό αέρα και σε συνθήκες εκνέφωσης.

Η τιμή ενέργειας κατωφλίου που υπολογίζεται για τον στατικό αέρα, προκύπτει από την τετμημένη επί την αρχή που υπολογίζεται από την προσαρμογή της ευθείας στο Σχήμα 6.2β, και είναι E<sub>Thres(O)</sub> = 0.13 mJ για το οξυγόνο και E<sub>Thres(N)</sub> = 0.1 mJ για το άζωτο. Η τιμή

που υπολογίζεται εκφράζει το κατώφλι δημιουργίας νημάτων πλάσματος (filaments) και ευρίσκεται σε συμφωνία με τις αντίστοιχες τιμές που παρατίθενται στη βιβλιογραφία [9, 12].



**Σχήμα 6.2.** Μελέτη της εκπομπής από ουδέτερα άτομα Ο, Ν και Ar στο πλάσμα ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ α,β) στον στατικό αέρα και γ,δ) σε συνθήκες εκνέφωσης. Τυπικά φάσματα LIBS ε) στον στατικό αέρα και στ) υπό συνθήκες εκνέφωσης. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 30 \text{ ns}, \tau_{Gate} = 500 \text{ ns}, F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}.$ 

Να σημειωθεί ότι εκπομπή από το πλάσμα παρατηρείται με γυμνό μάτι για μικρότερες τιμές ενέργειας του παλμού λέιζερ (Ε Pulse < 0.2 mJ), ωστόσο ήταν αδύνατη η καταγραφή του φάσματος σε αυτές τις συνθήκες λόγω της χαμηλής ευαισθησίας του συστήματος ανίχνευσης στην συγκεκριμένη φασματική περιοχή.

Σε συνθήκες εκνέφωσης η τιμή, η οποία υπολογίζεται ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, είναι  $E_{Thres}(O) = 0.07 \text{ mJ}$ ,  $E_{Thres}(N) = 0.09 \text{ mJ}$  και  $E_{Thres}(Ar) = 0.02 \text{ mJ}$  για το οξυγόνο, το άζωτο και το αργό αντίστοιχα. Οι τιμές που υπολογίζονται σε συνθήκες

εκνέφωσης είναι κατά περίπου έναν παράγοντα του δύο μικρότερες από τις αντίστοιχες τιμές στον στατικό αέρα. Η συμπεριφορά αυτή δηλώνει ότι η παρουσία αργού έχει επίδραση στο κατώφλι δημιουργίας του πλάσματος, και ενισχύεται από την αλλαγή στην κλίση που παρατηρείται όταν E<sub>Pulse</sub> > 0.6 mJ. Πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση του αργού και του οξυγόνου παρατηρείται μείωση στην τιμή της κλίσης, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι στις συγκεκριμένες συνθήκες ακτινοβόλησης αρχίζει να γίνεται σημαντική η επίδραση του μηχανισμού χιονοστιβάδας.

Η πολύ μικρή χρονική διάρκεια του παλμού λέιζερ σε συνδυασμό με το μικρό μήκος κύματος ευνοούν σημαντικά τις διεργασίες πολυφωτονικού ιοντισμού. Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η ενέργεια ενός φωτονίου στα 248 nm είναι 5 eV και τα δυναμικά ιοντισμού των μορίων οζυγόνου (E<sub>Ion</sub>(O<sub>2</sub>) = 12.06 eV) και αζώτου (E<sub>Ion</sub>(N<sub>2</sub>) =15.58 eV) και των ατόμων αργού (E<sub>Ion</sub>(Ar) =15.76 eV), εξάγεται το συμπέρασμα ότι ο ιοντισμός των μορίων οζυγόνου προκύπτει μέσω τριφωτονικής διεργασίας, ενώ των μορίων αζώτου και αργού μέσω τετραφωτονικής διεργασίας. Γίνεται αντιληπτό ότι καθοριστικός για την εκκίνηση των διεργασιών σχηματισμού πλάσματος είναι ο ιοντισμός των μορίων οζυγόνου. Σημειώνεται ότι η κρούση ηλεκτρονίου, κινητικής ενέργειας περίπου 3 eV, που προκύπτει κατά τον ιοντισμό μορίου οξυγόνου, με ένα μόριο αζώτου οδηγεί σε διέγερση του αζώτου σε κατάσταση από την οποία ο ιοντισμός επιτυγχάνεται πλέον μέσω τριφωτονικής διεργασίας. Οι συγκεκριμένες διεργασίες ενισχύονται αυξανομένης της ενέργειας του παλμού λέιζερ με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας και της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του σχηματιζόμενου πλάσματος.

Ο συντελεστής απορρόφησης της αντίστροφης διεργασίας πέδησης (βλ. 2.4.1) εξαρτάται από το αντίστροφο του μήκους κύματος της ακτινοβολίας, ενώ είναι ανάλογος της ηλεκτρονιακής πυκνότητας. Η χαμηλή τιμή του κατωφλίου δημιουργίας πλάσματος εξασφαλίζει ότι ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται αμέσως μετά την άφιξη του παλμού λέιζερ (τ<sub>Delay</sub> = 0). Η αύξηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ οδηγεί στο σχηματισμό πλάσματος με υψηλότερη ηλεκτρονιακή πυκνότητα, διότι αυξάνεται η αποτελεσματικότητα των διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού. Όταν η ενέργεια του παλμού λέιζερ υπερβεί τα 0.6 mJ, η ηλεκτρονιακή πυκνότητα στην αρχική φάση του πλάσματος σε συνδυασμό με την παρουσία των ατόμων αργού είναι ικανή να αυξήσει την τιμή του συντελεστή απορρόφησης, καθώς ο χρόνος αλληλεπίδρασης των ηλεκτρονίων με τον παλμό λέιζερ είναι της τάξης των 350 fs [13], τιμή η οποία είναι μικρότερη από τη χρονική διάρκεια του παλμού λέιζερ (τ<sub>Pulse</sub> = 450 fs). Γίνεται αντιληπτό ότι στις δεδομένες συνθήκες ακτινοβόλησης υπάρχει συνεισφορά του μηχανισμού της χιονοστιβάδας στο σχηματισμό πλάσματος, με αποτέλεσμα να αυξάνεται η απορρόφηση της ενέργειας της ακτινοβολίας λέιζερ, η οποία κατ' επέκταση οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας και της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του πλάσματος.

### Μελέτη στο αερόλυμα

Η διερεύνηση της επίδρασης που έχει η ενέργεια του παλμού λέιζερ στην ένταση της εκπομπής από τα συστατικά των σταγονιδίων του αερολύματος πραγματοποιήθηκε μέσω μελέτης της εκπομπής ατόμων ασβεστίου κατά την ανάλυση υδατικού διαλύματος ιόντων ασβεστίου με συγκέντρωση [Ca<sup>2+</sup>] = 10 mg/mL. Στο Σχήμα 6.3 παρουσιάζεται η εξάρτηση της έντασης της γραμμής εκπομπής του απλού ιόντος ασβεστίου στα 393.366 nm  $({}^{2}P_{3/2} \rightarrow {}^{2}S_{1/2})$  από την ενέργεια του παλμού λέιζερ. Να σημειωθεί ότι η οπτική ίνα έχει τοποθετηθεί στη θέση που επιτυγχάνεται η βέλτιστη συλλογή φωτός όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται με τη μεγαλύτερη δυνατή ενέργεια.



