

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Ústav environmentálního a chemického inženýrství

**Analýza vzorků ve formě tenké vrstvy pomocí LIBS
spektrometrie**

Autor: Ing. Magdalena Zvolská

Vedoucí práce: doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.

Disertační práce

2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 11. 2017

Magdalena Zvolská

Na tomto místě bych ráda poděkovala lidem, kteří se značnou měrou podíleli na vzniku této práce a především měli obrovský vliv na můj celý vysokoškolský život. Největší dík za nekonečnou trpělivost, odborné rady a vedení a téměř 8 let přetrvávající spolupráci patří doc. Ing. Miloslavu Pouzarovi, Ph.D. Děkuji za všechno a vím, že toho mnohdy nebylo málo.

Další díky patří doc. Ing. Anně Krejčové, Ph.D., doc. Ing. Tomáši Černohorskému, CSc., Ing. Petru Knotkovi, Ph.D. a Ing. et Ing. Tomáši Kratochvílovi, Ph.D. za podporu, rady a cennou spolupráci v průběhu celého studia.

Závěrečné poděkování patří mým nejbližším - rodičům za materiální a psychickou podporu po celou dobu mého studia, sestře za její povzbuzující ironii a celé mé rodině za jejich důvěru a podporu. A děkuji svému muži, za podporu, za důvěru a za motivaci.

Anotace

Předkládaná disertační práce je věnována analýze tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie. V první dílčí části práce je diskutována problematika analýzy práškových vzorků ve formě tenké vrstvy, dále pak vliv optimalizace experimentálních podmínek, vliv formy vzorku a vliv atmosféry v ablační komoře na stanovení F ve vzorcích organických pigmentů. Druhý dílčí cíl je zaměřen na problematiku analýzy kapalin na pevném nosiči. Vzorky šperků s vysokým obsahem Cd byly vyluhovány v simulovaném roztoku lidského potu, tyto výluhy byly následně nanášeny na pevný nosič a následně analyzovány pomocí LIBS spektrometru. V této části práce je diskutován především vliv volby pevného nosiče a optimalizace experimentálních podmínek. Třetí dílčí cíl práce popisuje analýzu ultratenké antikoroziční vrstvy s obsahem Cr na ocelovém plechu, jenž analyzovaný prvek rovněž obsahoval. Diskutován je především vliv experimentálních podmínek na analýzu a jejich optimalizace.

Klíčová slova

LIBS, tenká vrstva, nepřímá analýza kapalin, organické pigmenty, antikoroziční vrstva, plech, fluor, kadmium, chrom, optimalizace podmínek, příprava vzorku

Title

Analysis of samples in form of thin layer using LIBS spectrometry

Annotation

The presented dissertation focuses on analysis of thin layers using LIBS spectrometry. The first part of the thesis discusses the problem of the analysis of powder samples in the form of a thin layer, the influence of optimization of experimental conditions, influence of the sample form and the influence of the atmosphere in the ablation chamber on determination of fluorine in organic pigments. The second sub-goal focuses on the problem of solid-state liquid analysis. Samples of jewellery with high content of cadmium were leached into an artificial human sweat solution, these extracts were then applied to a solid support and subsequently analysed using a LIBS spectrometer. This part of the thesis discusses the effect of solid carrier and optimization of experimental conditions. The third part of this thesis describes the analysis of the ultra-thin anticorrosion layer containing chromium on steel sheet, which also contained the analysed element. The major impact of the experimental conditions on the analysis and their optimization is discussed.

Keywords

LIBS, thin layer, indirect analysis of liquids, organic pigments, anticorrosive layer, metal sheet, fluorine, cadmium, chromium, optimization of conditions, preparation of sample

Obsah

Cíle práce.....	12
1 Teoretická část	14
1.1 Spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu	14
1.1.1 Princip LIBS metody.....	15
1.1.2 Základní princip buzení mikroplazmatu.....	16
1.1.3 Faktory ovlivňující LIBS signál.....	22
1.2 Obecné principy analýzy tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie.....	30
1.2.1 Definice tenké vrstvy.....	30
1.2.2 Analýza tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie.....	30
1.2.3 Nejběžnější metody využívané pro hloubkové profilování vzorků	35
1.2.4 Hloubkové profilování pomocí LIBS spektrometrie.....	37
1.2.5 Nejběžnější metody pro mapování povrchu vzorku.....	39
1.2.6 Mapování povrchu pomocí LIBS spektrometrie.....	41
1.3 Praktické aplikace LIBS spektrometrie při analýze tenkých vrstev	43
1.3.1 Kvalitativní analýza tenkých vrstev	43
1.3.2 Kvantitativní analýza tenkých vrstev	45
1.3.3 Bezkalibrační spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (CF-LIBS).....	49
1.3.4 CF LIBS pro analýzu tenkých vrstev	50
1.3.5 Hodnocení vyvinutého postupu LIBS analýzy	52
1.4 Shrnutí teoretické části práce	54
2 Praktická část	55
2.1 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy	55
2.1.1 Problematika stanovení fluoru	55
2.1.2 Optimalizace podmínek experimentu.....	57
2.1.3 Kalibrace LIBS spektrometru	60
2.1.4 Stanovení F v neznámých vzorcích.....	61
2.2 Výsledky a diskuze - Plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy	62
2.2.1 Optimalizace podmínek experimentu.....	62
2.2.2 Kalibrace LIBS spektrometru	67
2.2.3 Stanovení F v neznámých vzorcích.....	71
2.3 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 2 - Analýza kapalin ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči.....	72

2.3.1 Problematika analýzy toxických prvků v předmětech denní potřeby	72
2.3.2 Optimalizace podmínek experimentu.....	74
2.3.3 Kalibrace LIBS spektrometru	75
2.3.4 Analýza vzorků	76
2.4 Výsledková část - Plnění dílčích cílů 2 - Analýza kapalin ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči.....	77
2.4.1 Optimalizace podmínek experimentu.....	77
2.4.2 Kalibrace LIBS spektrometru	82
2.4.3 Analýza vzorků	84
2.4.4 Systémové nekarcinogenní zdravotní riziko uvolněného Cd	88
2.5 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 3 - Analýza ultratenkých povrchových vrstev	90
2.5.1 Problematika analýzy povrchových vrstev	90
2.5.2 Optimalizace podmínek experimentu.....	91
2.5.3 Kalibrace LIBS spektrometru	92
2.5.4 Inspekce ablačních kráterů	92
2.5.5 Analýza vzorků	92
2.6 Výsledková část - Plnění dílčích cílů 3 - Analýza ultratenkých povrchových vrstev	93
2.6.1 Optimalizace parametrů experimentu	93
2.6.2 Kalibrace LIBS spektrometru	96
2.6.3 Inspekce ablačních kráterů	96
2.6.4 Analýza vzorků	101
3 Závěr.....	102
4 Použitá literatura	108
Přílohy	117

Seznam použitých zkratk

AAR	Průměrná rychlost ablace
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
AC	Počet pulzů
AES	Atomová emisní spektrometrie
AIC	Akaikovo informační kritérium
AP	Analytický bod
BEC	Koncentrace odpovídající signálu pozadí
CF LIBS	Bezkalibrační spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu
DP	Double pulse
ED XRF, EDX, EDS	Energiově-disperzní rentgen-fluorescenční spektrometrie
EU/EEA	Evropský hospodářský prostor
FIB	Svazek fokusovaných iontů
GD OES	Optická spektrometrie s buzením v doutnavém výboji
HAZ	Teplem ovlivněná zóna
ICP MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
IRIS	Integrated Risk Information System
LA ICP MS	Laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s buzením v indukčně vázaném plazmatu
LIBS	Spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu
LOD	Limita detekce
MADD	Maximální absorbovatelná denní dávka
MEIS	Spektroskopie rozptylu středně energetických iontů
MEP	Střední kvadratická chyba predikce
NIST	Národní institut standardů a technologie
NOAEL	Hladina bez pozorovaných nežádoucích účinků
PCA	Analýza hlavních komponent
RBS	Spektrometrie Rutherfordova zpětného rozptylu
RfD	Referenční dávka
RSD	Relativní směrodatná odchylka
SBR	Poměr signál: pozadí
SIMS	Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů
SP	Single pulse
TFMA	Trifluoromethylanilin
US EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí Spojených států
WD XRF	Vlnově-disperzní rentgen-fluorescenční spektrometrie
XPS	Rentgenová fotoelektronová spektroskopie
XRD	Rentgenová difrakční analýza

Seznam ilustrací

Obrázek 1 - Schematické znázornění principu LIBS	15
Obrázek 2 - Schéma znázorňující hlavní děje během interakce laseru se vzorkem.....	17
Obrázek 3 - Schéma kolineárního (3a) a ortogonálního (3b) uspořádání.....	27
Obrázek 4 - Schéma interakce excitačního pulzu s povrchem vzorku.....	28
Obrázek 5 - Změna AAR a Δz v závislosti na pracovní vzdálenosti	32
Obrázek 6 - Změna AAR a Δz v závislosti na energii laserového pulzu	33
Obrázek 7 - Kráter vytvořený po 150 laserových pulzech na vzorku z nerezavějící oceli	34
Obrázek 8 - Hloubkový profil pro Zn I (481,05 nm) a Cu I (521,82 nm)	38
Obrázek 9 - Intenzita analytického signálu v závislosti na počtu laserových odpalů	38
Obrázek 10 - Příklad klastrování geologických vzorků pomocí PCA analýzy	44
Obrázek 11- Saha-Boltzmanův graf čar Fe (před výběrem a po výběru čar)	51
Obrázek 12 - Profilování vodíkové linie H α (656 nm)	52
Obrázek 13 - Schéma postupu přípravy analyzovaných organických pigmentů	56
Obrázek 14 - Vzorek analyzovaného pigmentu s obsahem F 14 hm. %	57
Obrázek 15 - Vzorek pigmentu s obsahem F 14 hm. % ve formě tenké vrstvy na pásce	58
Obrázek 16 - Vzorky pigmentu ve formě tablety.....	58
Obrázek 17 - Spektrum vzorku s obsahem F 14 hm. % ve formě tablety.	62
Obrázek 18 - Emisní spektrum vzorku simulovaného kyselého potu (Cd 40 mg.L ⁻¹)	77
Obrázek 19 - Ilustrační obrázek raznice a přípravy jednotlivých nosičů	78
Obrázek 20 - Aplikace analyzovaného roztoku pomocí automatické pipety	79
Obrázek 21 - Snímek z optického mikroskopu - filtrační papír (zvětšeno 100x a 500x).....	80
Obrázek 22 - Snímek z optického mikroskopu - sešitový papír (zvětšeno 100x a 500x)	80
Obrázek 23 - Ilustrační fotografie vybraných analyzovaných šperků.....	84
Obrázek 24 - Oblast použitelných analytických čar Cr,.....	93
Obrázek 25 - Snímek z optického mikroskopu pro plechy s koncentrací 11 a 21 mg.m ⁻²	98
Obrázek 26 - Profil kráteru ve vzorku S5 (c Cr 21 mg.m ⁻²) - analytický bod o šířce 200 μ m	100
Obrázek 27- Profil kráteru pro plech S1 (c Cr 11 mg.m ⁻²) - analytický bod o šířce 200 μ m	100

Seznam grafů

Graf 1 - Optimalizace energie pulzu; Graf 2 - Optimalizace průměru AP	63
Graf 3 - Optimalizace doby zpoždění; Graf 4 - Optimalizace průtoku He.....	64
Graf 5 - Optimalizace energie pulzu (He); Graf 6 - Optimalizace průtoku Ar.....	64
Graf 7 - Optimalizace energie pulzu (Ar).....	64
Graf 8 - Optimalizace energie pulzu; Graf 9 - Optimalizace průměru AP	65
Graf 10 - Optimalizace doby zpoždění; Graf 11 - Optimalizace průtoku He.....	66
Graf 12 - Optimalizace energie pulzu (He); Graf 13 - Optimalizace průtoku Ar.....	66
Graf 14 - Optimalizace energie pulzu (Ar).....	66
Graf 15 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tablet.....	67
Graf 16 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tablet.....	68
Graf 17 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tenké vrstvy na pásce	68
Graf 18 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tenké vrstvy na pásce	69
Graf 19 - Hodnota SBR pro jednotlivé typy testovaných materiálů pro nosič	79
Graf 20 - Optimalizace objemu aplikovaného roztoku na nosič.....	81
Graf 21 - Optimalizace šířky analytického bodu (a) a laserové energie (b)	82
Graf 22 - Optimalizace šířky vstupní štěrby spektrometru (a); doby zpoždění mezi pulzy (b)...	82
Graf 23 - Kalibrační křivky sestavené pro roztok umělého kyselého potu.....	83
Graf 24 - Kalibrační křivky sestavené pro roztok umělého zásaditého potu	83
Graf 25 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy.....	86
Graf 26 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy po odstranění vlivného bodu 1B	86
Graf 27 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/cm}^2\text{/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy.....	87
Graf 28 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/cm}^2\text{/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy po odstranění vlivného bodu 1B.....	87
Graf 29 - c-I křivky naměřené při variabilní šířce analytického bodu (SP režim).....	95
Graf 30 - c-I křivky naměřené při variabilní hodnotě energie laserového paprsku (SP režim).....	95
Graf 31 - c-I křivky naměřené při variabilní hodnotě energie laserového paprsku (DP režim)	96
Graf 32 - Srovnání spektra měřeného s použitím ohniskové vzdálenosti 200 a 400 μm (režim SP, 130 mJ) pro vzorek s nejvyšším (S5) a nejnižší koncentrací Cr (S1)	97

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Obsah F v jednotlivých vzorcích organických pigmentů	57
Tabulka 2 - Optimální parametry pro analýzu pigmentů ve formě tenké vrstvy	63
Tabulka 3 - Optimální parametry pro analýzu pigmentů ve formě tablety	65
Tabulka 4 - Parametry regrese pro jednotlivé kalibrační závislosti	70
Tabulka 5 - Teoretický a naměřený obsah F v neznámých vzorcích	71
Tabulka 6 - Statistické parametry vypočítané pro každý kalibrační model umělého potu.....	84
Tabulka 7 - Výsledky analýzy povrchového složení šperků pomocí ED-XRF	85
Tabulka 8 - Shrnutí jednotlivých statistických parametrů popisujících korelaci	87
Tabulka 9 - Celkové množství Cd uvolněné ze šperků do umělého potu a vypočítané hodnoty MADD a RCR	89
Tabulka 10 - Koncentrace Cr v povrchové vrstvě analyzovaných vzorků	91
Tabulka 11 - Vypočítané hodnoty V_{total} a R_{eq} pro jednotlivé kalibrační standardy.....	101
Tabulka 12 - Výsledky LIBS a ED XRF analýzy neznámých vzorků	101

Cíle práce

Hlavním cílem předložené disertační práce bylo získání poznatků o možnostech využití spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS) pro kvantitativní prvkovou analýzu vzorků ve formě tenké vrstvy a vytvoření metodik umožňujících praktické aplikace uvedené techniky. Důraz byl kladen především na problematiku optimalizace experimentálních podmínek a dále na přípravu vzorků k analýze, což jsou parametry zásadně ovlivňující přesnost a správnost získaných výsledků. Hlavní cíl práce je rozdělen do tří dílčích cílů, které jsou naplněny v rámci praktické části disertační práce, jejich detailní popis je uveden níže.