**Σχήμα 6.3.** Μελέτη της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου ως συνάρτηση της ενέργειας του παλμού λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 100$  ns,  $\tau_{Gate} = 10\mu$ s,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min.

Η ένταση της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου στο πλάσμα εξαρτάται από την τέταρτη δύναμη της ενέργειας του παλμού λέιζερ, με την τιμή κατωφλίου να υπολογίζεται στα E<sub>Thres</sub>(Ca) = 1.43 mJ. Η σημαντική μείωση στην ευαισθησία της τεχνικής LIBS με ταυτόχρονη μείωση της ενέργειας του παλμού υποδηλώνει ότι καθοριστικό ρόλο για την ατομοποίηση των σταγονιδίων διαδραματίζουν οι διεργασίες μεταφοράς θερμότητας στο πλάσμα και, δευτερογενώς, ο μηχανισμός σχηματισμού πλάσματος. Ο σχηματισμός πλάσματος στις δεδομένες συνθήκες ακτινοβόλησης πραγματοποιείται κυρίως μέσω των διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού, οι οποίες είναι πιο αποτελεσματικές στα σταγονίδια, λόγω της υψηλότερης πυκνότητας της ύλης, οπότε γίνεται επιλεκτική μεταφορά ενέργειας, ωστόσο η ασυνεχής παροχή σταγονιδίων από τον εκνεφωτή ελαχιστοποιεί τη συνεισφορά της διεργασίας, καθώς αναμένεται επίδραση μόνο όταν υπάρχουν σταγονίδια τη χρονική στιγμή άφιξης του παλμού λέιζερ, με αποτέλεσμα να υπερισχύει η θερμική αλληλεπίδραση του σχηματιζόμενου πλάσματος με τα εισερχόμενα σταγονίδια.

### 6.3. Προσδιορισμός βέλτιστης γεωμετρίας της πειραματικής διάταξης

Η εύρεση της βέλτιστης γεωμετρίας όσον αφορά την τοποθέτηση του εκνεφωτή σε σχέση με την περιοχή σχηματισμού του πλάσματος είναι ιδιαιτέρως σημαντική καθώς επιδρά άμεσα στην ευαισθησία και επαναληψιμότητα των μετρήσεων LIBS. Η θέση του εκνεφωτή καθορίζει το τμήμα του αερολύματος που βρίσκεται στην περιοχή εστίασης της ακτινοβολίας λέιζερ, όπως και την επίδραση της ροής του αργού στο σχηματιζόμενο πλάσμα.

# 6.3.1. Μελέτη της σχετικής θέσης του άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή ως προς την περιοχή σχηματισμού πλάσματος

Στο Σχήμα 6.4 παρουσιάζεται η εξάρτηση της εκπομπής από το ασβέστιο, κατά τη μέτρηση υδατικού διαλύματος ασβεστίου συγκέντρωσης [Ca<sup>2+</sup>] = 10 mg/mL, ως συνάρτηση της απόστασης του άξονα ψεκασμού του εκνεφωτή από την εστιακή περιοχή του συγκεντρωτικού φακού. Η απόσταση του ακροφυσίου του εκνεφωτή από το σχηματιζόμενο πλάσμα ρυθμίστηκε στο 1 mm. Για την εύρεση της εστιακής περιοχής η ενέργεια του παλμού λέιζερ μειώθηκε αρκετά ώστε ο σχηματισμός πλάσματος να πραγματοποιείται μόνο εκεί, καθώς σε αντίθετη περίπτωση παρατηρείται σχηματισμός filament. Παρατηρείται ότι η υψηλότερη τιμή της έντασης εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου στο πλάσμα επιτυγχάνεται όταν ο άξονας ψεκασμού του εκνεφωτή είναι μετατοπισμένος κατά περίπου 0.5 - 1 mm σε σχέση με την εστιακή περιοχή.



**Σχήμα 6.4.** Μελέτη της έντασης της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα ασβεστίου ως συνάρτηση της θέσης του εκνεφωτή ως προς την θέση σχηματισμού πλάσματος (θέση 0). Το αρνητικό πρόσημο δηλώνει μετακίνηση του εκνεφωτή προς τον φακό εστίασης του λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 500 \text{ ns}, \tau_{Gate} = 10 \text{ µs}, E_{Pulse} = 17 \text{ mJ}, F_{Ar} = 0.65 \text{ L/min}, F_{Sample} = 15 \text{ µL/min}.$ 

Η διάμετρος εγκάρσιας τομής του κώνου που σχηματίζει το αερόλυμα, όταν το ακροφύσιο του εκνεφωτή απέχει 1 mm από το πλάσμα είναι περίπου 0.6 mm, όπως δείχνουν τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στην ενότητα 5.5. Γίνεται αντιληπτό ότι στη συγκριμένη γεωμετρία επιτυγχάνεται αλληλεπίδραση του παλμού λέιζερ με το σύνολο του αερολύματος πριν την άφιξη στην περιοχή εστίασης.

# 6.3.2. Μελέτη της απόστασης του ακροφυσίου του εκνεφωτή από την περιοχή σχηματισμού πλάσματος

Η μετακίνηση του εκνεφωτή από και προς το πλάσμα οδηγεί στη ρύθμιση της θέσης του τμήματος του αερολύματος που βρίσκεται στην περιοχή εστίασης του παλμού λέιζερ. Η κατανομή του αερολύματος κατά μήκος του άξονα ψεκασμού ακολουθεί κωνική γεωμετρία με αποτέλεσμα η απομάκρυνση από το ακροφύσιο του εκνεφωτή να οδηγεί σε μείωση της πυκνότητας των σταγονιδίων. Στο Σχήμα 6.5 παρουσιάζεται το αποτέλεσμα της σχετικής μελέτης και είναι εμφανές ότι η απομάκρυνση του ακροφυσίου του εκνεφωτή από το πλάσμα οδηγεί σε σταδιακή μείωση του σήματος εκπομπής από το αερόλυμα.



**Σχήμα 6.5.** Μελέτη της έντασης της εκπομπής από το Ca ως συνάρτηση της απόστασης του εκνεφωτή από το πλάσμα. Παράμετροι μετρήσεων:  $\tau_{Delay} = 500$  ns,  $\tau_{Gate} = 10$  μs,  $E_{Pulse} = 18$  mJ,  $F_{Ar} = 0.65$  L/min,  $F_{Sample} = 15$  μL/min.

# 6.4. Χρονική εξέλιξη της εκπομπής του πλάσματος που δημιουργείται στο αερόλυμα

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της έντασης της εκπομπής από τα διεγερμένα άτομα ασβεστίου ως συνάρτηση της χρονοκαθυστέρησης τ<sub>Delay</sub>. Για τη διεξαγωγή της μελέτης χρησιμοποιήθηκε πρότυπο διάλυμα ιόντων ασβεστίου σε συγκέντρωση [Ca<sup>2+</sup>] = 10 mg/mL, ο χρόνος ολοκλήρωσης ορίστηκε ως τ<sub>Gate</sub> = 50 ns, ενώ η ενέργεια του παλμού λέιζερ ρυθμίστηκε σε  $E_{Pulse} = 15$  mJ. Το ακροφύσιο του εκνεφωτή έχει τοποθετηθεί σε απόσταση 1 mm από το πλάσμα, ενώ ό άξονας ψεκασμού είναι μετατοπισμένος κατά 1 mm πριν από την εστιακή περιοχή. Στο Σχήμα 6.6 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη της έντασης της εκπομπής από τα ατομικά ιόντα, τα ουδέτερα άτομα ασβεστίου και το υπόβαθρο σε κανονική και λογαριθμική κλίμακα, καθώς και τυπικά φάσματα LIBS.

Παρατηρείται ότι η τιμή της έντασης εκπομπής των ουδετέρων ατόμων ασβεστίου όπως και των ατομικών ιόντων παραμένει σχεδόν αμετάβλητη για χρονικό διάστημα της τάξης των 400 ns μετά τον σχηματισμό του πλάσματος, ενώ η ένταση της ακτινοβολίας υποβάθρου έχει μειωθεί σχεδόν κατά δύο τάξεις μεγέθους. Η ακτινοβολία υποβάθρου, εκπέμπεται από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια λόγω της απότομης επιβράδυνσής τους στο πλάσμα (βλ. 2.3.1). Η έντασή της σγετίζεται με την αριθμητική πυκνότητα των ηλεκτρονίων στο πλάσμα, η οποία αναμένεται να μειώνεται όσο προχωρούν οι διεργασίες επανασύνδεσης ηλεκτρονίων-ιόντων. Η μείωση της αριθμητικής πυκνότητας των ηλεκτρονίων συνεπάγεται την ταυτόχρονη μείωση της αριθμητικής πυκνότητας των ατομικών ιόντων στο πλάσμα σύμφωνα με την εξίσωση Saha (βλ. 2.5.1). Η παρατηρούμενη συμπεριφορά δηλώνει ότι το πλάσμα συνεχίζει να τροφοδοτείται με άτομα, με αποτέλεσμα ο ρυθμός αύξησης της συγκέντρωσης των ατομικών ιόντων ασβεστίου να εξισώνεται με το ρυθμό μείωσης λόγω των διεργασιών επανασυνδυασμού. Το δυναμικό ιοντισμού των ουδετέρων ατόμων ασβεστίου είναι μικρότερο από το δυναμικό ιοντισμού των ουδετέρων ατόμων υδρογόνου, αζώτου, οξυγόνου και αργού, οπότε αναμένεται οι διεργασίες επανασύνδεσης στην περίπτωση των ατομικών ιόντων ασβεστίου να είναι πιο αργές.

Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 400 ns η ένταση εκπομπής από τα ουδέτερα άτομα και τα ατομικά ιόντα σταδιακά μειώνεται, αποτέλεσμα που δηλώνει ότι οι διεργασίες ατομοποίησης των σταγονιδίων είναι περιορισμένες. Η απεικονιστική μελέτη του αερολύματος έδειξε ότι στην περίπτωση του ns-LIBS (E<sub>Pulse</sub> ~170 mJ) οι διεργασίες ατομοποίησης ολοκληρώνονται σε τ<sub>Delay</sub> της τάξης των 8 μs. Η ποσότητα ενέργειας που προσφέρεται στη συγκεκριμένη περίπτωση διέγερσης με υπερβραχείς παλμούς είναι σχεδόν κατά μία τάξη μεγέθους χαμηλότερη από την αντίστοιχη στην περίπτωση του ns-LIBS, οπότε γίνεται αντιληπτός ο αντίκτυπος της προσφερόμενης ενέργειας στις διεργασίες εκμετάλλευσης των σταγονιδίων.

Για να εξασφαλιστεί η μέγιστη δυνατή ευαισθησία και επαναληψιμότητα στις μετρήσεις LIBS πρέπει να ολοκληρωθούν οι διαδικασίες ατομοποίησης των σταγονιδίων στο πλάσμα. Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων η βέλτιστη τιμή του χρόνου καθυστέρησης είναι  $\tau_{Delay} = 500$  ns, ενώ η τιμή του χρόνου ολοκλήρωσης  $\tau_{Gate} = 10$  μs. Η τιμή του χρόνου καθυστέρησης εξασφαλίζει ότι η ένταση της ακτινοβολίας υποβάθρου έχει μειωθεί σημαντικά, έτσι ώστε στο φάσμα να κυριαρχούν οι οξείες ατομικές γραμμές εκπομπής και ότι το πλάσμα βρίσκεται σε κατάσταση τοπικής θερμοδυναμικής ισορροπίας.



**Σχήμα 6.6.** Χρονική εξέλιξη της εκπομπής από το Ca στο πλάσμα α) σε κανονική κλίμακα και β) σε λογαριθμική κλίμακα. γ) και δ) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS σε διαφορετικές χρονικές στιγμές  $\tau_{Delay}$  μετά την άφιξη του παλμού λέιζερ στο αερόλυμα,  $\tau_{Gate} = 50$  ns.

### 6.5. Ποσοτικός προσδιορισμός μεταλλικών ιόντων σε υδατικά διαλύματα

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της δυναμικής της μεθοδολογίας fs-LIBS όσον αφορά στον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης μεταλλικών ιόντων σε υδατικά διαλύματα με τη μέθοδο της καμπύλης αναφοράς. Για την κατάρτιση των καμπυλών αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα των μεταλλικών ιόντων σε συγκέντρωση [M<sup>n+</sup>] = 10 mg/mL, τα οποία εν συνεχεία αραιώθηκαν στην επιθυμητή συγκέντρωση.

# 6.5.1. Καμπύλες αναφοράς ιόντων Ca<sup>2+</sup>

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς ανάλυσης ιόντων ασβεστίου πραγματοποιήθηκε καταγραφή της έντασης της εκπομπής των ατομικών ιόντων ασβεστίου στα 393.366 nm, κατά τη μέτρηση υδατικών διαλυμάτων ιόντων Ca<sup>2+</sup> σε διαφορετικές συγκεντρώσεις στην περιοχή από 1 μg/mL έως 100 μg/mL. Στο Σχήμα 6.7 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς καθώς και αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων και των αγνώστων, ενώ στον Πίνακα 6.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα επικύρωσης της μεθοδολογίας. Η καμπύλη αναφοράς με σκοπό την κατάρτιση κατάλληλων καμπύλων αναφοράς που θα επιτρέπουν τον προσδιορισμό του ασβεστίου σε άγνωστα υδατικά διαλύματα.



**Σχήμα 6.7.** α) Καμπύλη αναφοράς ανάλυσης ασβεστίου (υδατικά διαλύματα  $Ca^{2+}$ ) με τη μέθοδο UVfs-LIBS και β) φάσματα LIBS των πρότυπων και των αγνώστων διαλυμάτων των ιόντων. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 500 ns, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs, E<sub>Pulse</sub> = 13.7 mJ, F<sub>Ar</sub> = 0.65 L/min, F<sub>Sample</sub> = 15 μL/min.