Dílčí cíl 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy

Prvním dílčím cílem předkládané disertační práce bylo ověření možnosti využití spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS) pro kvantitativní analýzu lehkých, ale těžko excitovatelných prvků přítomných v organické matrici v práškových vzorcích převedených do formy tenké vrstvy, kdy byl práškový pigment nanesen na povrch lepicí pásky. Naplnění daného cíle mělo vést k významnému snížení spotřeby vzorku (případně možnost analýzy mikro-vzorků), čehož mělo být dosaženo nanesením práškového materiálu na povrch lepicí pásky. Využití LIBS mělo také umožnit analýzu prvků, které je obtížné či nemožné analyzovat alternativními technikami. Praktické naplnění daného dílčího cíle bylo realizováno v rámci vývoje metodiky pro stanovení fluoru ve vzorcích organických pigmentů. Fluor je lehký těžko excitovatelný prvek obtížně analyzovatelný konvenčními technikami používanými pro analýzu pevných vzorků. V praxi je využívána především vlnově-disperzní rentgen-fluorescenční spektrometrie (WD XRF), která v daném případě vyžaduje poměrně náročné postupy přípravy vzorku k analýze, jak je popsáno např. v publikaci (Bocca; et al., 2014). Další nevýhodou je, že metoda WD XRF dosahuje ne zcela uspokojivých hodnot detekčních limitů (0,8 g F/kg) (An; et al., 2012). Využití roztokové analýzy také není v řadě případů možné, protože vzorek může být těžko rozložitelný. Převod pevného vzorku do roztoku bývá často časově náročný a dochází při něm ke ztrátám analytu. Naplnění námi definovaného dílčího cíle by výrazně zjednodušilo a snížilo náklady na analýzu F v těžko rozložitelných práškových vzorcích a rozšířilo by portfolio metod použitelných pro stanovení tohoto prvku.

Dílčí cíl 2 - Analýza kapalin ve formě tenké vrstvy na nosiči

Druhým dílčím cílem disertační práce bylo ověření možnosti prvkové analýzy malých množství kapalných vzorků nanesených ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči pomocí LIBS spektrometru. Naplnění daného cíle by mělo umožnit rychlou analýzu kapalných mikrovzorků v laboratořích vybavených buď pouze technikami prvkové analýzy pevných vzorků (XRF, LIBS), nebo v laboratořích vybavených roztokovými technikami s vyšší spotřebou vzorků (pro ICP OES se spotřeba vzorku v závislosti na použitém zmlžovači pohybuje v řádech jednotek až desítek ml (Krejčova; Cernohorsky; Bendakovska, 2016)). Praktické naplnění druhého dílčího cíle bylo realizováno v rámci vývoje metodiky pro stanovení Cd ve vzorcích výluhů šperků. Vyluhování šperků bylo prováděno v roztocích kyselého a zásaditého modelového potu. Získané roztoky byly charakteristické vysokým obsahem solí (až 44,6 μg Cd uvolněného za týden) a malým objemem (2-20 ml), což jsou vlastnosti komplikující analýzu pomocí ICP OES. Nanesením kapalných vzorků na pevný nosič a jejich následným vysušením mělo být dosaženo zlepšení detekčních limitů pro vzorky malého objemu. Získané výsledky poskytující informaci o mobilitě toxického prvku byly využity v rámci procesu hodnocení zdravotních rizik příslušných šperků.

Dílčí cíl 3 - Analýza povrchové ultratenké vrstvy

Třetím dílčím cílem bylo ověření možnosti kvantitativní analýzy prvků tvořících tenkou antikorozi vrstvu ocelových plechů pomocí LIBS. Dosažení daného cíle mělo umožnit náhradu stávajícího konvenčního postupu spočívajícího v odleptání antikorozi vrstvy a následné analýze takto získaného kapalného vzorku. Konvenční postup je charakteristický velkou pracností a malou reprodukovatelností analýzy. Náhrada konvenčního postupu měla vést ke zrychlení a zjednodušení analytického procesu a navíc měla umožnit získání detailnějších informací o plošném rozložení analyzovaného prvku v povrchové vrstvě vzorků. Využití optimalizované LIBS metodiky mělo rovněž umožnit analýzu antikorozi vrstev složených z prvků, které se rovněž vyskytují v materiálu podkladové oceli, což je typ analýzy, který je velmi obtížné provést pomocí jiných technik (odleptávání a následná ICP OES analýza, ED XRF apod.). Praktická realizace třetího dílčího cíle byla provedena v rámci vývoje metodiky pro stanovení Cr tvořícího antikorozi vrstvu ocelí, které rovněž obsahovaly daný prvek.

1 Teoretická část

1.1 Spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu

Spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu (z anglického *Laser-induced breakdown spectrometry* - LIBS) je instrumentální analytická metoda řadící se do skupiny metod atomové emisní spektrometrie. V případě LIBS spektrometrie je budícím zdrojem laserový paprsek, který je pomocí optických členů fokusován na povrch vzorku. Po interakci laserového paprsku s materiálem vzorku dochází ke vzniku mikroplazmatu. Deexcitací elektronů, které byly excitovány do vyššího energetického stavu pomocí vhodně zvoleného budícího zdroje, se emituje charakteristické záření. Emitované spektrum zaznamenané detektorem poskytuje informace, které lze využít pro identifikaci prvků v analyzovaném vzorku či ke stanovení koncentrace těchto prvků.

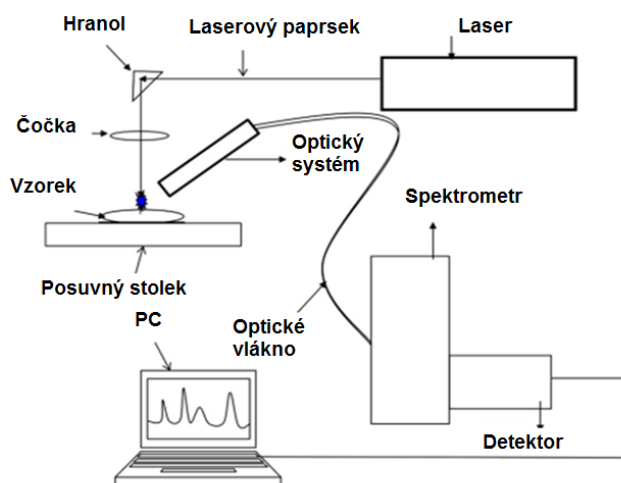
LIBS spektrometr se vyznačuje jednoduchým uspořádáním a nízkým počtem konstrukčních prvků. Zařízení se obvykle skládá z laserového zdroje, systému optických elementů, ablační komory, spektrometru, detektoru a řídicího/vyhodnovacího PC. Další výhodou metody LIBS je možnost měření vzorků v různých skupenstvích. Přínosem této techniky je také rychlost měření, možnost multielementární analýzy a také schopnost stanovení některých lehkých prvků (např. N, B, F apod.). Výhodou je i způsob vzorkování charakteristický pro tuto techniku. K vlastní analýze je obvykle pomocí laserového pulzu odebráno pouze mikroskopické množství materiálu z povrchu vzorku. S tímto způsobem vzorkování mohou být ovšem spojeny i některé nevýhody. Pokud je nevhodně zvoleno vzorkovací místo, zejména pokud vzorek není homogenní, nebo nebyl reprezentativně odebrán či připraven k analýze, může být v místě analýzy rozdílné složení vzorku, které nereprezentuje skutečnost. Tím může dojít ke zkreslení výsledků analýzy, které se projeví nižší přesností a správností analýzy ve srovnání s ostatními konvenčními analytickými metodami. Problematický může být i vliv matrice vzorku. Obecně se však nedá říci, že by existoval vzorek s takovým složením, které by nebylo možné pomocí LIBS analyzovat. LIBS spektrometrie je považována za metodu rychlou a kvazi-nedestruktivní, jenž poskytuje dobré detekční limity pro řadu prvků. V případě vhodné konfigurace přístroje je možná i tzv. *in situ* analýza. (Cremers, 2012; Pasquini; et al., 2007) Obvykle jsou předmětem analýzy slitiny kovů, práškové vzorky či oleje, ale analyzovány mohou být i biologické vzorky. Technika LIBS nachází své uplatnění v řadě oborů jako je environmentální chemie, forenzní, archeologická a povrchová analýza a mnohé další. (Peng; et al., 2016; Senesi; Senesi, 2016; Spizzichino; Fantoni, 2014; Yu; et al., 2014) Právě problematika spojená s analýzou povrchů

a tenkých vrstev se v poslední době dostává do popředí zájmu odborníků, hledajících nejvhodnější aplikační oblasti pro tuto techniku. Proto bude analýze tenkých vrstev věnována předkládaná disertační práce.

1.1.1 Princip LIBS metody

Jak již bylo zmíněno, základním principem LIBS spektrometrie je iniciace vzniku mikroplazmatu pomocí laserového zdroje. Při interakci laseru se vzorkem dochází k několika procesům. Nejprve je vzorkem absorbováno budící záření, čímž dojde k jeho lokálnímu přehřátí a při dostatečné intenzitě absorbovaného záření i k ablaci materiálu. Následně dochází ke vzniku mikroplazmatu a excitaci a následné deexcitaci elektronů přítomných prvků, které emitují charakteristické záření, jež je následně detekováno.

Po absorpci záření a s ní spojeným přenosem tepla dochází k ablaci analyzovaného materiálu, teprve poté dochází ke vzniku mikroplazmatu. Průběh těchto pochodů závisí především na vlastnostech laseru a na složení analyzovaného vzorku a blíže budou popsány v další části textu. V závislosti na typu laseru se doba trvání interakce paprsku se vzorkem pohybuje v řádech femtosekund [fs] až mikrosekund [μ s]. Dalším parametrem ovlivňujícím ablační pochody je hustota záření [$\text{J} \cdot \text{m}^{-3}$] a vlnová délka [nm], na které laserový zdroj pracuje. Může se jednat o lasery s vlnovými délkami v oblasti ultrafialového, infračerveného, rentgenového i viditelného záření. Proces buzení je pak dále ovlivňován objemem a složením odpařeného podílu vzorku a složením a tlakem okolní atmosféry. (Hahn; Omenetto, 2010; Pathak; et al., 2012; Russo; Mao; Mao, 2002) Schematické znázornění principu LIBS spektrometrie je uvedeno na Obr. 1.



Obrázek 1 - Schematické znázornění principu LIBS

1.1.2 Základní princip buzení mikroplazmatu

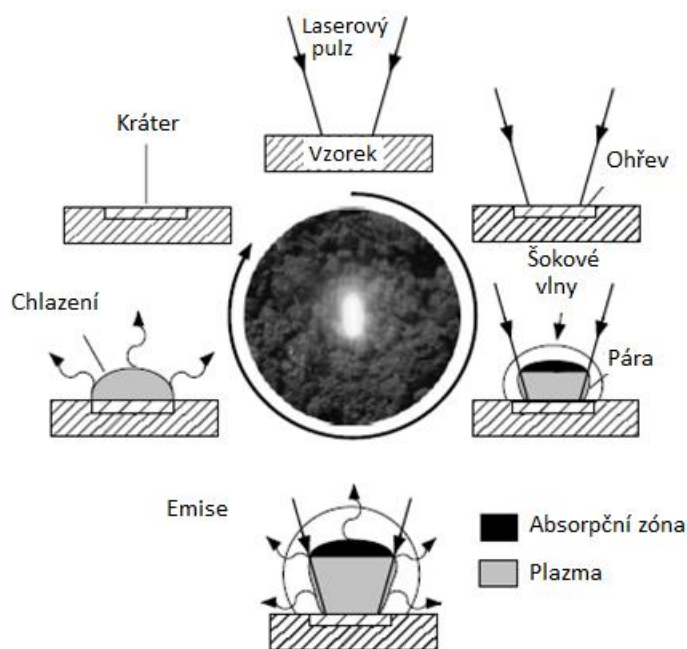
Jak již bylo zmíněno, LIBS spektrometrie patří do skupiny metod atomové emisní spektrometrie. Tyto metody mají společné 3 základní kroky vedoucí k emisi záření. Prvním krokem je odpařování vzorku za vzniku volných atomů a iontů, druhým krokem je excitace a následná zářivá deexcitace elektronů v příslušných elementárních částicích a třetím pochodem je snímání a vyhodnocování optické emise. V případě techniky LIBS dochází k excitaci elementárních částic a následné emisi charakteristického záření v plazmatu, které vzniká v důsledku interakce vysokoenergetického laserového paprsku s materiálem vzorku. Laserový paprsek je fokusován na povrch vzorku, dochází k lokálnímu zahřátí materiálu v určitém objemu, což vede k vypuzení malého množství vzorku ve formě pevných částic, kapek tekutiny a atomové páry. Vzájemným působením dopadajícího laserového pulsu a volných atomů, se nad povrchem vzorku vytváří horké plazma. Kolizemi mezi jednotlivými elementárními částicemi v plazmatu jsou tyto částice excitovány a dochází k emisi záření. (Cremers; Chinni, 2009)

Interakce laseru se vzorkem

Interakce laserového paprsku s povrchem vzorku je komplikovaný proces, závislý jak na vlastnostech laserového paprsku (např. vlnová délka, hustota zářivého toku), tak na fyzikálních a chemických vlastnostech analyzovaného vzorku. Pro vznik ablace je nutné, aby laserový zdroj vygeneroval laserový paprsek o dostatečné hustotě zářivého toku ($\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$). Pokud je intenzita paprsku nedostačující, lze jeho intenzitu zvýšit vhodnou fokusací na vzorek. Laserový pulz dopadající na povrch interaguje s elektrony přítomnými v povrchové vrstvě vzorku, jejíž tloušťka může být různá a závisí na penetrační hloubce fotonů. (Hudecová, 2017) Tato interakce spočívá v absorpci energie z pulzu, jenž vede k ohřevu materiálu vzorku. Tento ohřev je velmi rychlý a dochází k roztavení tenké povrchové vrstvy a část tepla je odváděna i do vnitřních vrstev materiálu. Vzhledem k vysokému výkonu laseru je roztavený materiál na povrchu vzorku dále zahříván a v případě, že je absorbovaná energie vyšší než latentní výparné teplo, atomizovaný materiál je vyvržen z povrchu. Některé pevné a kapalné částice mohou být z povrchu dále vypuzeny pomocí silných šokových/tlakových vln vznikajících na exponované části povrchu vzorku.

Tyto děje jsou graficky znázorněny na Obr. 2. (Cremers; Radziemski, 2006) Po aplikaci laserového pulzu se vnikající plazma rychle ochlazuje a rozpadá. Průměr oblasti, kterou pokryje fokusovaný paprsek, se pohybuje v řádu jednotek až stovek μm . (Hahn;

Omenetto, 2010; Russo; et al., 2013) V případě více pulzů aplikovaných na jedno místo, může dojít ke snížení prahu ablace, a to z důvodu hromadění vad materiálu a akumulace tepla z předchozích pulzů.