Πίνακας 6.1. Αποτελέσματα επικύρωσης της καμπύλης αναφοράς των ιόντων Ca<sup>2+</sup>.

Δείγμα	Μετρούμενη συγκέντρωση (μg/mL)	Πραγματική συγκέντρωση (μg/mL)	% Απόκλιση
1	6	5	+20
2	47.3	50	- 5.4

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης να λαμβάνει την τιμή  $R^2 = 0.999$ . Στον Πίνακα 6.1 παρατίθενται τα αποτελέσματα της διαδικασίας επικύρωσης. Η τιμή της απόκλισης υπολογίζεται ως (C<sub>Measured</sub> - C<sub>Real</sub>)/C<sub>Real</sub>. Ο υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης (LOD) της μεθόδου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο 3σ (βλ. 2.7.5.) και η τιμή που υπολογίστηκε είναι LOD(Ca) = 0.08 μg/mL, περίπου 6 φορές υψηλότερη συγκέντρωσης των ιόντων ασβεστίου [Ca<sup>2+</sup>] < 1 μg/mL είναι αδύνατη η διάκριση των ατομικών γραμμών εκπομπής, οπότε το πραγματικό όριο ανίχνευσης της μεθοδολογίας fs-LIBS είναι της τάξης του 1 μg/mL. Γίνεται αντιληπτό ότι ο παράγοντας που καθορίζει την ευαισθησία είναι η ενέργεια του σχηματιζόμενου πλάσματος, παράμετρος η οποία επιδρά στην ικανότητα εκμετάλλευσης των σταγονιδίων από το πλάσμα.

# 6.5.2. Καμπύλες αναφοράς ιόντων Ba<sup>2+</sup>

Για την κατάρτιση της καμπύλης αναφοράς ανάλυσης ιόντων βαρίου πραγματοποιήθηκε καταγραφή της έντασης εκπομπής των ατομικών ιόντων βαρίου στα 455.403 nm κατά τη μέτρηση υδατικών διαλυμάτων ιόντων Ba<sup>2+</sup> σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 1 μg/mL έως 100 μg/mL. Στο Σχήμα 6.8 παρουσιάζεται η καμπύλη αναφοράς καθώς και αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS των πρότυπων διαλυμάτων.



**Σχήμα 6.8.** α) Καμπύλη αναφοράς ανάλυσης βαρίου (υδατικά διαλύματα  $Ba^{2+}$ ) με τη μέθοδο UV-fs-LIBS και β) φάσματα LIBS των πρότυπων και των αγνώστων διαλυμάτων των ιόντων. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 500 ns, τ<sub>Gate</sub> = 10 μs, E<sub>Pulse</sub> = 13.7 mJ, F<sub>Ar</sub> = 0.65 L/min, F<sub>Sample</sub> = 15 μL/min.

Η καμπύλη αναφοράς παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά στο μελετώμενο εύρος συγκεντρώσεων με το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης να λαμβάνει την τιμή  $R^2 = 0.98$ , ενώ η τιμή του ορίου ανίχνευσης για το βάριο είναι LOD(Ba) = 0.24 μg/mL. Όπως και στην περίπτωση του ασβεστίου σε συγκεντρώσεις [Ba<sup>2+</sup>] < 1 μg/mL ήταν αδύνατη η διάκριση των γραμμών εκπομπής των ατομικών ιόντων βαρίου.

### 6.6. Double Pulse Femtosecond LIBS

Ο σχηματισμός πλάσματος με χρήση ζεύγους παλμών λέιζερ επιτυγχάνεται παρεμβάλλοντας συμβολόμετρο τύπου Michelson στην πορεία της δέσμης προς το συγκεντρωτικό φακό, όπως παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.9. Το συμβολόμετρο Michelson επιτρέπει τη διαίρεση ενός παλμού λέιζερ σε δύο παλμούς, οι οποίοι είναι δυνατόν να διαχωριστούν χρονικά μεταξύ τους εφόσον ακολουθήσουν διαφορετικού μήκους οπτική διαδρομή. Πιο συγκεκριμένα το συμβολόμετρο Michelson αποτελείται από έναν τεμαχιστή δέσμης, ο οποίος επιτρέπει τη διαίρεση της δέσμης λέιζερ σε δύο συνιστώσες διαδιδόμενες κάθετα μεταξύ τους, κάθε μία από τις οποίες ανακλάται μέσω κατάλληλων οπτικών και επιστρέφει προς τον τεμαχιστή δέσμης. Όταν η οπτική διαδρομή που διανύουν οι δύο συνιστώσες είναι ίδια, οι δέσμες ευρίσκονται σε χωρική και χρονική συμφωνία με αποτέλεσμα, κατά τον επανασυνδυασμό τους, να παρατηρούνται κροσσοί συμβολής, οι οποίοι εμφανίζονται ως ομόκεντροι κύκλοι. Τα οπτικά που χρησιμοποιούνται για την ανάκλαση της μίας εκ των δύο συνιστωσών είναι τοποθετημένα σε σύστημα μικρομετρικής κίνησης μίας διάστασης, με ακρίβεια της τάξης των 2 μm. Η διάταξη αυτή επιτρέπει την αυξομείωση της οπτικής διαδρομής που ακολουθεί η συγκεκριμένη συνιστώσα, με αποτέλεσμα να εισάγεται χρονική καθυστέρηση σε σχέση με την δεύτερη συνιστώσα, τ<sub>Interpulse</sub>  $= 2 \Delta x/c$ . Ο όρος  $\Delta x$  αντιπροσωπεύει τη μεταβολή στη θέση τη μικρομετρικής βάσης η οποία παράγει διπλάσια μεταβολή στον οπτικό δρόμο της δέσμης. Η τιμή της χρονικής καθυστέρησης μεταξύ των παλμών λέιζερ, που μπορεί να επιτευχθεί με την παρούσα διάταξη, κυμαίνεται από 0 έως 300 ps. Μεταβολή της θέσης των κατόπτρων του κινητού βραχίονα στο συμβολόμετρο κατά 1 mm οδηγεί σε εισαγωγή χρονικής καθυστέρησης 6.7 ps μεταξύ των εξερχομένων παλμών λέιζερ.



**Σχήμα 6.9.** α) Πειραματική διάταξη DP-fs-LIBS στο επίπεδο zx και β) σχηματική αναπαράσταση της γεωμετρίας του συμβολόμετρου Michelson.

Για τον έλεγχο της ευθυγράμμισης του συμβολομέτρου Michelson ελέγχονταν η χωρική συμφωνία σε απόσταση της τάξης των τριών μέτρων. Στην περίπτωση που οι δέσμες λέιζερ ξεκινούσαν με χωρική και χρονική συμφωνία, η εμφάνιση κροσσών συμβολής διατηρούταν σε αποστάσεις μεγαλύτερες των τριών μέτρων. Για να εξασφαλιστεί ότι η χωρική συμφωνία διατηρείται μετά την εισαγωγή χρονικής καθυστέρησης, οι δύο δέσμες λέιζερ, οι οποίες εξέρχονται από τους βραχίονες του συμβολομέτρου Michelson, αφού ταξιδέψουν απόσταση της τάξης των τριών μέτρων, εστιάζονται μέσω ενός συγκεντρωτικού φακού (f = +10 cm) σε χαρτί, το οποίο φέρει υποδιαιρέσεις του χιλιοστού. Με αυτόν τον τρόπο εξασφαλίζεται ότι η επικάλυψη των δύο δεσμών λέιζερ παραμένει σταθερή. Η επαναληψιμότητα της προτεινόμενης μεθοδολογίας ευθυγράμμισης του συμβολομέτρου Michelson προσδιορίστηκε διορθώνοντας τη χωρική συμφωνία, στην περίπτωση που οι δέσμες λέιζερ έχουν χρονική συμφωνία, καθώς όταν επιτευχθεί η βέλτιστη χωρική συμφωνία εμφανίζονται οι κροσσοί συμβολής ως ομόκεντροι κύκλοι. Σε κάθε περίπτωση οι παλμοί λέιζερ ευρίσκονται σε σταθερή χωρική συμφωνία. Διερεύνηση από ανεξάρτητη ερευνητική ομάδα, η οποία χρησιμοποίησε την ίδια πειραματική διάταξη, έδειξε ότι στην περίπτωση που οι κροσσοί συμβολής εμφανίζονται ως ομόκεντροι κύκλοι υπάρχει μικρή απόκλιση των κέντρων των δύο δεσμών της τάξης των 50 μm. Η μέτρηση χωρικής συμφωνίας μετρήθηκε μέσω ψηφιακής κάμερας, την οποία είχαν στη διάθεσή τους.

# 6.7. Μελέτη της επίδρασης του χρονικού διαχωρισμού των παλμών στην ευαισθησία της μέτρησης LIBS.

Για τη μελέτη της επίδρασης που έχει η χρήση ζεύγους παλμών λέιζερ στην ευαισθησία των μετρήσεων LIBS, όταν ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα στον

στατικό αέρα, πραγματοποιήθηκε καταγραφή της τιμής της έντασης της εκπομπής από ουδέτερα άτομα οξυγόνου και αζώτου ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ. Όταν ο χρονικός διαχωρισμός των παλμών (Interpulse delay = τ<sub>Intepulse</sub>) είναι 2 ps το αποτέλεσμα της μέτρησης είναι ισοδύναμο με τη μέτρηση με ένα παλμό λέιζερ (SP-LIBS). Η ολική ενέργεια της δέσμης λέιζερ είναι 1.4 mJ και διαμοιράζεται σχεδόν ισόποσα στους δύο βραχίονες του συμβολομέτρου Michelson.

Στο Σχήμα 6.10 παρουσιάζεται η εξάρτηση της τιμής της έντασης των γραμμών εκπομπής των ουδετέρων ατόμων οξυγόνου (777.42 nm) και αζώτου (746.831 nm) από την τιμή του τ<sub>Intepulse</sub>, καθώς και η μέτρηση που αντιστοιχεί στο αποτέλεσμα της δημιουργίας πλάσματος μόνο από τον σταθερό βραχίονα. Η μέτρηση αυτή γίνεται αμέσως μετά την ολοκλήρωση της μέτρησης DP και είναι ενδεικτική της μέσης ενέργειας του λέιζερ.



Σχήμα 6.10. α) Ένταση εκπομπής από ουδέτερα άτομα Ο και N στο πλάσμα ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τ<sub>Intepulse</sub> και β) ένταση της εκπομπής του Ο όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται μόνο από τον παλμό του σταθερού βραχίονα του συμβολομέτρου συγκριτικά με την εκπομπή πλάσματος σχηματιζόμενου από ζεύγος παλμών λέιζερ. γ) Λόγος εντάσεων εκπομπής του οξυγόνου I<sub>DP</sub>/I<sub>SP</sub> και δ) αντιπροσωπευτικά φάσματα LIBS σε τ<sub>Intepulse</sub> = 2 και 60 ps. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 30 ns, τ<sub>Gate</sub> = 500 ns, E<sub>Pulse</sub> = 1.44 mJ.

Παρατηρείται ότι όταν ο διαχωρισμός των δύο παλμών λέιζερ είναι τ<sub>Intepulse</sub> > 20 ps υπάρχει αύξηση της ευαισθησίας κατά μόλις ένα παράγοντα του 1.2. Τα αποτελέσματα της μελέτης ευρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ομάδας του Solimeno [14], οι οποίοι μελέτησαν τα χαρακτηριστικά του πλάσματος που σχηματίζεται στον αέρα από ζεύγος υπερβραχέων παλμών λέιζερ ενέργειας 100 μJ στα 800 nm. Η πολύ μικρή ενίσχυση του σήματος που παρατηρείται στην περίπτωση του στατικού αέρα ευρίσκεται σε μεγάλη αντίθεση με τα αποτελέσματα που λαμβάνονται κατά την ανάλυση στερεών δειγμάτων, όπου η ευαισθησία αυξάνει κατά παράγοντα του 10. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να ερμηνευθεί με βάση το μηχανισμό σχηματισμού πλάσματος στις δύο περιπτώσεις. Ο σχηματισμός πλάσματος στην περίπτωση των αερίων όπως συζητήθηκε στην ενότητα 6.2 λαμβάνει χώρα μέσω διεργασιών πολυφωτονικού ιοντισμού. Ο πρώτος παλμός επάγει το σχηματισμό πλάσματος στον στατικό αέρα, ενώ ο δεύτερος αλληλεπιδρά με αυτήν την πρωταρχική φάση του πλάσματος. Στην αποτελεσματικότητα της διεργασίας απορρόφησης μέσω του αντίστροφου φαινομένου πέδησης υπεισέρχονται παράμετροι, οι οποίες σχετίζονται με το βαθμό ιοντισμού των ατόμων του υλικού στο πλάσμα και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λέιζερ (βλ. 2.4.1.). Τα αποτελέσματα της μελέτης δηλώνουν ότι το φαινόμενο εξαρτάται από την τιμή της προσφερόμενης ενέργειας και όχι από τον τρόπο με τον οποίο προσφέρεται (δηλαδή με μεμονωμένο παλμό ή με ζέυγος παλμών). Η αύξηση της ευαισθησίας στην περίπτωση των στερεών δειγμάτων οφείλεται στην αύξηση της συνολικής αριθμητικής πυκνότητας των μελετώμενων στοιχείων στο πλάσμα που οφείλεται στην καλύτερη εκμετάλλευση του υλικού στόχου.

# Μελέτη σε συνθήκες εκνέφωσης

Στο Σχήμα 6.11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της μελέτης σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία των σταγονιδίων του αερολύματος. Τα αποτελέσματα της μελέτης είναι αντίστοιχα αυτών που λαμβάνονται στον στατικό αέρα. Παρατηρείται ότι ο διαχωρισμός των παλμών λέιζερ δεν οδηγεί σε αύξηση της ευαισθησίας των μετρήσεων LIBS.