Obrázek 2 - Schéma znázorňující hlavní děje během interakce laseru se vzorkem

Ablace

Ablaci je chápána kaskáda dějů, během které dochází k odstranění malého množství materiálu ze substrátu přímou absorpcí laserové energie. Mezi tyto děje se řadí absorpce energie povrchem vzorku, prudké zahřátí ozařované plochy, následné odpaření materiálu a vznik mikroplazmatu. K ablaci dochází v případě, že je vzorkem absorbováno prahové množství energie, které závisí na mechanismu absorpce a na vlastnostech analyzovaného materiálu, jako jsou mikrostruktura, morfologie, přítomnost defektů, optické vlastnosti, tepelná vodivost či výparná entalpie. Doba trvání laserového pulzu a geometrie dopadajícího fokusovaného paprsku ovlivňuje množství energie dodané na povrch vzorku za jednotku času a patří mezi parametry ovlivňující množství materiálu, které je tímto způsobem odebráno a přeneseno do indukovaného plazmatu. Ablatovaný materiál přispívá k formování a expanzi plazmatu tím, že dodává neutrální a ionizované částice, které interagují s volnými elektrony a udržují plazma pomocí další absorpce. (Asgill; et al., 2010) Existuje několik mechanismů odebrání materiálu během ablace. Míra jejich uplatnění je závislá na vlastnostech použitého laseru. Při nízké hodnotě absorbované energie zahrnuje proces ablace i odpařování

a sublimaci. U vícesložkových systémů mohou být těkavější látky vyčerpány rychleji a dochází ke změně chemického složení zbývajících materiálu. S vyšší energií laseru a v případě, že je ohřívání dostatečně rychlé, dochází k rychlé homogenní nukleaci a expanzi vznikajících par, což vede k explozivnímu varu a k odvodu pevných i kapalných fragmentů materiálu. Tyto tepelné mechanismy mohou být chápány jako změna termodynamické fáze v reakci na vysoké teploty. (Cremers; Radziemski, 2006) Proces ablace je předmětem mnoha teoretických i experimentálních studií, jejichž hlavním úkolem je pochopit vztah mezi jednotlivými instrumentálními parametry (doba trvání pulzu, vlnová délka laseru), charakterem vzorku (tepelná konduktivita, tepelná difuzivita, optický absorpční koeficient, body tání a varu), složením pracovní atmosféry a jejich vlivu na ablací a množství ablatovaného materiálu. (Bilmes; et al., 2005; Hahn; Omenetto, 2010; Pasquini; et al., 2007; Pathak; et al., 2012; Senesi; Senesi, 2016)

Tavení a odpařování

Při absorpci elektromagnetického záření materiálem dochází k fototermálnímu efektu, kdy je energie světelného záření přeměněna na energii tepelnou. Následná reakce materiálu je závislá na jeho schopnosti lokálního ohřevu či chlazení, na maximální možné dosažené teplotě a na teplotních gradientech. Rychlost ohřevu může být až 10^9 K.s^{-1} , což může vést k výrazným změnám v materiálu. (Bleiner; Bogaerts, 2006) Je-li materiál pomocí laseru zahřátý pod bod tavení, dochází k aktivaci celé řady tepelně indukovaných procesů uvnitř pevného materiálu. Vysoké teploty mohou zvýšit míru difúze, která podporuje "doping" nečistot do materiálu, reorganizaci krystalové struktury či slinování porézních materiálů. Velké teplotní gradienty, kterých je dosaženo vysoce lokalizovaným laserovým paprskem, mohou vést k teplotnímu stresu, jenž může přispívat k mechanické odezvě materiálu (deformace, praskání či zhušťování materiálu vzorku). V okamžiku, kdy přestává na vzorek působit laserový paprsek, dochází k jeho ochlazení a opětovnému tuhnutí. Rychlé ochlazování může vést k vytvoření defektů v materiálu a k ochuzení taveniny o méně stabilní složky vzorku. Tuhnutí může ovšem doprovázet rekrytalizace materiálu do větších zrn, než byly před analýzou. Při velmi vysokých teplotách může docházet k redistribuci a deformaci materiálu. (Cremers; Radziemski, 2006; Pasquini; et al., 2007)

Rozložení teploty v místě analýzy je určeno především tepelnou difuzivitou D_h [$\text{m}^2.\text{s}^{-1}$], což je poměr tepelné vodivosti κ [$\text{W}.\text{m}^{-1}.\text{K}^{-1}$] k tepelné kapacitě c_p [$\text{J}.\text{kg}^{-1}.\text{K}^{-1}$] a hustotě ρ [$\text{kg}.\text{m}^{-3}$], (viz rovnice (1)).

$$D_h = \frac{\kappa}{c_p \rho} \quad (1)$$

Látky s vysokou tepelnou difuzivitou rychle přizpůsobují svou teplotu okolnímu prostředí. Tento parametr je značný např. pro Cu ($10,1 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$) a Al ($9,8 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$), naopak Mn má velmi nízkou tepelnou difuzivitu ($0,22 \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$). (Bleiner; Bogaerts, 2006)

Dalším důležitým parametrem ovlivňující proces tavení a odpařování je optický absorpční koeficient α [cm^{-1}]. Tento koeficient je závislý na vlnové délce záření a na vlastnostech materiálu. Čím vyšší je absorpční koeficient, tím pevněji je energie laseru v materiálu „vázána“ na jednotku délky a proto je využita k ohřevu na povrchu i pod ním. (Bleiner; Bogaerts, 2006) Pro výpočet absorpčního koeficientu je možné využít rovnici (2):

$$\alpha = \frac{4\pi K}{\lambda} \quad (2)$$

Kde α je optický absorpční koeficient [cm^{-1}], κ je extinkční koeficient [cm^{-1}] a λ je vlnová délka [nm]. (Elshair, 1991)

Dalšími parametry, které značně ovlivňují proces tavení a odpařování jsou optické vlastnosti, jako je emisivita, propustnost a odrazivost. Emisivita ε je bezrozměrná veličina, která popisuje schopnost povrchu tělesa vyzařovat teplo a má velký význam pro modelování přenosu tepla zářením mezi objekty. Emisivita je definována jako poměr intenzity vyzařování zkoumaného povrchu (I_x) [s^{-1}] k intenzitě vyzařování absolutně černého tělesa (I_0) [s^{-1}], při stejné teplotě a za stejných optických a geometrických podmínek (Ishii; Ono, 2001)

$$\varepsilon = \frac{I_x}{I_0} \quad (3)$$

Odrazivost je vlastnost materiálu, jenž popisuje množství světla, jež se odrazí od materiálu v poměru k množství světla, které na povrch dopadá. Hodnota odrazivosti může být vypočítána z rovnice (4), kde R je odrazivost, n je index lomu, jenž je závislý na vlnové délce a materiálu vzorku. Při rychlém ohřevu za podkritických podmínek je hodnota odrazivosti hodnotou počátečního stavu, než dojde k odpaření a tavení materiálu vzorku. (Bleiner; Bogaerts, 2006)

$$R = \left| \frac{n-1}{n+1} \right|^2 \quad (4)$$

Propustnost materiálu popisuje, jaké množství světla bylo materiálem propuštěno v poměru k množství světla, které na materiál dopadlo. Ke stanovení stupně propustnosti se využívají metody speciálně určené pro tento typ analýz. Propustnost závisí na vlnové délce dopadajícího záření, na druhu materiálu vzorku, chemickém složení i struktuře. (Webster; Halit, 2014)

Frakcionace

Mezi ablací a vznikem mikroplazmatu může probíhat tzv. frakcionace. Tento děj je chápán jako dělení analyzované směsi na frakce tak, že každá frakce je obohacena o různé složky výchozí směsi (nestechiometrická ablace), v závislosti na jejich chemických a fyzikálních vlastnostech. Hnací silou frakcionace jsou termické procesy vyvolané působením laserového pulzu na vzorek. V důsledku frakcionace dochází k rozdílnému složení ablatovaného materiálu v porovnání se složením analyzovaného vzorku a praktickým důsledkem je tedy změna poměru naměřených analytických signálů jednotlivých prvků. Frakcionace je závislá na vlastnostech analyzovaných prvků (teplota vypařování a varu, ionizační potenciál, poloměr iontu atd.) a lze ji potlačit optimalizací podmínek, jako je volba vlnové délky laseru, délka trvání pulzu, nastavení hustoty energie zářivého toku a využití kalibračních standardů se známou maticí. Diskutován je i vliv atmosféry v ablační komoře. Potlačení frakcionace je cílem teoretických i praktických experimentů - předpokládá se, že čím je nižší doba působení laseru na vzorek, tím je nižší pravděpodobnost vzniku frakcionace. (Hahn; Omenetto, 2010; Jarošová, 2016)

Vznik mikroplazmatu

LIBS spektrometrie je metoda založená na indukci plazmatu, neboli vysoce ionizovaného plynu, pomocí laserového pulzu. Plazma je tvořeno přenosem energie elektromagnetického záření z laserového pulzu na atomy, ionty a elektrony. K tomuto přenosu energie dochází pomocí inverzní Bremsstrahlungovy absorpce, jenž zahrnuje absorpci energie volnými elektrony, atomy a ionty. K tomu, aby Bremsstrahlungův inverzní proces vytvořil stabilní plazma, je nutná vysoká hustota elektronů a iontů. Existují dva mechanismy vedoucí ke vzniku mikroplazmatu - kolizí buzená ionizace a multifotonová absorpce.

Vznik plazmatu vlivem kolizí buzené ionizace (rovnice 5) je typický při využití dlouhovlnných Nd:YAG laserů, pracujících na vlnové délce 1064 nm. Vlivem laserového pulzu nejprve dochází k vyražení elektronu z elektronového obalu a dalším působením elektrického pole laseru získává elektron potřebnou energii. V okamžiku, kdy elektron získá

dostatečné množství této energie, může dalšími srážkami ionizovat atomy za vzniku dalších volných elektronů, které jsou urychlovány v elektrickém poli. Celý proces se neustále opakuje a počet volných elektronů tak kaskádovitě narůstá.



Druhý mechanismus - multifotonová absorpce (rovnice 6), je založen na současné absorpci určitého počtu fotonů atomy či molekulami. Fotony (n), každý o energii $h\nu$, jsou absorbovány simultánně, čímž dané částice přijmou velká kvanta energie, což vede k uvolnění elektronů a vzniku ionizovaných částic. Absorpce probíhá v lokálním objemu vzorku, proto je vyprodukováno pouze malé množství volných elektronů, jejichž počet roste lineárně s časem. Aby došlo k ionizaci, musí být součet energií absorbovaných fotonů větší než ionizační potenciál atomu, tedy: $n h\nu > I_p$, kdy I_p je ionizační potenciál atomu. Současně se pravděpodobnost simultánní absorpce fotonů snižuje s počtem fotonů, které jsou nezbytné k vyvolání ionizace.



Po vytvoření prvotního plazmatu pomocí laserového pulzu prochází samotné plazma několika fázemi. Pokud jsou volné elektrony generovány ve fokálním objemu, plazma roste v závislosti na inverzním brzděném záření. Toto záření může být dvojího typu: interakce elektron - neutrální částice a interakce elektron - ion. Oba typy brzděného záření jsou důležité v různých fázích rozvoje plazmatu. Pokud je přítomen dostatek elektronů, převládá interakce elektron - neutrální částice. Tvorba plazmatu pokračuje do bodu, kdy je ionizováno asi 1% částic a následně převládá interakce elektron-ion. Po vytvoření absorpčního plazmatu uvnitř fokálního objemu, bude plazma růst z povrchu vzorku ve směru normály k povrchu. K tomuto růstu dochází proto, že laserový pulz přivádí do plazmatu energii, která je absorbována především v jeho horní okrajové části. (Cremers, 2012; Hahn; Omenetto, 2010; Pasquini; et al., 2007)

Emise analytických čar

Metody atomové emisní spektrometrie jsou založeny na sledování emise elektromagnetického záření produkovaného volnými atomy, ionty či molekulami látky v plynném stavu. Po excitaci elektronů do vyšších energetických hladin a jejich návratu do základního stavu tyto částice emitují charakteristické záření, které je snímáno a detekováno. Při každém přechodu emituje příslušná částice kvantum elektromagnetického záření, jehož energie (respektive vlnová délka) odpovídá rozdílu energií hladin, mezi nimiž se přechod uskutečnil. Vlnovou délku emitovaného záření lze vypočítat pomocí rovnice (7).

$$\lambda = \frac{hc}{E_2 - E_1} \quad (7)$$

Kde λ je vlnová délka záření [nm], h je Planckova konstanta [J. s], c je rychlost světla [m.s⁻¹], a E_1 a E_2 jsou energie atomu ve vyšším a nižším energetickém stavu [eV].

Při absorpci záření z UV a VIS oblasti se energie excitovaných atomů a iontů zvyšuje tak, že dochází k excitaci valenčních elektronů. Při emisi elektromagnetického záření přechází elektrony z vyšší na nižší energetickou hladinu a atom se zbavuje přebytku energie vyzářením fotonů. Může dojít k přechodům mezi excitovanými hladinami elektronů a mezi vnějšími nebo vnitřními hladinami základního stavu atomu, anebo mezi různými excitovanými hladinami vzájemně. Emisní spektrum má čárový charakter a analyticky využívaná oblast emisních čar je v rozsahu 110 až 900 nm. (Cazes, 2004)

1.1.3 Faktory ovlivňující LIBS signál

Jak již bylo zmíněno, průběh LIBS analýzy je závislý na několika faktorech, které výrazně ovlivňují analytickou odezvu. Mezi tyto faktory patří energie a vlnová délka laserového záření, geometrie laserového paprsku, experimentální uspořádání LIBS spektrometru, složení atmosféry v ablační komoře, nastavení průměru analytického bodu, ale i vlastnosti analyzovaného materiálu. V následující části práce budou vybrané faktory detailněji popsány.

Vliv energie a vlnové délky laserového záření

Energie laseru je z analytického hlediska jeden z nejdůležitějších parametrů LIBS spektrometrie. Její hodnota je variabilní a nastavitelná v určitém rozsahu. Energie laserového paprsku je charakterizována zářivou expozicí [J.cm⁻²] a hustotou zářivého toku [W.cm⁻²]. Intenzita generovaného laserového paprsku je závislá na použitém laserovém zdroji a má značný vliv na hloubku průniku paprsku do materiálu a tedy i objemovou jednotku vzorku, z níž bude odebírán materiál do plazmatu. Při některých analýzách není žádoucí provádět pouze povrchové mapování vzorků, ale i tzv. hloubkové profilování, tedy analýzu vnitřních vrstev vzorku. Zvolenou energií a optimalizací dalších parametrů se dá dosáhnout poměrně přesného nastavení hloubky průniku. (Winefordner; et al., 2004)

Prahová hodnota hustoty zářivého toku, která iniciuje laserovou ablaci, je závislá na schopnosti laserového pulzu vybudit nadkritické množství volných elektronů. Míra prahové

hodnoty je závislá na mechanismu produkce elektronů. Vhodnou fokusací laserového paprsku na povrch vzorku a nastavením vhodné energie laserového paprsku lze zvýšit hustotu zářivého toku. S rostoucí hodnotou hustoty zářivého toku exponenciálně vzrůstá i množství ablatovaného materiálu. Tento děj není nekonečný, při určité hodnotě hustoty toku dochází k saturaci množství ablatovaného materiálu z důvodu stínění mikroplazmatem, jenž pohlcuje další přicházející energii laserového paprsku. Následně je dosaženo konstantní rychlosti ablace. Se zvyšující se hodnotou hustoty zářivého toku vzniká i mikroplazma s vyšší teplotou, přičemž je možné dosáhnout i vyššího stupně disociace a excitace částic vzorku. Tento proces má pozitivní vliv na zvyšující se citlivost analýzy (Kratochvíl, 2010). Celkový výkon laserového paprsku [W] se dá vypočítat pomocí vztahu (8):

$$P = \pi w^2 I_0 \quad (8)$$

kde w je poloměr paprsku [μm] a I_0 je intenzita záření na ose ($r = 0$) [s^{-1}] (Allmen; Blatter, 2013). Pro odhad minimální hustoty energie použitého laserového pulzu [$\text{J} \cdot \text{m}^{-3}$] nutné k ablaci se využívá rovnice (9):

$$P_{min} = \rho L_v \kappa^{1/2} \Delta t^{-1/2} \quad (9)$$

kde ρ je hustota vzorku [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$], L_v je latentní výparné teplo [$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1}$], κ je tepelná difuzivita analyzovaného vzorku [$\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$] a Δt je doba trvání laserového pulzu [fs - ns]. Využití vysoké hustoty zářivého toku ($>10^9 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$) zapříčiní, že je výrazně více energie laserového pulzu přeneseno do materiálu, což vede k vyššímu stupni odpařování i atomizaci/ionizaci a dochází k reprezentativnějšímu rozložení prvků v roztaveném materiálu. (Cremers; Radziemski, 2006)

Vlnová délka záření laseru použitého pro analytické účely má značný vliv na formování vznikajícího mikroplazmatu, protože ovlivňuje jak tvorbu počátečních elektronů, tak i průběh interakce laser - plazma. Čím kratší je vlnová délka laserového záření, tím je vyšší energie fotonů a tím vyšší je také absorpční koeficient a snižuje se možnost frakcionace. Změnou vlnové délky se zásadně změní i množství vzorkem absorbované energie laserového záření. V závislosti na vlnové délce může ablace zahrnovat termické (krátkovlnné lasery, UV oblast) i netermické mechanismy (delší vlnové délky, IČ oblast).