**Σχήμα 6.11.** α) Εκπομπή ατόμων Ο, Ν και Ar στο πλάσμα ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τ<sub>Intepulse</sub> β) Ένταση της εκπομπής του Ο όταν ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται μόνο από τον παλμό του σταθερού βραχίονα του συμβολομέτρου συγκριτικά με την εκπομπή πλάσματος σχηματιζόμεου από ζεύγος παλμών λέιζερ. Παράμετροι μετρήσεων:  $τ_{Delay} = 30$  ns,  $τ_{Gate} = 500$  ns,  $E_{Pulse} = 1.2$  mJ.

#### Μελέτη στα σταγονίδια του αερολύματος

Στο Σχήμα 6.12 παρουσιάζεται η εξάρτηση της έντασης του σήματος εκπομπής του ασβεστίου από την τιμή του χρονικού διαχωρισμού των παλμών, τ<sub>Interpulse</sub>. Παρατηρείται ότι σε τιμές τ<sub>Interpulse</sub> > 30 ps υπάρχει εμφανής ενίσχυση του σήματος κατά έναν παράγοντα του δύο, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται σημαντική αύξηση στην αβεβαιότητα των μετρήσεων, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι η χρήση του ζεύγους παλμών λέιζερ οδηγεί στην αποδοτικότερη εκμετάλλευση των σταγονιδίων.



**Σχήμα 6.12.** Μελέτη της εκπομπής από α) ατομικά ιόντα ασβεστίου και β) ουδέτερα άτομα ασβεστίου ως συνάρτηση του χρονικού διαχωρισμού μεταξύ των παλμών λέιζερ, τ<sub>Interpulse</sub> γ) Φάσματα LIBS τριών διαφορετικών σετ μετρήσεων των 200 παλμών σε τ<sub>Interpulse</sub> = 30 ps και δ) φάσματα LIBS σε τ<sub>Interpulse</sub> 0 και 30 ps. Παράμετροι μετρήσεων: τ<sub>Delay</sub> = 30 ns, τ<sub>Gate</sub> = 1 μs,  $E_{Pulse}$  = 1.6 mJ,  $F_{Ar}$  = 0.65 L/min.

Η αύξηση της αβεβαιότητας των μετρήσεων δηλώνει ότι το φαινόμενο μπορεί να παρατηρηθεί μόνο όταν υπάρχουν σταγονίδια στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος τη χρονική στιγμή που είναι παρών ο παλμός λέιζερ. Σύμφωνα με τη μελέτη που παρουσιάστηκε στην ενότητα 5.5 ο ψεκασμός των σταγονιδίων από τον εκνεφωτή είναι ασυνεχής, οπότε το φαινόμενο εμφανίζεται περιοδικά με αποτέλεσμα να προκύπτει υψηλή τυπική απόκλιση παρά το μεγάλο πλήθος μετρήσεων (φασμάτων LIBS) που λαμβάνεται για τον υπολογισμό του μέσου όρου. Η συμπεριφορά αυτή υποδεικνύει ότι η ενίσχυση του σήματος μπορεί πιθανώς να είναι και υψηλότερη από αυτή που αντικατοπτρίζει η τιμή του μέσου όρου των διακοσίων

παλμών. Δεδομένου ότι η μεθοδολογία Double Pulse αποσκοπεί στην αύξηση της ευαισθησίας της τεχνικής LIBS, παρά τα θετικά αποτελέσματα που παρουσιάζει η εφαρμογή της στην ποσοτική ανάλυση κάτω από αυτές τις συνθήκες είναι πρακτικά αδύνατη, καθώς απαιτείται η συνεχής δειγματοληψία σταγονιδίων, έτσι ώστε η μέση τιμή της καταγραφόμενης έντασης να είναι αντιπροσωπευτική της μέσης συγκέντρωσης του αναλύτη στο πλάσμα.

# 6.8. Συμπεράσματα

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της δυναμικής της χρήσης υπερβραχέων παλμών λέιζερ στο υπεριώδες για το σχηματισμό πλάσματος. Το κατώφλι ενέργειας για τη δημιουργία πλάσματος στον στατικό αέρα προσδιορίσθηκε, με βάση την ένταση της εκπομπής ατομικού οξυγόνου, ως E<sub>Thres</sub> ~ 0.13 mJ ενώ υπό συνθήκες εκνέφωσης ως E<sub>Thres</sub> ~ 0.07 mJ.

Η βέλτιστη αλληλεπίδραση του παλμού λέιζερ με το αερόλυμα επιτυγχάνεται όταν το ακροφύσιο του εκνεφωτή απέχει 1 mm από την περιοχή σχηματισμού πλάσματος, ενώ ταυτόχρονα ο άξονας ψεκασμού είναι μετατοπισμένος κατά 1 mm ως προς τον συγκεντρωτικό φακό. Από τη μελέτη της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής από τα συστατικά του αερολύματος εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αλληλεπίδραση του σχηματιζόμενου πλάσματος με τα σταγονίδια περιορίζεται στα 500 ns. Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 500 ns παρατηρείται σταδιακή μείωση της τιμής της έντασης της εκπομπής. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να ερμηνευθεί λαμβάνοντας υπόψη τη σημαντικά μικρότερη ενέργεια που προσφέρεται για το σχηματισμό πλάσματος (E<sub>Pulse</sub> ~ 20 mJ), σε σχέση με τη μεθοδολογία ns-LIBS (E<sub>Pulse</sub> ~ 8 μs.

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μεθοδολογίας fs-LIBS με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης υδατικών διαλυμάτων ιόντων ασβεστίου και βαρίου. Τα όρια ανίχνευσης της τεχνικής είναι της τάξης του 1 μg/mL και για τα δύο στοιχεία. Η τιμή αυτή είναι πλέον της μίας τάξης μεγέθους υψηλότερη συγκριτικά με την αντίστοιχη που επιτεύχθηκε με βάση τη μεθοδολογία ns-LIBS, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι οι διεργασίες εξάτμισης και ατομοποίησης των σταγονιδίων στο πλάσμα έχουν σημαντική επίδραση, καθώς απαιτείται σημαντικό χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωσή τους.

Τέλος εξετάστηκε η δυναμική της χρήσης ζεύγους υπερβραχέων παλμών λέιζερ για το σχηματισμό πλάσματος, οι οποίοι διαχωρίζονται χρονικά κατά τ<sub>Interpulse</sub>. Όταν η τιμή του τ<sub>Interpulse</sub> > 30 ps παρατηρείται αύξηση της ευαισθησίας κατά ένα παράγοντα του 2 έως 4. Ωστόσο η επαναληψιμότητα των μετρήσεων είναι πολύ χαμηλή, συμπεριφορά η οποία

αποδίδεται στον ασυνεχή ψεκασμό σταγονιδίων από τον εκνεφωτή. Η επίδραση της χρήσης του ζεύγους παλμών λέιζερ παρατηρείται μόνο όταν υπάρχουν σταγονίδια στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος τη χρονική στιγμή άφιξης των παλμών λέιζερ. Ο διαχωρισμός των παλμών λέιζερ έχει σχετικά περιορισμένη επίδραση στην ένταση εκπομπής του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα, όπως και σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία σταγονιδίων.

# 6.9. Βιβλιογραφία

[1] J. A. Cobble, G. A. Kyrala, A. A. Hauer, A. J. Taylor, C. C. Gomez, N. D. Delamater and G. T. Schappert, **Kilovolt X-ray spectroscopy of a subpicosecond-laser- excited source**, Phys. Rev. A: At. Mol. Opt. Phys., 39 (1989) 454-457.

[2] V. Margetic, A. Pakulev, A. Stockhaus, M. Bolshov, K. Niemax and R. Hergenröder, A comparison of nanosecond and femtosecond laser-induced plasma spectroscopy of brass samples, Spectrochimica Acta Part B, 55 (2000) 1771-1785.

[3] A.A. Bol'shakov, X. Mao, J. J. Gonzalez and R.E. Russo, Laser ablation molecular isotopic spectrometry(LAMIS): current state of the art, J. Anal. At. Spectrom., 31 (2016) 119-134.

[4] T.A. Labutin, V.N. Lednev, A.A. Ilyin, A.M. Popov, Femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy, J. Anal. At. Spectrom., 31 (2016) 90–118.

[5] V. Piñon, C. Fotakis, G. Nicolas, D. Anglos, **Double pulse laser-induced breakdown** spectroscopy with femtosecond laser pulses, Spectrochimica Acta Part B, 63 (2008) 1006–1010.

[6] V. Piñon, D. Anglos, **Optical emission studies of plasma induced by single and double femtosecond laser pulses**, Spectrochimica Acta Part B, 64 (2009) 950–960.

[7] S. Tzortzakis, B. Lamouroux, A. Chiron, S.D. Moustaizis, D. Anglos, M. Franco, B. Prade, A. Mysyrowicz, Femtosecond and picosecond ultraviolet laser filaments in air: Experiments and simulations, Opt. Commun., 197 (2001) 131–143.

[8] A. Couairon, A. Mysyrowicz, **Femtosecond filamentation in transparent media**, Physics Reports, 441 (2007) 47 – 189.

[9] S. Tzortzakis, D. Anglos, D. Gray, Ultraviolet laser filaments for remote laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis: applications in cultural heritage monitoring, Opt. Lett., 31 (2006) 1139–1141.

[10] J. J. Laserna, R. Fernández Reyes, R. González, L. Tobaria, P. Lucena, **Study on the effect of beam propagation through atmospheric turbulence on standoff nanosecond laser induced breakdown spectroscopy measurements**, Opt. Express, 17 (2009) 10265–10276.

[11] Ph. Rohwetter, K. Stelmaszczyk, L. Wöste, R. Ackermann, G. Méjean, E. Salmon, J. Kasparian, J. Yu and J.-P. Wolf, **Filament-induced remote surface ablation for long range laser-induced breakdown spectroscopy operation**, Spectrochimica Acta Part B, 60 (2005) 1025–1033.

[12] S. Rostami, W. Walasik, D. Kepler, M. Baudelet, N.M. Litchinitser, M. Richardson, **Free-Space Nonlinear Beam Combining Towards Filamentation**, Opt. Express, 25 (2016) 25386–25391.

[12] H. L. Xu, A. Azarm, J. Bernhardt, Y. Kamali and S. L. Chin, **The mechanism of nitrogen fluorescence inside a femtosecond laser filament in air**, Chem. Phys., 360 (2009) 171–175.

[13] A.E. Martirosyan, C. Altucci, A. Bruno, C. de Lisio, A. Porzio, S. Solimeno, **Time evolution of plasma afterglow produced by femtosecond laser pulses**, J. Appl. Phys., 96 (2004) 5450–5455.
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

## Συμπερασματά

Στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής δείχθηκε για πρώτη φορά ο συνδυασμός των τεχνικών LIBS και SSI-MS προς σχηματισμό της υβριδικής τεχνικής LIBS-SSI-MS, η οποία προσφέρει τη δυνατότητα εξαγωγής πληροφοριών σχετικά με τη στοιχειακή σύσταση και το μοριακό βάρος των εξεταζόμενων ενώσεων ταυτόχρονα σε πραγματικό χρόνο. Οι δυνατότητες της τεχνικής LIBS-SSI-MS αξιολογήθηκαν μέσω σειράς μελετών σε δείγματα ενώσεων συναρμογής και μεταλλοπρωτεϊνών. Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκαν σύμπλοκα των ιόντων ασβεστίου και βαρίου με το EDTA, δύο μεταλλοπρωτεϊνών, πιο συγκεκριμένα της σουπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) και της α-λακταλβουμίνης (LALBA), καθώς και μίας ένωσης συναρμογής η οποία περιέχει μεταλλικά ιόντα χαλκού και ερβίου (Cu<sub>6</sub>-Er).

Στην περίπτωση των μεταλλοπρωτεϊνών η εφαρμογή της τεχνικής LIBS-SSI-MS επιτρέπει τον προσδιορισμό του λόγου των συγκεντρώσεων των μεταλλικών ιόντων προς τη συγκέντρωση της πρωτεΐνης ([M<sup>+</sup>]:[Πρωτεΐνη]). Η τιμή του λόγου [M<sup>+</sup>]:[Πρωτεΐνη] αντανακλά τη στοιχειομετρία του μεταλλοϊόντος στην πρωτεΐνη και συνδέεται άμεσα με την ενεργότητα αυτής και κατ' επέκταση με τη βιολογική της δραστικότητα. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση των υπόλοιπων ενώσεων φανερώνουν ότι η τεχνική LIBS-SSI-MS πληροί τις προϋποθέσεις που απαιτούνται ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διεξαγωγή μελετών ειδοταυτοποίησης.

Επιπροσθέτως μελετήθηκε η επίδραση που έχει η παρουσία του πλάσματος στο καταγραφόμενο φάσμα μάζας. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το πλάσμα έχει ισχυρή επίδραση όταν, ο σχηματισμός πλάσματος πραγματοποιείται κατά το χρονικό διάστημα της καταγραφής του φάσματος μάζας. Ειδικότερα στην περίπτωση του τριφθοροξικού νατρίου παρατηρήθηκε ότι η παρουσία του πλάσματος οδηγεί στο σχηματισμό συστάδων (cluster) των μορίων του STFA με μόρια OH τα οποία παράγονται στο πλάσμα, ενώ δεν καταγράφηκε ανάλογη συμπεριφορά στην περίπτωση της μυοσφαιρίνης και της γλουταθειόνης, αν και τα φάσματα μάζας παρουσίασαν αυξημένο υπόβαθρο. Παρά την παρουσία του πλάσματος δεν παρατηρήθηκε επιλεκτική θραυσματοποίηση των μορίων που

181

εξετάστηκαν, καθώς το φαινόμενο παρουσιάζει ευρεία διασπορά και ανιχνεύεται ως αύξηση του υποβάθρου, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει επίδραση στον προσδιορισμό του μοριακού βάρους. Η παρουσία του πλάσματος είχε θετική συνεισφορά στην ευαισθησία της τεχνικής SSI-MS, ωστόσο σε τυπικές συνθήκες λειτουργίας η επίδραση μπορεί να θεωρηθεί αμελητέα.