V případě termických procesů dochází k absorpci laserového záření přímo elektrony, které převádějí tuto energii do atomové mřížky, následně dochází k tavení a odpaření materiálu vzorku. Během termických procesů může docházet k frakcionaci. Pokud přesáhne energie fotonů vazebnou energii sousedících atomů, je laserovým paprskem porušena

atomová mřížka a dochází k ablaci. Jak bylo zmíněno u vlivu energie laserového záření, rozsah stínění plazmatu je závislý i na vlnové délce záření., protože energie laserového paprsku může být vznikajícím mikroplazmatem absorbována nebo naopak odražena. (Russo; Mao; Mao, 2002; Winefordner; et al., 2004)

Působení laserového pulzu na vzorek může mít za následek vybuzení nejen termických ale i netermických procesů. Oba procesy ovlivňuje nejen výkon laserového záření, ale i vlastnosti vzorku. Netermické procesy (spojené s ablací) jsou pozorovány především při působení vyšších hustot zářivého výkonu laseru ($>10^9 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) a při kratší době trvání pulzu (pulzy v řádu ns a kratší), které jsou upřednostňovány, vzhledem k tomu, že energie fotonu je v tomto případě vyšší než energie vazby sousedních atomů v pevné látce a dochází tak k přímému narušení atomové mřížky a k uvolnění atomů bez difúze tepla. Termické procesy (odpařování a tavení vzorku) se projevují naopak při nižší hustotě zářivého výkonu ($< 10^6 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) a při delší době pulzu (pulzy v řádu ms a delší), během těchto procesů dochází k tavení a odpařování materiálu kvůli přímé absorpci laserového záření elektrony a přenosem energie na atomovou mřížku, to může mít za následek silnou frakcionaci. U laserů s hustotou zářivého toku $10^6 - 10^9 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ dochází současně k odpařování i k ablaci. (Glaus; et al., 2010; Matýsková, 2012; Russo, 1995; Zvěřina, 2011)

Vliv teploty plazmatu

Teplota vznikajícího plazmatu je jeden z důležitých parametrů, který značně ovlivňuje průběh a výsledek analýzy. Na teplotu plazmatu mají vliv především parametry laseru, složení pracovní atmosféry a fyzikální a chemické vlastnosti vzorku (matrice vzorku, homogenita apod.). Teplota plazmatu se zvyšuje se zvyšující se energií laseru či tlakem pracovní atmosféry. Na druhou stranu teplota plazmatu klesá se zvyšující se vzdáleností od povrchu vzorku a v čase. Teplota je závislá i na složení atmosféry - v argonové atmosféře je vyšší než při využití jiných plynů. (Zhang; et al., 2014)

Existuje několik metod výpočtu teploty plazmatu, nejčastěji používaná je metoda Boltzmannova grafu, která vychází z Boltzmannova distribučního zákona, jenž popisuje závislost mezi teplotou zkoumané soustavy a pravděpodobností distribuce částic v této soustavě. Tato metoda je využitelná při znalosti intenzit alespoň dvou emisních čar stejného prvku. Intenzita spektrální čáry je dána rovnicí (10):

$$I = \frac{1}{4\pi} AhfGN_j \quad (10)$$

kde I je intenzita sledované emisní čáry [s^{-1}], A Einsteinův koeficient [s^{-1}], h Planckova konstanta [$J \cdot s$], f je frekvence emitovaného záření [Hz], G je instrumentální faktor (efektivita sběru záření optikou a optické vlastnosti sestavy jako celku) a N_j je hustota populace excitovaného stavu [$cm^{-1} \cdot eV^{-1}$]. Intenzitu píku určíme z jeho maximální hodnoty, či plochy. Po dosazení rovnice pro intenzitu čáry do Boltzmannovy distribuce a zlogaritmování získáme vztah (11):

$$\ln \left(\frac{I 4\pi}{A h f g_j} \right) = -\frac{E_K}{kT} + \ln \left(\frac{G N_0}{Z(T)} \right) \quad (11)$$

kde g statistická váha odpovídající hladiny, E_K energie excitovaného stavu [eV], k Boltzmannova konstanta [$eV \cdot K^{-1}$], T teplota plazmatu [K], Z je funkce rozdělení, N_0 hustota populace základního stavu [$cm^{-1} \cdot eV^{-1}$].

Při znalosti intenzit alespoň dvou čar, kterým náleží hodnoty energie excitovaného stavu E_j , můžeme do grafu vynést závislost levé strany rovnice na teplotě. Dostaneme tak body, které proložíme křivkou lineární závislosti. Sklon této křivky odpovídá převrácené hodnotě elektronové teploty plazmatu. (Aguilera; Aragon, 2007; Cremers; Radziemski, 2006; Knopp; Scherbaum; Kim, 1996; Kouřil, 2012; Zhang; et al., 2014) Teplota plazmatu se v průběhu času dynamicky mění. Po iniciaci laserovým pulzem se teplota pohybuje, až okolo 10 000 K. Následně je počáteční energie spotřebovávána na excitaci částic, jejich rekombinaci uvnitř plazmatu a při expanzi plazmového útvaru. V důsledku toho teplota v plazmatu rychle klesá. (Procházka, 2014; Vítková, 2015; Zhang; et al., 2014) Obecně lze pak říci, že teplota plazmatu iniciovaného laserem pracujícím v dvoupulzním módu má vyšší teplotu než plazma vzniklé při použití jednopulzního režimu. Teplota plazmatu je též závislá na tvrdosti vzorku - čím tvrdší je vzorek, tím je teplota plazmatu vyšší a naopak. Pokud se v analyzovaném vzorku vyskytují bariéry přenosu tepla, např. výdutě, může teplota plazmatu klesat. (Zhang; et al., 2014)

Vliv doby pulzu

Doba trvání laserového pulzu má zásadní vliv na dynamiku ablace. Obecně, čím je kratší doba pulzu, tím je energie rychleji absorbována materiálem, což vede ke zvýšení dynamiky ablace. Objem materiálu, který je v přímé interakci s elektromagnetickým zářením laseru má tak méně času pro přenos energie do okolního materiálu předtím, než je ablatován. Z tohoto důvodu je ablatovaný objem přesněji ohraničen v prostoru a do okolního materiálu přestoupí menší zbytková energie, což vede ke zmenšení teplem ovlivněné oblasti (HAZ - *The*

heat-affected zone). Ablací práh je v případě kratších pulzů redukován a ostře ohraničen. Ovšem i u těchto krátkých impulzů zbývá v materiálu přebytek energie, který může stále tepelně působit v okolí kráteru i po ukončení působení laserového pulzu. Efekt krátkých pulzů (fs - femtosekundové, ps - pikosekundové) je nejvíce patrný při ablaci kovových materiálů, které jsou vzhledem k jejich vysoké tepelné vodivosti a nízké teplotě tání lehce tavitelné a vykazují rozsáhlé HAZ. Reakce materiálu na proces ablace obvykle zahrnuje kombinaci termálně aktivovaných procesů, které mohou vést ke kumulativním změnám morfologie povrchové struktury materiálu a i ke změnám v jejím chemickém složení. Je žádoucí, aby většina energie laserového pulzu byla převedena do materiálu před tím, než je dosaženo tepelné rovnováhy. V případě využití femtosekundových laserů je výhodou rychlá expanze jimi indukovaného plazmatu, jenž je až o řád rychlejší než u nanosekundových pulzů, u kterých dochází k přehřívání absorbovaným laserovým paprskem. Výhodou je i zanedbatelné spektrální pozadí, díky čemuž je eliminována nutnost využití detektorů s časovým rozlišením. (Asgill; et al., 2010)

Vliv geometrie laserového paprsku

Na průběh ablace a na množství ablatovaného materiálu má nezanedbatelný vliv i geometrie laserového paprsku. Při využití paprsku s Gaussovským profilem dochází, v porovnání s cylindrickým profilem, ke zlepšení výsledného SBR (*signal to background ratio* - poměr analytického signálu k pozadí). (Yip; Cheung, 2009) Gaussovský profil se uplatňuje u Nd:YAG laserů, kdy je paprsek systémem čoček a dalších optických členů fokusován do malého prostoru (v řádu desítek až stovek μm). Tímto „tvarováním“ pomocí optických elementů ovšem dochází ke ztrátám intenzity záření. (Mercier; et al., 2010)

Paprsek s cylindrickým profilem (tzv. *flat top*) má v ideálním případě konstantní intenzitu od středu až po okraj a profil se na rozdíl od Gaussovského svazku během šíření světla prostorem nemění. Při využití cylindrického paprsku je vytvořen analytický bod se stěnami kolmými na dno kráteru. Je ovšem problematické tento profil získat a to především z důvodu difrakce paprsku, která závisí na vlnové délce záření a průměru laserového svazku. (Mercier; et al., 2010; Yip; Cheung, 2009)

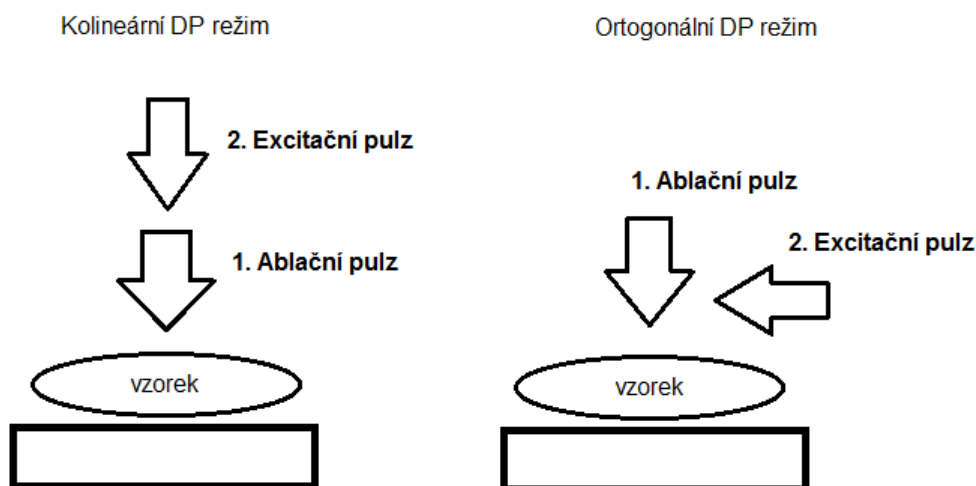
Vliv pracovního režimu a experimentálního uspořádání

LIBS spektrometr může pracovat ve dvou režimech - v jednopulzním (SP) či dvoupulzním (DP). Při využití SP režimu dochází k ablaci vzorku a iniciaci vzniku plazmatu pouze jedním pulzem. Citlivost měření ovšem není vysoká a analytický signál

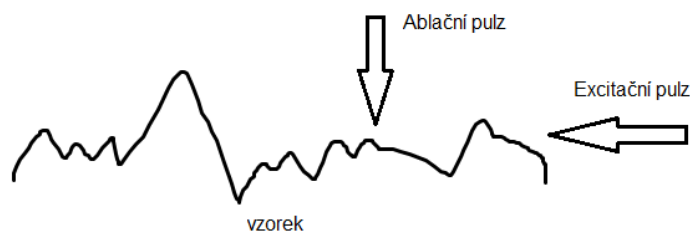
je méně stabilní. V případě využití DP režimu jsou produkovány dva laserové pulzy, s určitou časovou prodlevou (tzv. *interpulse delay*), řádově v jednotkách mikrosekund. V tomto případě první pulz vytváří plazma a druhý pulz vzniklé plazma opětovně ohřívá. V plazmatu dochází po absorpci druhého pulzu k přehřátí a hlubší atomizaci a ionizaci, snižuje se vliv matrice a zvyšuje se citlivost měření. DP režim umožňuje dosáhnout lepší reprodukovatelnosti, většího objemu vznikajícího plazmatu a jeho stabilizaci. Zvyšuje intenzita analytického signálu a dochází ke snížení spektrálního pozadí. (Russo; Mao; Mao, 2002; Winefordner; et al., 2004)

Způsob přivádění druhého paprsku je závislý na experimentálním uspořádání LIBS spektrometru - druhý pulz může být přiváděn rovnoběžně s prvním pulzem (kolineární uspořádání), nebo kolmo na dráhu prvního pulzu (ortogonální uspořádání). Schéma kolineárního a ortogonálního uspořádání v DP režimu LIBS je uvedeno na Obr. 3a a 3b.

Kolineární paprsky mohou být emitovány jedním či dvěma pulzními lasery. Využití tohoto uspořádání není závislé na povrchové struktuře analyzovaného vzorku ani jeho skupenství. Využitelnost zařízení s ortogonálním uspořádáním může být naopak limitována vlastnostmi analyzovaného vzorku. Tím, že je excitační pulz přiváděn kolmo na předchozí pulz a tedy rovnoběžně s povrchem vzorku, je nutné, aby byl povrch vzorku hladký. Interakce excitačního paprsku s drobnými nerovnostmi na povrchu (Obr. 4), např. při analýze práškových vzorků nanesených na pásce, může zapříčinit jeho oslabení a tedy i nižší intenzity analytického signálu, a to z důvodu nedostatečně iniciovaného plazmatu, popřípadě nemusí vůbec dojít k jeho zažehnutí. Může tedy vyvstat nutnost opakování analýzy a tím dochází k časovým i materiálním ztrátám. (Babushok; et al., 2006)



Obrázek 3 - Schéma kolineárního (3a) a ortogonálního (3b) uspořádání



Obrázek 4 - Schéma interakce excitačního pulzu s povrchem vzorku

Vliv průměru analytického spotu

Jak již bylo zmíněno, při interakci laserového paprsku se vzorkem dochází ke vzniku kráteru, ze kterého je vlivem energie materiál vypuzen. Průměr tohoto kráteru je variabilní a je možné ho ovlivnit nastavením kolimátoru. Nastavení tohoto parametru je nutné přizpůsobit druhu analyzovaného materiálu a jeho formě. Při analýze homogenních vzorků, jako jsou slitiny kovů, plasty či skla, je možné využívat malé průměry spotu - paprsek fokusovat do malého prostoru (řádově v desítkách μm). Z důvodu homogenity vzorku není třeba pokrývat větší plochu vzorku, energie není rozptýlena a paprsek laseru ablatuje materiál do hloubky. Naopak u sypkých vzorků, nehomogenizovaných např. rostlinných materiálů, je preferován větší průměr spotu - do plazmatu je přenesen vzorek z větší plochy, tím by měla být zvýšena reprodukovatelnost měření. V případě analýzy práškových vzorků nanesených na pásce, či na jiném nosiči je také vhodnější volit větší průměr spotu, aby se zabránilo průrazu nosiče a tedy i jeho ablatování, protože pokud je paprsek fokusován na menší plochu, dochází ke zvýšení intenzity dopadajícího paprsku. (Kratochvíl, 2010) Přestože je laserový paprsek přesně fokusován do místa analýzy, v případě opakované interakce s jedním místem může docházet k rozšiřování reakčního místa a k odnosu materiálu vzorku do okolí vzniklého kráteru.

Vliv pracovní atmosféry

V průběhu analýzy hraje značnou roli i složení atmosféry v ablační komoře. Pro nezanedbatelnou část analyzovaných prvků je však dostačující provádět analýzu pouze za přítupu vzduchu a za atmosférického tlaku, nikoli ve speciální inertní atmosféře. Prvky, jejichž analýzu není možné provést v těchto podmínkách, jsou obvykle analyzovány v inertní atmosféře, nejčastěji se jedná o heliovou a argonovou atmosféru, popřípadě je možné ablační komoru evakuovat. Snížením tlaku se eliminuje vliv samoabsorpce a zvyšuje

se pravděpodobnost sledování dalších analytických čar. (Unnikrishnan; et al., 2012) Vliv heliové a argonové atmosféry byl popsán v několika publikacích (Dong; et al., 2012; Effenberger; Scott, 2011; Sarkar; et al., 2014; Suyanto, 2014; Suyanto; et al., 2012), při využití těchto inertních plynů dochází ke zvýšení poměru intenzity analytického signálu k výšce spektrálního pozadí. Důležitý je samozřejmě i tlak použitého inertního plynu, který ovlivňuje nejen množství ablatovaného materiálu, ale i počet kolizí iontů v plazmatu. Zvýšený počet těchto nárazů vede ke snížení životnosti plazmatu. (Effenberger; Scott, 2011) Průtok inertního plynu je však nutné regulovat, v případě příliš vysokého průtoku by mohlo docházet k unášení materiálu vzorku a tím samozřejmě i k ovlivnění výsledků analýzy.

Vliv vlastností analyzovaného vzorku

Fyzikální a chemické vlastnosti vzorku značně ovlivňují vlastnosti vznikajícího plazmatu. Souhrnně je možné tento vliv označit jako matriční efekt. Vliv vlastností vzorku na analýzu může značně eliminovat vhodně zvolená energie laseru a další variabilní parametry měření (např. průměr fotony exponované oblasti - analytického bodu, vlnová délka). V případě, že se nepodaří matriční efekt potlačit vhodně zvolenými podmínkami měření, je nutné pro kalibraci přístroje využít kalibrační standardy se stejnou či podobnou maticí jako mají analyzované vzorky. Mezi vlastnosti analyzovaného vzorku, které mají značný vliv na průběh LIBS analýzy a ovlivňují analytický signál, patří např. hustota, porozita, termální vlastnosti vzorku (např. tepelná vodivost, bod tání), granulometrie či optické vlastnosti (např. spektrální propustnost, odrazivost). (Kratochvíl, 2010) V případě analýzy tenkých vrstev, jako jsou povrchové úpravy materiálů, tenké filmy na nosičích atd., se kromě výše jmenovaných vlastností vzorků projevuje i tloušťka analyzované vrstvy. Při analýze tenkých vrstev má majoritní vliv na výsledek analýzy zvolená energie laserového paprsku a průměr spotu - musí být optimalizovány a zvoleny citlivě tak, aby nedocházelo k proniknutí laserového paprsku pod analyzovanou vrstvu a vznikající plazma nebylo naředěno materiálem pod analyzovanou vrstvou. (Allmen; Blatter, 2013) Problematika analýzy tenkých vrstev bude detailně diskutována v další části práce.

Reprodukovatelnost přenosu vzorku do plazmatu

Reprodukovatelnost LIBS analýzy je ovlivněna několika faktory. Významný vliv má především kolísání výkonu laseru, dále pak faktory ovlivňující formování mikroplazmatu, jako je teplota plazmatu a jeho stabilita v čase. Reprodukovatelnost je také ovlivněna úhlem dopadu laserového paprsku a výslednou pozicí zařízení použitého pro snímání signálu. Vliv

má také počet analytických bodů použitých při analýze, experimentální uspořádání LIBS spektrometru, či využití SP nebo DP režimu. Dalším významným parametrem je složení a skupenství vzorku - jinak bude vznikat plazma pro kapalný, jinak pro plynný a jinak pro pevný vzorek. Reprodukovatelný průběh tvorby plazmatu je značně ovlivněn i hustotou analyzovaného vzorku, homogenitou, povrchovou úpravou a dalšími vlastnostmi vzorku.

1.2 Obecné principy analýzy tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie

1.2.1 Definice tenké vrstvy

Definovat tloušťku vrstvy, která může být označena jako tenká vrstva, není jednoduché. V oblasti našeho zájmu je jako tenká vrstva definována vrstva o tloušťce v řádu mikro- či nanometrů. Pod termínem „analýza tenké vrstvy“ je možné představit si široké spektrum analýz - může se jednat o analýzu pevné povrchové vrstvy ve formě nátěru, tenkého filmu, povlaku, ale i práškového vzorku naneseného na nosiči nebo kapaliny nanesené na nasákavém či nenasákavém podkladu. Převedení materiálu vzorku do formy tenké vrstvy může mít pro analýzu několik pozitivních přínosů - může dojít ke zlepšení hodnot RSD (relativní směrodatná odchylka), či LOD (limita detekce) a především k úspoře množství vzorku potřebného k analýze. V případě LIBS analýzy práškových vzorků se hmotnost vzorku potřebná k analýze pohybuje okolo několika málo miligramů, v případě kapalin se jedná o objem v řádu jednotek až desítek mikrolitrů. (Ardakani; Tavassoli, 2013; Lazic; et al., 2017; Lepore; et al., 2017; Pace; et al., 2006; Xiu; et al., 2013)

1.2.2 Analýza tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie

LIBS spektrometrie byla v prvopočátcích svého využívání metodou sloužící především pro kvalitativní analýzu. Toto uplatnění si udržela dodnes, ale našla své místo mimo jiné i v oblasti analýzy tenkých vrstev. V současné době je patrná snaha vyvíjet analytické metody využitelné pro analýzu povrchových vrstev pevných vzorků či pracovat s malými objemy kapalných vzorků. V kvantitativní analýze je obecně cílem dosáhnout co nejlepších detekčních limitů, větší přesnosti a správnosti měření a extrahovat z analytického signálu, co nejvíce informací potřebných pro podrobnou charakterizaci analyzovaného materiálu. Převedení vzorku do formy tenké vrstvy může často naplnění těchto cílů dopomoci. (Diego-Vallejo; et al., 2011; Hahn; Omenetto, 2012; Khater, 2013; Pinon; Mateo; Nicolas, 2013; Vadillo; Laserna, 2004) Mapování povrchového složení vzorků, což

je jedna z nejčastějších aplikací analýzy tenkých vrstev pomocí LIBS, vyžaduje sdružování spektrálních informací s prostorovými souřadnicemi, což je velmi důležité např. i při analýze materiálových rozhraní. Pro tyto analytické účely je třeba doplnit popis metodiky o informace o povrchové citlivosti a hloubkovém a laterálním rozlišení použité techniky. (Vadillo; Laserna, 2004)

Povrchová citlivost

Povrchová citlivost metody udává, z jak tenké povrchové vrstvy je možné pomocí této metody získat analyticky využitelný signál. U povrchově citlivých metod (typicky metody elektronové spektrometrie) se tato hodnota pohybuje až v řádu nanometrů. Povrchově citlivá technika vykazuje větší citlivost vůči atomům v blízkosti povrchu vzorku, než v jeho objemovém materiálu. Hloubka vzorkování u LIBS je závislá na hloubce kráteru po interakci laserového pulzu s povrchem vzorku. Obecně je povrchová citlivost značně závislá na fluktuaci intenzity laseru na povrchu vzorku, což je kombinovaný účinek energie pulzu a fokálních podmínek. Zvýšením laserové energie na pulz je možné dosáhnout hlubších kráterů, což ovšem neznamená, že automaticky dojde k snížení povrchové citlivosti experimentu, neboť se může zvýšit účinnost buzení analytických čar. (Vadillo; Laserna, 2004)

Dalším důležitým parametrem, který ovlivňuje povrchovou citlivost, je úhel dopadu laserového paprsku na povrch vzorku. Paprsek dopadá na vzorek pod úhlem 0° a zvýšení úhlu dopadu zvyšuje hloubku vzorkování. Vyšší povrchové citlivosti je u LIBS dosaženo na úkor laterálního rozlišení a detekční citlivosti a naopak zvýšením energie laseru, spojené se zvýšením hloubky pozorování je snížena povrchová citlivost. Stínící efekt plazmatu a účinnost disperzního a detekčního systému určují minimální energii laserového pulzu potřebnou k získání detekovatelného signálu při zachování minimální hloubky kráteru. (Vadillo; Laserna, 2004)

Hloubkové rozlišení

Tento parametr je často využíván jako ekvivalent k hloubce vzorkování a definován jako minimální vzdálenost (typicky jednotky nm) dvou analytických bodů ve vertikální rovině, z nichž je získán vzájemně neovlivnitelný analytický signál. Přesněji řečeno, hloubkové rozlišení je parametr, pomocí kterého je možné určit, do jaké míry je možné definovat náhlé rozhraní mezi dvěma prostředím a je tedy předmětem zájmu v hloubkovém profilování strukturovaných předmětů. Metody hloubkového profilování obecně poskytují obraz o rozhraní vrstev.

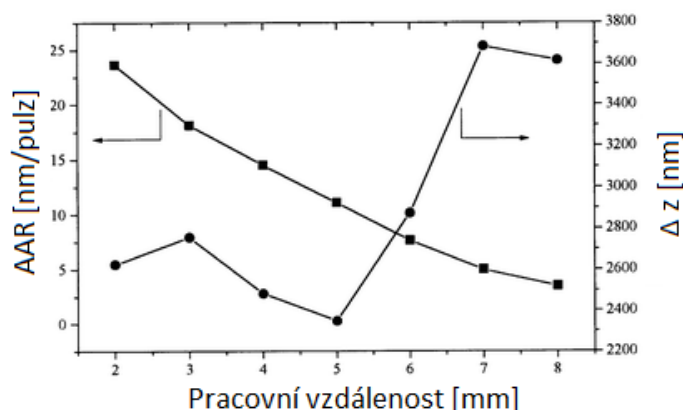
Opakovanou interakcí laserového paprsku se stejným místem ve vzorku se prohlubuje vznikající kráter a získáváme závislost intenzity signálu analytu na hloubce vzorkování. Pro výpočet hloubkového rozlišení je nutné znát průměrnou rychlost ablace (AAR - *Average Ablation Rate*, nm.pulz⁻¹), kterou lze stanovit na základě známého počtu laserových pulzů nutných k dosažení rozhraní ($p_{0,5}$) pod vrstvou o určité tloušťce (d), jejíž profil je zkoumán (12).

$$AAR = d(p_{0,5})^{-1} \quad (12)$$

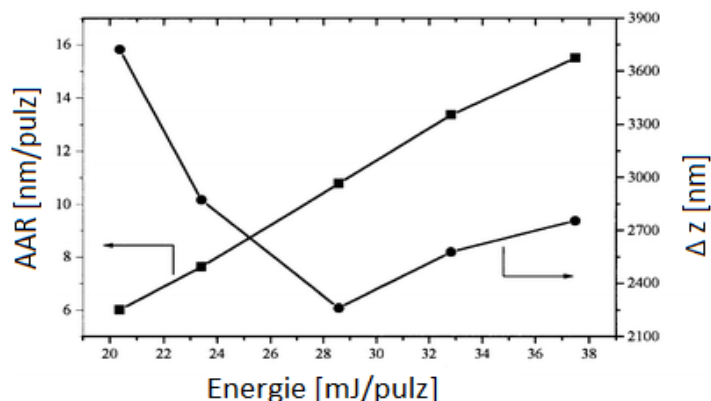
Hloubkové rozlišení, Δz [nm], je následně vypočítáno pomocí vztahu (13):

$$\Delta z = \Delta p \cdot AAR = \Delta p d(p_{0,5})^{-1} \quad (13)$$

Kde Δp je počet laserových pulzů v rozmezí 84 a 16% signálu. Pokusy s vrstvenými materiály ukázaly, že nejlepšího hloubkového rozlišení (nejnižší Δz) je dosaženo za podmínek, při kterých je dosaženo střední míry rychlosti ablace. Např. v práci (Mateo; Vadillo; Laserna, 2001) byl popsán vliv pracovní vzdálenosti a energie laserového pulzu na vypočítanou hodnotu pro AAR a Δz . Analyzovány byly vzorky mosazné folie s dvěma vrstvami (kyselá a bazická) Cu a vrstvou Ni o tloušťce 3,5 μm . Grafické znázornění změny AAR a Δz v závislosti na pracovní vzdálenosti a na energii laserového pulzu, jsou uvedeny na Obr. 5 (energie 23,4 mJ/pulz) a 6 (pracovní vzdálenost +6 mm).



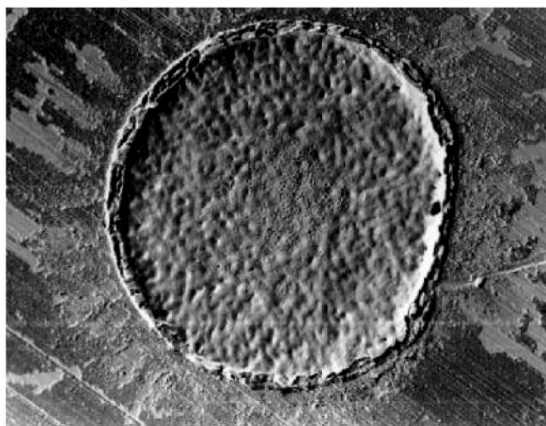
Obrázek 5 - Změna AAR a Δz v závislosti na pracovní vzdálenosti



Obrázek 6 - Změna AAR a Δz v závislosti na energii laserového pulzu

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím přesné vymezení hloubkového profilu je stabilita laserového paprsku, jenž prochází analyzovanou oblastí, protože definuje morfologii vytvořeného kráteru. V případě laserového paprsku s Gaussovským profilem bude nejvíce světelného paprsku absorbováno, a tedy nejvíce materiálu bude ablatováno uprostřed kráteru (ve srovnání s okraji). Za těchto okolností bude snímané spektrum složeno ze signálů z jednotlivých vrstev, kterými paprsek projde (v případě, že je hloubka kráteru větší než tloušťka analyzované vrstvy).