Πέραν της ανάπτυξης της τεχνικής LIBS-SSI-MS πραγματοποιήθηκε απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που σχηματίζεται, από την εστίαση παλμών λέιζερ ενέργειας E<sub>Pulse</sub> = 170 mJ, σε στατικό αέρα και στο αερόλυμα, με σκοπό την κατανόηση των διεργασιών που διέπουν την αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια και το αποτέλεσμα που έχουν στην ευαισθησία της τεχνικής. Η απεικονιστική μελέτη του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα είναι σημαντική καθώς αποτελεί το ιδανικό σύστημα, το οποίο διαταράσσεται από την ροή του αργού και των σταγονιδίων.

Πραγματοποιήθηκε μελέτη της μετατόπισης των μετώπων του πλάσματος ως προς το χρόνο σύμφωνα με το μοντέλο Sedov, με την προσέγγιση ότι ο σχηματισμός πλάσματος είναι ισοδύναμος με σημειακή έκρηξη. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η εκτόνωση του πλάσματος που δημιουργείται στον στατικό αέρα πραγματοποιείται μέσω σφαιρικών κυμάτων, ενώ σε συνθήκες εκνέφωσης η εκτόνωση του πρόσθιου μετώπου πραγματοποιείται μέσω κυλινδρικών κυμάτων, ενώ του οπίσθιου μέσω σφαιρικών κυμάτων. Η μεταβολή στο μηχανισμό εκτόνωσης αποδίδεται στην έντονη παρουσία της ροής του αργού, η οποία διαταράσσει σημαντικά το σύστημα. Πέραν της επίδρασης στο μηχανισμό εκτόνωσης του πλάσματος, η παρουσία της ροής αργού οδηγεί σε σημαντική μείωση της συμμετρίας του πλάσματος.

Όταν ο σχηματισμός πλάσματος λαμβάνει χώρα σε συνθήκες εκνέφωσης παρατηρούνται δύο περιοχές σχηματισμού πλάσματος, η μία εκ των οποίων ευρίσκεται εντός του αερολύματος ενώ η δεύτερη στο περιβάλλον αέρα-αργού. Η μελέτη του πλάσματος το οποίο σχηματίζεται σε σταγονίδια τα οποία περιέχουν ασβέστιο επέτρεψε την καταγραφή των σταγονιδίων ως φωτεινές κηλίδες. Το μέγεθος και ο αριθμός των κηλίδων που εμφανίζονται σε κάθε εικόνα του πλάσματος διαφέρει, συμπεριφορά η οποία αποδίδεται στα χαρακτηριστικά του αερολύματος. Η ποιοτική μελέτη του αερολύματος που δημιουργείται από τον πνευματικό εκνεφωτή έδειξε ότι το σχηματιζόμενο αερόλυμα παρουσιάζει κωνική γεωμετρία, με γωνία φ = 34°, ενώ ψεκασμός σταγονιδίων από τον εκνεφωτή είναι ασυνεχής με αποτέλεσμα να υπάρχει μεταβλητός αριθμός σταγονιδίων στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος. Η αλληλεπίδραση του πλάσματος με τα σταγονίδια περιλαμβάνει αρχικά διεργασίες εξάτμισης των σταγονιδίων, και εν συνέχεια ατομοποίηση των συστατικών τους και σταδιακή διάχυση αυτών στο πλάσμα. Η έναρξη των διεργασιών ατομοποίησης

182

παρατηρείται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 350 ns, ενώ ολοκλήρωση των διεργασιών παρατηρείται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 8 μs. Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 8 μs παρατηρείται μετακίνηση του πλάσματος στο ύψος της εστιακής περιοχής και η παραμονή του εκεί έως τη απόσβεση του.

Τέλος πραγματοποιήθηκε μελέτη της δυναμικής της χρήσης υπερβραχέων παλμών λέιζερ στο υπεριώδες για το σχηματισμό πλάσματος. Προσδιορίστηκε το κατώφλι δημιουργίας πλάσματος στον στατικό αέρα και σε συνθήκες εκνέφωσης, με την τιμή που για τον στατικό αέρα, (E<sub>Thres</sub> ~ 0.13 mJ) να είναι σχεδόν δύο φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη σε συνθήκες εκνέφωσης με αργό (E<sub>Thres</sub> ~ 0.07 mJ).

Η βέλτιστη αλληλεπίδραση του παλμού λέιζερ με το αερόλυμα επιτυγχάνεται όταν το ακροφύσιο του εκνεφωτή απέχει 1 mm από την περιοχή σχηματισμού πλάσματος, ενώ ταυτόχρονα ο άξονας ψεκασμού είναι μετατοπισμένος κατά 1 mm προς τον συγκεντρωτικό φακό. Από τη μελέτη της χρονικής εξέλιξης της εκπομπής από τα συστατικά του αερολύματος εξάγεται το συμπέρασμα ότι η αλληλεπίδραση του σχηματιζόμενου πλάσματος με τα σταγονίδια περιορίζεται στα 500 ns. Σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> > 500 ns παρατηρείται σταδιακή μείωση της τιμής της έντασης της εκπομπής. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να ερμηνευθεί λαμβάνοντας υπ' όψη τη σημαντικά μικρότερη ενέργεια που προσφέρεται για το σχηματισμό πλάσματος στην περίπτωση του ns-LIBS οι διεργασίες ολοκληρώνονται σε χρόνους τ<sub>Delay</sub> ~ 8 μs.

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μεθοδολογίας fs-LIBS με σκοπό τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης υδατικών διαλυμάτων των ιόντων ασβεστίου και βαρίου. Τα όρια ανίχνευσης της τεχνικής είναι της τάξης του 1 μg/mL και για τα δύο στοιχεία. Η τιμή αυτή είναι πλέον της μίας τάξης μεγέθους υψηλότερη συγκριτικά με την αντίστοιχη της μεθοδολογίας ns-LIBS, συμπεριφορά η οποία δηλώνει ότι οι διεργασίες εξάτμισης και ατομοποίησης των σταγονιδίων στο πλάσμα έχουν σημαντική επίδραση, καθώς απαιτείται σημαντικό χρονικό διάστημα για την ολοκλήρωσή τους.

Τέλος εξετάστηκε η δυναμική σχηματισμού πλάσματος με χρήση ζεύγους υπερβραχέων παλμών λέιζερ χρονικά διαχωριζόμενων κατά τ<sub>Interpulse</sub>. Για τιμές τ<sub>Interpulse</sub> > 30 ps παρατηρείται αύξηση της ευαισθησίας κατά ένα παράγοντα του 2 έως 4. Ωστόσο η επαναληψιμότητα των μετρήσεων είναι πολύ χαμηλή, συμπεριφορά η οποία αποδίδεται στον ασυνεχή ψεκασμό σταγονιδίων από τον εκνεφωτή. Η επίδραση της χρήσης του ζεύγους παλμών λέιζερ παρατηρείται μόνο όταν υπάρχουν σταγονίδια στην περιοχή σχηματισμού πλάσματος τη χρονική στιγμή άφιξης των παλμών λέιζερ. Ο διαχωρισμός των παλμών λέιζερ και σε συνθήκες εκνέφωσης απουσία σταγονιδίων.