Existuje několik opatření, pomocí kterých je možné tento jev eliminovat - využití laseru s cylindrickým profilem paprsku, prostorovým filtrováním Gaussovského paprsku, které povede k redukci příspěvku okrajů nebo využitím specifických homogenizátorů paprsku. V případě že povrch vzorku není rovný, není možné erodovat dobře definovaný kráter a získat přesně definovanou hloubku kráteru. Navíc se u většiny materiálů, především při opakované ablaci, vytvářejí drobné povrchové deformace (Obr. 7). Tyto deformace často nesouvisí s profilem paprsku a projevují se i v případě, kdy je paprsek stabilní a jeho profil plochý. Deformace okolí kráteru je často způsobena rozptylem světla při nedokonalostech povrchu materiálu nebo vlivem prachových částic. Mechanismus vzniku deformací zahrnuje materiálové tavení, deformaci a po ozáření opětovné tuhnutí, čímž se deformace stává trvalou. Tvar a rozsah povrchové deformace závisí na množství absorbované energie i na vlastnostech analyzovaného materiálu. Vývoj mikronerovností na dně kráterů může snížit hloubkové rozlišení. (Vadillo; Laserna, 2004)



Obrázek 7 - Kráter vytvořený po 150 laserových pulzech na vzorku z nerezavějící oceli

Hloubka vytvořeného kráteru a jeho tvar značně závisí na podmínkách analýzy. Mezi hlavní vlivné parametry patří, jak již bylo zmíněno, především tvar použitého laserového paprsku, dále energie laserového zdroje a průměr analytického spotu. Stejně důležitý vliv mají i vlastnosti vzorku, mezi ně patří fyzikální i chemické vlastnosti vzorku jako jsou hustota, homogenita, odrazivost či tepelná vodivost. (Abdelhamid; et al., 2009; Ctvrtnickova; et al., 2009; Průcha, 2016; Vadillo; Laserna, 2004)

Laterální rozlišení

Možnost přiřadit k získané spektrální informaci prostorové souřadnice je značnou výhodou LIBS spektrometrie. Laterální rozlišení je definováno jako minimální vzdálenost dvou analytických bodů [μm] v horizontální rovině, z nichž je získán vzájemně neovlivněný analytický signál. Hlavní parametr, který ovlivňuje laterální rozlišení, je fokusace laserového paprsku do malého, přesně definovaného bodu. Minimální průměr je dán vlnovou délkou laserového zdroje, divergencí paprsku a ohniskovou vzdáleností optického systému. Pokud je možné laserový paprsek zaostřit s vysokou přesností, lze docílit vysokého laterálního rozlišení. V případě ideálního laserového paprsku zaostřeného přes čočku bez aberací je průměr paprsku (d) s kruhovým průřezem dán vztahem (14):

$$d = 2.44 \frac{\lambda f}{D} \quad (14)$$

kde λ je vlnová délka laseru [nm], f je ohnisková vzdálenost čočky [mm] a D je průměr kolimovaného laserového paprsku [mm]. V praxi jsou aberace čočky (odchýlení světelného paprsku) a tepelné účinky laseru považovány za příčinu několikanásobného zvýšení průměru ablatovaného kráteru. Při reálném měření se jedná o průměr pětikrát až desetkrát větší než je teoreticky předpokládaný. (Vadillo; Laserna, 2004)

1.2.3 Nejběžnější metody využívané pro hloubkové profilování vzorků

Jednou z nejčastěji využívaných metod pro hloubkové profilování je laserová ablace ve spojení s hmotnostní spektrometrií s buzením v indukčně vázaném plazmatu (LA ICP MS). Spojením laserové ablace s ICP MS je možné přímé vzorkování pevných materiálů do plazmatu a následná detekce iontů na základě poměru jejich hmotnosti a náboje. Vysoká citlivost ICP MS umožňuje stanovit většinu prvků ve stopových koncentracích ($< 1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Nevýhodou této techniky je především prvkově-selektivní nereprodukovatelná ablace a zdlouhavá optimalizace analytických podmínek. Hloubkové rozlišení této metody se pohybuje okolo $1 \mu\text{m}$, maximální hloubka vzorkování je $20 \mu\text{m}$. LA ICP MS je vhodná metoda pro analýzu prvků s $Z > 3$. (Koch; Gunther, 2011; Ubide; et al., 2015)

Další hojně využívanou metodou je optická spektrometrie s buzením v doutnavém výboji (GD OES). Analyzovaná část vzorku musí být hladká a rovná ploška o velikosti alespoň několik mm^2 . Vzorek je umístěn do excitačního zdroje, je vodivě spojen s katodou a odděluje výbojku od okolní atmosféry. Výbojka se vyčerpá a napustí se pracovním plynem (Ar). Vlivem vysokého stejnosměrného napětí vznikne uvnitř výbojky v dutině anody doutnavý výboj. Těžké ionty argonu z plazmatu doutnavého výboje jsou urychlovány v elektrickém poli směrem ke vzorku, na jehož povrch dopadají velkou rychlostí a vyřazují atomy vázané v krystalové mřížce. Tyto atomy jsou vedeny do plazmatu, kde jsou excitovány a při deexcitaci je snímáno charakteristické záření. Výhodou je vysoká citlivost metody i přes možnou kontaminaci vzorku a netermické buzení (spektrální čáry jsou úzké). Nevýhodou je nutnost úpravy povrchu vzorku před analýzou a časová náročnost. Limity detekce se pohybují řádově v jednotkách $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Je možné dosáhnout hloubkového rozlišení v rozmezí $0,1\text{--}1 \text{ nm}$. Metoda není limitována prvkovým složením analyzovaných vzorků. Maximální hloubka vzorkování $500 \mu\text{m}$. (Lobo; Fernandez; Pereiro, 2017; Payling; Aeberhard; Delfosse, 2001; Shimizu; et al., 1999)

Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS) je také metodou často využívanou pro hloubkové profilování. Tato metoda pracuje na principu odprašování povrchu vzorku pomocí proudu iontů. Většina odprašovaných částic je v neutrálním stavu, pouze asi 1% je emitováno jako ionty. Tyto sekundární ionty jsou následně analyzovány v hmotnostním spektrometru. Hlavními přednostmi metody jsou vysoká citlivost, schopnost detekce všech prvků, velké plošné rozlišení, možnost izotopické analýzy a hloubkových koncentračních profilů. Nevýhodou může být např. její destruktivnost a obtížnost kvantifikace dat. Laterální rozlišení metody je v zobrazovacím režimu typicky $< 1 \mu\text{m}$, při hloubkovém

profilování 30 μm , povrchová citlivost metody je 2 nm. Metoda není limitována prvkovým složením analyzovaných vzorků. Limity detekce se pohybují v řádu $\mu\text{g/kg}$. (Kudriavtsev; et al., 2011; Pinon; Mateo; Nicolas, 2013; Shard; et al., 2007)

Spektrometrie Rutherfordova zpětného rozptylu (RBS) je nedestruktivní technika, která nevyžaduje pro kvantitativní analýzu žádné standardy. Metoda je založena na registraci energetických spekter pružně rozptýlených částic. Má vysokou citlivost pro těžké prvky. Nevýhodou je obtížná detekce lehkých prvků na substrátech s vyšší průměrnou molekulovou hmotností. Pro analýzu je vyžadován hladký povrch. Metoda neposkytuje informace o chemických vazbách a dochází k poklesu rozlišení ve zvyšujících se hloubkách. Limity detekce této metody se obvykle pohybují v řádu $\mu\text{g/kg}$. Maximální hloubka vzorkování jsou jednotky nanometrů, hloubkové rozlišení až 5 nm. Metoda je vhodná pro analýzu téměř celého spektra prvků. (Brillson, 2012; Kimura; et al., 2008)

Při hloubkovém profilování nachází uplatnění i metoda MEIS (Spektroskopie rozptylu středně energetických iontů), která je obdobou metody RBS. Metoda MEIS je vysoce povrchově selektivní a dosahuje velkého hloubkového rozlišení (jednotlivé atomární mono vrstvy). Limity detekce se pohybují v řádu $\mu\text{g/kg}$, hloubkové rozlišení metody je 0,1 - 1 nm. Metoda není limitována prvkovým složením analyzovaných vzorků. (Kim; et al., 2003; Zalm; et al., 2016; Zhu; et al., 2010)

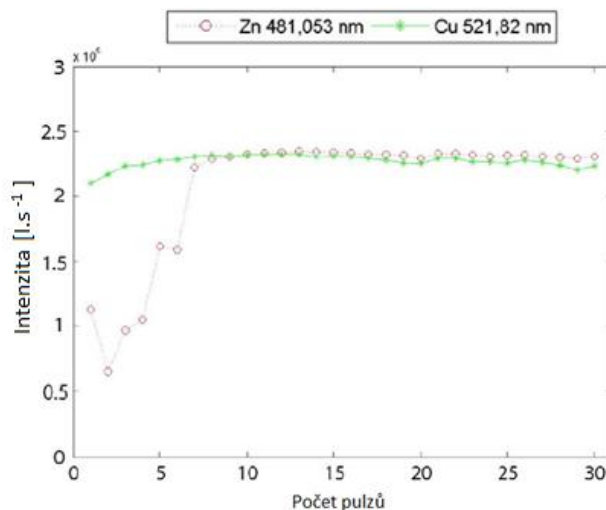
Energiově-disperzní rentgenfluorescenční spektroskopie (EDX či EDS) je další technikou často využívanou nejen pro povrchovou, ale i hloubkovou analýzu, často je kombinována s elektronovou mikroskopií. Aby bylo možné získat údaje o kvantitativním složení vzorku, je nutné využívat standardy, jejichž složení je podobné složení analyzovaného vzorku. Výhodou je možnost skenování malé plochy vzorku ($< 1\mu\text{m}$), povrchová citlivost se pohybuje okolo 1 μm . Limity detekce se pohybují řádově v desítkách mg/kg . Problematická může být analýza lehkých prvků, obecně je technika využívána pro analýzu prvků s $Z > 10$. (Pinon; Mateo; Nicolas, 2013) Možné je i spojení EDS s FIB (*Focused Ion Beam* - svazek fokusovaných iontů), které umožňuje 3D chemickou analýzu vzorků. (Lövy, 2014; Motz; Schoberl; Pippan, 2005)

K výše uvedeným metodám může být LIBS spektrometrie zajímavou alternativou, především proto, že analýza není limitována relativní atomovou hmotností stanovovaných prvků, aparatura je jednoduchá, pořizovací náklady a náklady na provoz jsou oproti výše zmíněným technikám minimální. Analýza je rychlá a výsledky jsou dostupné v podstatě on-line, měření může probíhat za atmosférického tlaku a úprava vzorku k analýze je minimální.

1.2.4 Hloubkové profilování pomocí LIBS spektrometrie

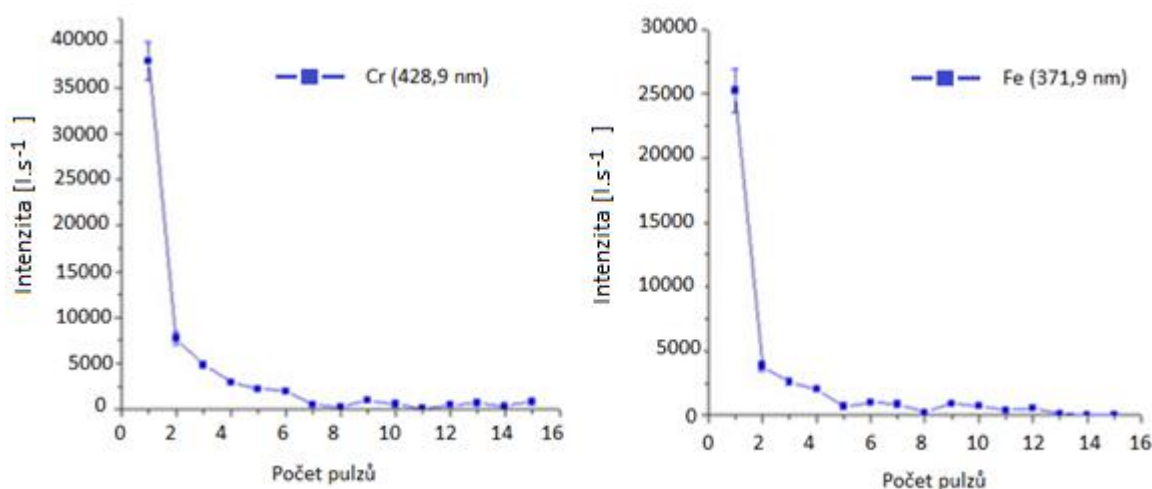
Hloubková analýza materiálu je jednou z možných aplikací LIBS spektrometrie. Tento způsob analýzy spočívá v interakci laserového paprsku se stále stejným místem analyzovaného vzorku (viz Hloubkové rozlišení). Každý laserový pulz reaguje se vzorkem ve stejném místě, ablatuje stále další a další vrstvy materiálu a vzniká kráter, který se s každou další interakcí prohlubuje. Určení přesného hloubkového profilu je velmi důležité v mnoha technologických odvětvích, např. při galvanizaci či jiné povrchové úpravě materiálů. Reprodukovatelnost měření je závislá na několika faktorech. Jedním z nich je fokusace laserového paprsku nejen na povrch vzorku, ale i do stále se prohlubujícího se kráteru. K rozostření fokusovaného paprsku přispívá mnoho činitelů, může to být nedokonalá optika, nerovnosti na povrchu či fluktuace laserového paprsku. To vše může způsobovat vznik kráteru o větším průměru než je původně nastavená hodnota v ohniskové rovině. Hloubkové profilování má i svá omezení, která vyplývají především z charakteru analyzovaného vzorku a vlastností laserového paprsku. (Vadillo; Laserna, 2004)

Hloubkové profilování pomocí LIBS spektrometrie bylo popsáno ve značném počtu publikací, nejčastěji se jedná o hloubkové profilování kovových vzorků, např. v práci (Cerrato; et al., 2017) je zájmem autorů jev zvaný demetalizace, což je důsledek vlivu koroze v binárních slitinách, kdy dochází k obohacení jednoho ze dvou hlavních prvků slitiny druhým prvkem. LIBS spektrometrie byla využita pro charakterizaci demetalizovaných filmů na povrchu slitin mědi a zinku. Pro experiment byly některé oblasti slitiny vystaveny působení chemikálií, za účelem selektivního vyluhování Zn. Spektrum získané v módu hloubkového profilování poskytuje informace o erodovaných vrstvách materiálu a výběr správných spektrálních čar umožňuje určení distribuce různých prvků jako funkci hloubky. Hloubkový profil povrchové vrstvy byl získán pomocí 30 laserových pulzů. Při prvních pulzech došlo k poklesu intenzity sledované čáry Zn v důsledku procesu „odzinkování“, zatímco signál Cu zůstává konstantní (Obr. 8). Od osmého pulzu byly snímány intenzity obou prvků velmi podobné, což znamená, že korodovaná vrstva byla z povrchu plně odstraněna. Tloušťka povrchové demetalizované vrstvy byla, na základě znalosti dosažené hloubky po jednom laserovém pulzu, stanovena v rozmezí 75 až 90 μm .



Obrázek 8 - Hloubkový profil pro Zn I (481,05 nm) a Cu I (521,82 nm)

Pomocí LIBS bylo provedeno hloubkové profilování nečistot usazených na povrchu grafitové clony tokamaku (Maurya; et al., 2016). Do jednoho bodu bylo vždy vedeno 15 laserových nástřelů a využit byl SP režim LIBS spektrometru. Na Obr. 9 jsou uvedeny závislosti naměřených intenzit sledovaných kontaminantů - Cr (428,9 nm) a Fe (371,9 nm) na počtu laserových pulzů. Z grafů je patrné, že intenzita těchto znečišťujících prvků s počtem pulzů klesá a po 7. pulzu se blíží k nule. Z toho lze usuzovat, že materiál, ve kterém se nečistoty usazovaly, je zhruba po 7. až 8. pulzu odstraněn a tedy nečistoty jsou obsaženy jen v tenké povrchové vrstvě. Tloušťka analyzované vrstvy nebyla definována.



Obrázek 9 - Intenzita analytického signálu v závislosti na počtu laserových odpálů

V práci (Abdelhamid; et al., 2010) byla LIBS spektrometrie využita pro hloubkové profilování tenkých vrstev na měděném substrátu. Optimalizace proběhla na vzorku měděného substrátu s vrstvou Au a Ag, které byly deponovány pomocí plazmového naprašování. Tloušťka vrstvy byla stanovena pomocí EDS od 1 do 2 μm . Následně byly analyzovány archeologické vzorky - rtuťovým amalgamem a zlatým filmem potažené ozdobné měděné objekty. Tloušťka těchto povrchových vrstev byla pomocí LIBS spektrometrie stanovena 1 μm , což bylo potvrzeno energiově-disperzní rentgen fluorescenční spektrometrií (EDS).

Vliv tvaru laserového paprsku na analýzu pomocí LIBS spektrometru je popsán v práci (Zhang; et al., 2013) zaměřené na hloubkové profilování Al vrstvy nanesené na křemíkových nosičích a stanovení hloubky difúze Al. Tenké vrstvy Al o tloušťce okolo 800 nm byly nanесeny na křemíkový podklad pomocí plazmového naprašování a následně byla část vzorků vyžihána při teplotě 300 a 610 $^{\circ}\text{C}$ a část byla ponechána bez žihání. Krátery po interakci laserového paprsku byly analyzovány pomocí SEM. Po 150 laserových nástřelech byla v centru vzniklého kráteru zjištěna hloubka 30 μm . Hloubka difúze byla stanovena pomocí 150 laserových po sobě jdoucích pulzů, kdy bylo zjištěno, že intenzita spektrálních čar Al, klesá až na úroveň spektrálního pozadí. V prvních třech pulzech bylo na základě sledování poměru čar Al/Si zjištěno, že ablace probíhá pouze ve vrstvě Al. Intenzita Si čáry prudce vzrůstá po pátém laserovém pulzu, v hloubce okolo 1 μm . Změnu v koncentraci Al lze pozorovat i v hlubších polohách a spektrální čára Al mizí až v hloubce 14 μm . Získaná spektra a naměřené intenzity jsou nerovnoměrné a závislé na hloubce pozorování, což se dá vysvětlit použitím laserového paprsku s Gaussovským profilem. Intenzity a spektra se lišily v závislosti na hloubce pozorování, kdy u hlubších poloh byl ovlivněn rozdílnou mírou ablace mezi středem kráteru a jeho okraji.

1.2.5 Nejběžnější metody pro mapování povrchu vzorku

Vzhledem k neustálému vývoji různých technologií, které mají za úkol zvyšovat spolehlivost, efektivitu a životnost materiálů, je třeba i vyvíjet či vylepšovat nástroje, jenž lze využít pro jejich analýzu. Tento rychlý materiálový vývoj zasahuje do všech průmyslových oblastí, nejvíce však do výroby polovodičů, do problematiky vícevrstevných konstrukčních materiálů, do nanotechnologií, do vývoje povlaků, které mohou snižovat vliv koroze, ale i do vývoje nových slitin. Za účelem hodnocení nových materiálů, pro pochopení jejich fyzikálních i chemických vlastností, ale i jako nástroj kontroly kvality výrobního procesu

je nutné vyvíjet nové a zdokonalovat konvenční analytické metody, které pomohou s určením složení nejen povrchové vrstvy, ale i materiálu vzorku.

Vlastnosti materiálu často závisí na prostorovém rozložení jednotlivých složek, a proto jsou žádány techniky, pomocí kterých je možné toto rozložení určit a jednotlivým složkám přiřadit prostorové souřadnice. Tzv. chemická nebo kompoziční mapa slouží k zobrazení prostorové distribuce jednotlivých chemických specií v heterogenním vzorku a zahrnuje přenos chemických informací do dvou i třídimenzionálního formátu. (Pinon; Mateo; Nicolas, 2013)

Existuje několik konvenčních metod, které jsou k tomuto typu analýz úspěšně využívány a LIBS spektrometrie k nim může být zajímavou alternativou. Mezi nejčastěji využívané analytické metody používané pro mapování povrchu vodivých vzorků se řadí Augerova elektronová spektroskopie (AES). AES využívá pro excitaci zaostřený elektronový paprsek. Po interakci s povrchem vzorku dochází ke generování Augerových elektronů. Získané energetické spektrum poskytuje informaci o složení povrchu vzorku. Jedná se o citlivou metodu zejména pro lehké prvky. AES má vynikající laterální rozlišení ($< 1 \mu\text{m}$) spolu s výbornou povrchovou citlivostí (2 nm). K omezením patří značná obtížnost analýzy nevodivých vzorků, není možné stanovit H a He. Limity detekce (LOD) se pohybují v rozsahu 0,1 - 1 molárních %. Použitý vakuový systém ovlivňuje velikost plochy vzorku, kterou je možné analyzovat. Hloubka vzorkování se pohybuje okolo 5 nm. (Pinon; Mateo; Nicolas, 2013)

Další často využívanou metodou je rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS). Je to technika široce využívaná v oblasti materiálové analýzy. Principem této metody je měření energetické distribuce elektronů emitovaných povrchem měřené pevné látky v důsledku fotoelektrického jevu. Energetická analýza elektronů poskytuje kvantitativní informace o analyzovaném vzorku, včetně empirického vzorce. XPS umožňuje analýzu široké škály vzorků, jak vodivých, tak izolátorů, s dobrou povrchovou citlivostí, ačkoli laterální rozlišení je nižší než u AES ($> 10 \mu\text{m}$). Povrchová citlivost je udávána obdobná jako u AES (2 nm). Nevýhodou metody je nutnost použití vysokého vakua, čímž je omezena i velikost analyzovaného vzorku. Limity detekce se pohybují v rozmezí 0,01 - 1 molárních %. Metoda není použitelná pro analýzu H a He. Hloubka vzorkování této metody je 8-10 nm.

Pro povrchové mapování pevných vzorků je možné využít i metodu LA ICP MS, jež je zmíněna v kapitole pojednávající o hloubkovém profilování. Laserová ablace ve spojení s ICP MS umožňuje přímé vzorkování pevných materiálů do plazmatu a následnou detekci iontů na základě poměru jejich hmotnosti a náboje. Limity detekce se pro většinu prvků

pohybují ve stopových koncentracích ($< 1\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Laterální rozlišení metody je uvedeno 120 μm . (Becker; Matusch; Wu, 2014)

Dalšími metodami využívanými pro mapování povrchu vzorků jsou energiově-disperzní rentgenová spektroskopie (EDX či EDS) a hmotnostní spektroskopie sekundárních iontů (SIMS). Obě metody jsou již popsány v kapitole 1.2.3.

1.2.6 Mapování povrchu pomocí LIBS spektrometrie

LIBS je technika, která oproti výše zmíněným metodám přináší několik významných výhod. Je to jednoduchá a robustní metoda, která umožňuje získat informace o elementárním složení různých typů vzorků. Analýzy jsou prováděny při laboratorní teplotě a trvají řádově několik sekund. Je tedy možná i on-line analýza a analýza těžko dostupných vzorků, protože je nutné zajistit pouze optický přístup ke vzorku. Analyzovány mohou být i nevodivé vzorky, technika není limitována velikostí vzorku ani nutností pracovat pod vakuem. Limity detekce a reprodukovatelnost zatím ovšem nejsou na takové úrovni jako u jiných metod (AES, XPS, SIMS). Robustnost techniky je ovšem využita i v kosmických programech, kde je LIBS spektrometrem osazena i mobilní laboratoř Curiosity. (Fabre; et al., 2011)

Právě díky těmto výhodám je LIBS spektrometrie popsána v řadě publikací jako vhodná metoda pro mapování povrchu vzorku. V publikaci (Kaiser; et al., 2009) autoři popisují využití LIBS spektrometru k semi-kvantitativnímu mapování akumulace Pb a Mg v listech slunečnice obecné. Analyzovány byly sazenice, které byly exponovány různým koncentracím stanovovaných prvků. Mapována byla oblast listů okolo centrální žíly. Vhodnou optimalizací experimentálních podmínek bylo dosaženo prostorového rozlišení až 200 μm . Na základě získané mapy intenzit je možné rozlišit oblasti s různou koncentrací sledovaných prvků, i jednotlivé oblasti listu, jako je centrální žíla a okolní plocha. Autoři se domnívají, že byla prokázána možnost nahrazení konvenčních metod laserovými technikami a to především v případech, kdy je potřeba rychlé, multielementární mapování velké plochy vzorku. LIBS poskytuje prakticky okamžitou odezvu a analytický signál lze hned přiřadit k přesnému místu analýzy, což např. u LA-ICP MS není možné - čas analýzy se prodlužuje díky transportu a difúzi vzorků. Jako problematické, vidí autoři nedostatek referenčních materiálů a vhodných kalibračních standardů pro rostlinné či biologické vzorky. V případě, že standardy dostupné jsou, neposkytují informaci o prostorovém rozložení prvků. Obdržené výsledky byly v dobré shodě s výsledky atomové absorpční spektrometrie (AAS).

Využití LIBS spektrometrie pro kvantitativní mapování nanočástic a stopových prvků v ledvinách myši bylo popsáno v publikaci (Motto-Ros; et al., 2013). Kalibrace LIBS spektrometru byla provedena pomocí roztoků s nanočásticemi Gd, připravených v koncentračním rozsahu 0,1 μM až 5 mM Gd. Vždy bylo aplikováno 5 μl roztoku na polyethylenový nosič, jenž byl po zaschnutí analyzován. Limita detekce byla vypočítána 30 mg Gd/kg. Následně byly analyzovány ledviny, které byly odebrány 24 hodin po aplikaci roztoku nanočástic na bázi Gd. Sledovány byly kovové prvky Gd, Si, Ca a Fe s výsledným laterálním rozlišením 100 μm . Kvantifikace Gd v tkáni byla provedena jak LIBS spektrometrií (0,46 mM Gd), tak i pomocí techniky ICP OES ($0,35 \pm 0,04$ mM Gd). Výsledky experimentu ukázaly, že LIBS přináší opravdu jednoduchý způsob jak studovat distribuci nanočástic Gd v biologických vzorcích a zvolená metoda je vhodný nástroj pro doplňkové sledování stopových prvků.

Mapování povrchu vzorku je nutné pro pochopení a kontrolu procesů, které mají vliv na výkon Li-iontových baterií (Hou; et al., 2015). fs-LIBS spektrometrie byla v této práci popsána jako nástroj pro 3D chemickou kvalitativní analýzu pevných elektrolytů využívaných v elektrochemických energetických zásobnících. Byly získány 2D a 3D modely popisující distribuci hlavních i stopových prvků v tuhém elektrolytu ($\text{Li}_7\text{La}_3\text{Zr}_2\text{O}_{12}$). Na základě výsledků, získaných pomocí standardních technik charakterizace vzorků (XPS, sXAS, XRD, EDS), lze porovnat rozdíly ve fyzikálních vlastnostech analyzovaných vzorků. Metoda dosahovala laterálního rozlišení 74 μm a hloubkového rozlišení 700 nm.

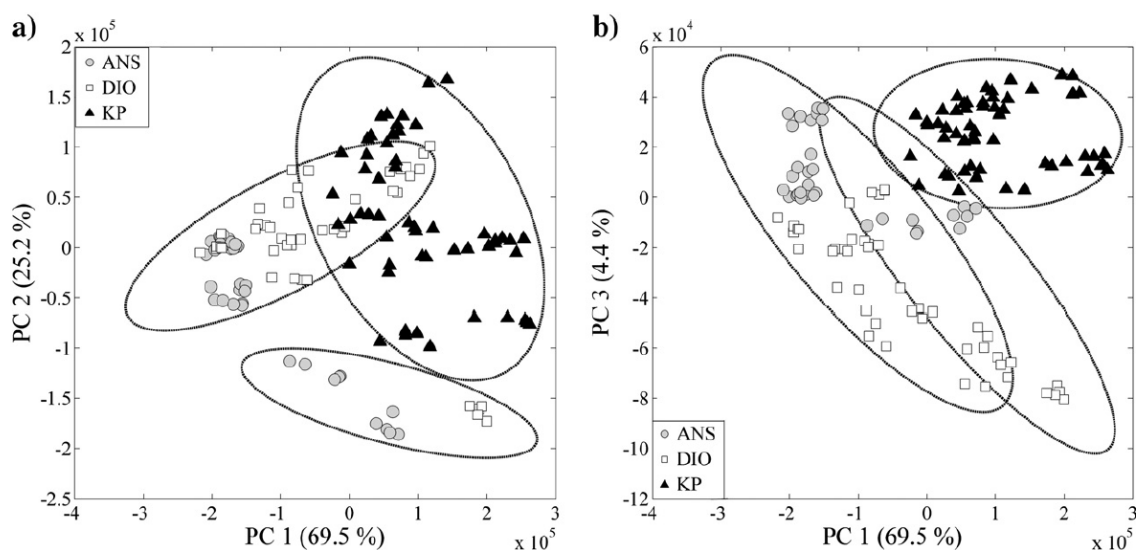
Z výše uvedeného vyplývá, že LIBS je metoda využitelná pro mapování povrchu značného množství vzorků, bez omezení jejich maticí a širokého rozsahu prvků. Publikacemi je doložené, že lze mapovat distribuci prvků v biologických a rostlinných materiálech, stejně tak dobře jako jeho využitelnost pro geologické průzkumy i kontrolu výrobních procesů rozmanitých zařízení.

1.3 Praktické aplikace LIBS spektrometrie při analýze tenkých vrstev

1.3.1 Kvalitativní analýza tenkých vrstev

Kvalitativní analýza je obecně proces, během kterého dochází k určení prvkového složení analyzovaného vzorku bez stanovení koncentrace jednotlivých prvků. Porovnáním změřeného spektra se spektry z analytické knihovny, která je zpravidla dostupná v softwaru LIBS, je možné na základě vlnové délky určit daný prvek. (Kratochvíl, 2010) Problematice kvalitativní analýzy se věnuje několik publikací, především v oblasti problematiky klasifikace vzorků. Na základě určení kvalitativního složení je možné vzorky řadit do skupin či různých podmnožin, které mohou být užitečné při další analýze, např. rozřazování vzorků k analýzám pomocí dalších analytických metod apod.

V práci (Porizka; et al., 2014) byl testován potenciál LIBS spektrometrie pro diskriminaci a analýzu geologických materiálů. Výzkum byl zaměřen na kvalitativní analýzu minerálních rud s využitím LIBS spekter. Vzorky k analýze byly připraveny namletím na jemný prášek, který byl následně nanesen na povrch oboustranné lepicí pásky ve formě tenké vrstvy. Kvantitativní analýza pomocí LIBS je silně ovlivněna maticí vzorku, pro správné určení koncentrace sledovaného prvku je ve většině případů nutné využít kalibrační standardy s podobnou, nebo nejlépe stejnou maticí, jaká se předpokládá u analyzovaného vzorku. V případě, že se sada vzorků mezi sebou liší právě maticí, je nutné tuto matici znát před zahájením vlastní analýzy. Pro kategorizaci jednotlivých vzorků do skupin se stejnou maticí je možné využít LIBS spektrometrii a následnou analýzu hlavních komponent (*Principal Component Analysis* - PCA). PCA analýza je statistická metoda vhodná pro diskriminaci různých typů vzorků na základě znalosti elementárního složení jejich matrice. Analyzováno bylo celkem 27 vzorků geologického původu, jenž autoři práce nejprve klasifikovali do jednotlivých skupin na základě PCA analýzy LIBS spekter a následně byla pomocí LIBS spektrometrie provedena i kvantitativní analýza. V případě, že nebyla provedena klasifikace vzorků, koeficienty determinace (R^2) získané po sestrojení koncentračních závislostí se pohybovaly v rozsahu 0,23 až 0,87. Po klasifikaci jednotlivých vzorků do skupin se R^2 zvýšilo 0,86 až 0,97. Na Obr. 10 jsou uvedeny příklady grafů vytvořené na základě analýzy hlavních komponent. Z grafů je patrné, že na základě správně zvolených ukazatelů je možné jasně definovat jednotlivé matrice.



Obrázek 10 - Příklad klastrování geologických vzorků pomocí PCA analýzy

Autoři publikace (Suyanto, 2014) si vytkli cíl charakterizovat vzorek černého nefritu a také posoudit jeho schopnost adsorbovat na svém povrchu Ag a Pb z vodného roztoku. Při experimentu byl černý nefrit nejprve na povrchu analyzován LIBS spektrometrem a následně byl na 1 hodinu ponořen do 20 ml roztoku s obsahem Ag a Pb o koncentraci 40 mg.kg^{-1} , poté byl omyt demineralizovanou vodou. Prvotní analýza přinesla informace o matričních prvcích, jako jsou Ca, Mn, Si, K atd. Analýza kamene po jeho vyjmutí z roztoku přinesla informace o adsorpci kontaminantů Ag a Pb s výsledným poměrem signálu ke spektrálnímu pozadí (SBR) 9,5 (Ag) a 1,2 (Pb). Ag bylo do kamene adsorbováno do takové hloubky, že i po 16. laserovém pulzu byla pozorována jeho emisní čára. Pb bylo adsorbováno především v tenké povrchové vrstvě kamene (odezva do 4 laserových pulzů) a jeho intenzita byla několikanásobně nižší.

V práci (Trejos; Flores; Almirall, 2010) je popsána mikroanalýza vzorků papíru a gelových inkoustů, pomocí LIBS, jako nástroje vhodného pro diskriminaci tohoto typu vzorků. Změna prvkové složení papíru byla studována v rámci jednoho listu, mezi stránkami stejného papíru, mezi papíry vyrobenými ze stejné rostliny v různých časových intervalech a mezi sedmnácti zdroji papíru vyrobenými z deseti různých rostlin. Výsledky ukazují, že elementární analýza papíru pomocí LIBS a LA-ICP-MS poskytuje dobrou diskriminaci (> 98%) mezi různými materiálovými zdroji. LIBS analýza papíru poskytla i nízké limity detekce pro stanovené 4 prvky - Na ($690 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), Al ($136 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$), Mg ($280 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$) a Sr ($14 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$). Dále bylo analyzováno více než 200 vzorků černého inkoustu, aby bylo možné

určit variace chemického složení pro jednotlivé typy inkoustových per, mezi pery z jednoho balení a mezi různými značkami výrobců gelových inkoustů a inkoustů do kuličkových per. Koeficienty determinace v rozsahu 0,96 - 0,99 byly dosaženy u sad vzorků, které jinak zůstaly běžnými metodami neoddělitelné. Ve vzorcích inkoustu byly opět stanoveny limity detekce pro 4 analyty - Na ($720 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Mg ($50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), Mn ($15 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a Cu ($10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Kvalitativní analýza pomocí LIBS spektrometrie má široké využití, analyzovány mohou být vzorky geologické, minerální, kalcifikované, ale i živočišného či rostlinného původu. Po optimalizování podmínek měření je možné klasifikovat vzorky podle složení povrchové vrstvy, bez zdlouhavé přípravy vzorků k analýze či jejich rozkladu. Ve spojení s vhodně zvolenými chemometrickými metodami, jako je např. analýza hlavních komponent a analýza neuronových sítí, je možné LIBS využívat jako schopnou metodu pro klasifikaci a diskriminaci analyzovaných vzorků do vhodných skupin.

1.3.2 Kvantitativní analýza tenkých vrstev

Standardním postupem pro kvantitativní analýzu pomocí LIBS spektrometrie je kalibrace spektrometru pomocí kalibračních standardů a následná analýza neznámých vzorků. Problematické může být především zajistit kalibrační standardy, které budou svým složením a tedy matricí odpovídat analyzovaným vzorkům. Důležitá ovšem není jenom matrice vzorku, ale i vhodný koncentrační rozsah analyzované složky. V nejlepším možném případě by ke kalibraci přístroje měly být využívány certifikované referenční materiály, v nichž je deklarován obsah námi požadované složky. V opačném případě je nutné kalibrační standardy připravit. V případě kvantitativní analýzy tenkých či povrchových vrstev je nutné optimalizovat podmínky tak, aby signál stanovovaného prvku nebyl ovlivňován ablací materiálu pod analyzovanou vrstvou. V opačném případě by docházelo k obohacení vznikajícího plazmatu materiálem vzorku. Po optimalizaci podmínek měření je následně analyzována sada kalibračních vzorků o známé koncentraci stanovovaného prvku. Kalibrační graf je posléze vynesena jako závislost intenzity odpovídající emisní čáry na koncentraci prvku. Ze získané rovnice regrese je posléze možné dopočítat obsah prvku v neznámém vzorku.

LIBS své uplatnění nachází čím dál více i v oblasti analýzy uměleckých a historických děl, především díky kvazi-nedestruktivnímu charakteru analýzy. V publikaci (Colao; et al., 2002) je popsáno jeho využití jako nástroje pro kvantitativní analýzu povrchu středověké

glazované keramiky, fragmentu sochy a slitin na bázi mědi z období starého Říma. Hlavním problémem při analýze podobných vzorků je značná nehomogenita analyzovaného materiálu. Na stejném vzorku může být v různých místech vrstva různě silná a odlišného složení a všeobecně velkým omezením je nedostatek certifikovaných referenčních materiálů. K vyhodnocování naměřených dat proto nebyly využity klasické kalibrační postupy, ale byly vytvořeny matematické modely, které pomohly při kvantifikaci různých prvků v jednotlivých typech vzorků. Tyto modely jsou založeny na předpokladu LTE (lokální termodynamická rovnováha) podmínek. Teplota plazmatu je vypočítána pomocí metody Boltzmannova grafu, jenž je aplikován na prvek s dostatečným počtem dobře definovaných atomových čar (nejčastěji čáry Fe). Pro tento prvek jsou následně změřeny koncentrace atomů a iontů. Pro každý další prvek je pak koncentrace atomů změřena na základě přechodu atomu $k \rightarrow i$. Celková koncentrace prvku je následně dána sumou neutrálních a jednou ionizovaných stavů. Vypočítané prvkové koncentrace jsou následně korigovány pomocí kalibračních koeficientů, které byly získány na základě analýzy referenčních vzorků. Pro analýzu keramických vzorků popsaných v této práci byl k analýze využit jen jeden laserový pulz, aby byla analyzována pouze povrchová vrstva. Pomocí elektronového mikroskopu bylo zjištěno, že tloušťka vrstvy je v každém analyzovaném místě rozdílná a více laserových pulzů by pronikalo i do materiálu pod glazurou. Při analýze kovových vzorků bylo využito 20 laserových impulzů, kdy k odstranění patiny byly zapotřebí 1-2 pulzy. LIBS prokázal dobrou citlivost, kdy nejnížší stanovená koncentrace v analyzovaném fragmentu sochy byla 0,018 hm. % pro Ni a ve vzorcích mincí Zn 0,02 hm. %.

V práci (Lazic; et al., 2004) je popsána analýza vzorků bílého mramoru. Pro dosažení přesných výsledků byly připraveny kalibrační standardy s matricí CaCO_3 dopované certifikovanými půdami. Kalibrační řady byly připraveny pro 11 různých prvků v různých koncentračních rozpětích. Výsledné kalibrační křivky byly sestrojeny s koeficientem determinace od 0,951 po 0,999. Navržený postup analýzy pomocí LIBS spektrometru byl ověřen technikami SEM-EDX a ICP OES a výsledky byly v dobré shodě. Kvantitativní analýza byla následně provedena v průběhu odstraňování povrchové inkrustace. Byl změřen počet laserových pulzů, který je potřebný pro úplné odstranění povrchové krusty, na jeden laserový pulz připadala hloubka vzniklého kráteru zhruba 1 až 1,5 μm , na základě této informace pak bylo možné směřovat analýzu jen do povrchové vrstvy, případně i pod ní. Tloušťka povrchové krusty vzorků byla stanovena 100 μm .

Jednou z běžných technik přípravy práškových vzorků k analýze je lisování tablet. Pokud je naším cílem zároveň omezit spotřebu vzorku, jako vhodný postup se jeví nanesení

práškového vzorku na přilnavý povrch, na kterém se uchytí ve formě tenké vrstvy. Spotřeba vzorku, při takovém postupu přípravy k analýze, se pohybuje v řádech desítek mikrogramů. Další výhodou může být snížení efektu matrice a menší znečištění ablační komory. Právě snížením vlivu matrice na analýzu se zabývá práce (Gornushkin; et al., 2002), kde byly analyzováno 7 typů organických a anorganických práškových standardů NIST (*National Institute of Standards and Technology*) s odlišnou maticí a s certifikovaným obsahem Mg v koncentračním rozsahu 0,003 - 0,89 hm.%. Kalibrační řada byla připravena rozpuštěním 20 g čistého MgO v objemu 5% HCl tak, aby měl výsledný roztok koncentraci 2000 mg.kg⁻¹. 20 ml tohoto roztoku bylo smícháno s 5 g vysoce čistého uhlíkového prášku. Získaná homogenní pasta (obsah Mg 1%) byla vysušena a vzniklý prášek byl využit pro rozředění a sestavení kalibrační řady standardů v koncentračním rozsahu 0,002-1 hm. % Mg. Kalibrační i NIST standardy byly ve formě tenké vrstvy nanесeny na oboustrannou lepicí pásku, která byla umístěna na mikroskopickém sklíčku. Pečlivou přípravou vzorku a korekcí na hustotu povrchu vzorku byla získána optimální intenzita signálu Mg bez ohledu na maticí vzorku. Hodnota RSD se pohybovala v rozmezí 10-20%. Bylo zjištěno, že normalizace povrchové hustoty je užitečná pro snižování vlivu matrice na stanovení Mg v práškových vzorcích. Je ovšem nutné, aby byly vzorky namlety na jasně definovanou velikost částic.

V práci (Pouzar; et al., 2011) se autoři zabývali kvantitativním stanovením vanadu v katalyzátorech na bázi hexagonální mezoporézní siliky (V-HMS). Pro stanovení přesné koncentrace V byly vzorky nejprve mikrovlnně rozloženy a analyzovány pomocí ICP OES. Pro LIBS analýzu byly práškové vzorky nanесeny na lepicí pásku a nezachycený vzorek byl odstraněn proudem vzduchu. Během analýzy byl pozorován silný matriční efekt, který závisel na technice přípravy katalyzátoru. V prvním způsobu přípravy byl vanad přidán během procesu syntézy HMS, v druhém způsobu byla impregnována vanadem již syntetizovaná porézní SiO₂ matrice. Připraveno bylo celkem 9 kalibračních standardů s obsahem vanadu v rozsahu koncentrací 1,3 - 4,5 hm. %. Limit detekce byl vypočítán pomocí vztahu $3\sigma/s$ a měl hodnotu 0,13 hm. % V. Závěrem práce je autory uvedeno, že v případě kalibrování technik ED XRF a LIBS pomocí shodné sady standardů připravených impregnací, bylo dosaženo dobré shody pro impregnované vzorky. Pokud byly ovšem pomocí obou technik kalibrováných pomocí impregnovaných standardů měřeny vzorky syntetické, shody dosaženo nebylo. Autoři na základě získaných výsledků předpokládají, že měření LIBS jsou silně ovlivňovány různými chemickými formami vanadu v impregnovaných a syntetizovaných vzorcích.

Analýza kapalin pomocí LIBS spektrometrie může být poměrně obtížná. Řada spektrometrů je vybavena ablační komorou, která neumožňuje přímou analýzu kapalin především proto, že laserový paprsek je přiváděn ze spodu. Pokud je přímá analýza možná, potýkáme se s problémy, jako je neustálená hladina kapaliny, na kterou se pouze s obtížemi fokusuje laserový paprsek, po interakci s laserem dochází k rozstříku kapaliny po komoře, ke ztrátám vzorku, ke kontaminaci komory a časové ztrátě, kdy je nutné čekat, než dojde k opětovnému ustálení hladiny. V poslední době je proto často využívána možnost nanést kapalinu na pevný nosič. Může jít o nenasákavou podložku, např. z kovu, kdy kapalina na jejím povrchu vytvoří tenký film, popřípadě se může jednat o nasákavý nosič (např. filtrační papír), na který se aplikuje kapalina, která se do něj vsákne a je možné provést analýzu okamžitě, či až po zaschnutí. Je to komfortní postup, dochází k úspoře materiálové i časové a vzorky je možné po zaschnutí skladovat.

V publikaci (Xiu; et al., 2016) je popsána možnost kvantitativního stanovení stopových prvků ve vodných roztocích a ve vzorcích mazacích olejů. Jako nosiče byly využity papírový a kovový terčík. Papírový terčík (z filtračního papíru) byl využit jako nasákavý nosič pro čisté vodné a směsné roztoky, které sloužily pro studium účinku matrice (jednalo se o směs odpadní vody a čistých vodných roztoků). K přípravě kalibračních standardů byla využita obvyklá analytická činidla ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_2$, CdCl_2), rozpuštěná v deionizované vodě. Rozsah řady byl 10 - 500 mg.l^{-1} . Pro čisté vodné roztoky byly limity detekce stanoveny Cu 1,67 mg.l^{-1} , Cd 5,32 mg.l^{-1} a Cr 4,74 mg.l^{-1} . U směsných vodných roztoků byly limity detekce Cu 2,13 mg.l^{-1} , Cd 6,56 mg.l^{-1} a Cr 3,98 mg.l^{-1} . Druhá část experimentu byla věnována stanovení Cu a Ti v motorových olejích, které byly v tenké vrstvě naneseny na kovový terčík (čistý Al). Tloušťka této tenké vrstvy byla odhadnuta na $15 \pm 5 \mu\text{m}$. Připraveny byly dvě kalibrační řady naředěním certifikovaného oleje pomocí dvou druhů použitých motorových olejů s různými maticemi. Koncentrační rozsah kalibrační řady byl 20 - 500 mg.g^{-1} . Následně byly analyzovány vzorky s certifikovanou koncentrací analytů 50 mg.l^{-1} . Získané výsledky (Cu $51 \pm 2 \text{ mg.l}^{-1}$ a Ti $48 \pm 4 \text{ mg.l}^{-1}$) byly dle autorů uspokojivé. Bylo zjištěno, že pro analýzu stopových prvků v mazacích olejích je matriční efekt mezi různými oleji relativně malý až zanedbatelný a proto je možné pro různé stopové prvky v různých typech olejů sestavit univerzální kalibrační křivku.

1.3.3 Bezkalibrační spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (CF-LIBS)

CF-LIBS, neboli bezkalibrační spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu (z anglického *Calibration-Free Laser Induced Breakdown Spectrometry*) je metoda, kdy pro kvantitativní analýzu není nutné proměřit sadu kalibračních standardů a na základě sestrojené kalibrační křivky získat kvantitativní informace o neznámém vzorku. CF-LIBS je založen nejen na měření intenzity emisní čáry, ale i na znalosti vlastností plazmatu, jako jsou elektronová hustota a teplota a na předpokladu Boltzmannova rozložení excitovaných hladin, který pro stanovení koncentrace analytu v neznámém vzorku nevyžaduje použití kalibračních křivek nebo matricově shodných standardů.

CF-LIBS je metoda, která byla vyvinuta jako alternativa ke konvenčnímu postupu LIBS analýzy - základním předpokladem je nepovažovat matici vzorku za nežádoucí zdroj interference, ale jako součást analytického problému a analyzovat ji spolu s analytem. Pomocí CF-LIBS jsou nejčastěji analyzovány vodivé vzorky (slitiny různých kovů apod.), dále pak třeba pigmenty, geologické a kalcifikované vzorky atd. Základním principem je sledování teploty plazmatu, jež je nejcitlivějším ukazatelem změny složení analyzovaného vzorku. Složení plazmatu je reprezentativní ukazatel složení vzorku, plazma je v lokální termodynamické rovnováze v čase a prostoru a je modelováno jako prostorově homogenní zdroj. Jednoduché matematické operace jsou ovšem nedostatečným nástrojem k reálnému popsání plazmatu. Pro frekventovanější využití CF-LIBS např. v průmyslu je nutné, aby byly lépe a obecněji popsány postupy, které jsou pro správnou a přesnou kvantitativní analýzu nutné.

Většina úsilí, která byla věnována vývoji CF-LIBS byla motivována nedostatkem kalibračních standardů, jež jsou nutné pro správné provedení konvenčního postupu analýzy. Problémem je především nedostatek certifikovaných materiálů. CF-LIBS je též limitována i přesností analýzy - nejvyšší přesnosti je dosahováno při analýze matricových prvků vzorku, u složek v nižším koncentračním zastoupení se jedná spíše o semi-kvantitativní analýzu.

Jak již bylo zmíněno, předpokladem úspěšné aplikace CF-LIBS je určení teploty plazmatu, ke kterému se může využít grafické znázornění skupiny spektrálních čar v Boltzmannově grafu. Každá spektrální čára je reprezentována jako bod v rovině, kde hodnota x odpovídá energii horní úrovně přechodu ($x = E_i$) a y odpovídá logaritmu intenzity čáry (I_{ij}), dělené pravděpodobností přechodu A_{ij} a degenerací g_i (15).

$$y = \log\left(\frac{I_{ij}}{A_{ij}g_i}\right) \quad (15)$$

Využit lze i druhý parametr, který je optimalizován během lineární regrese bodů v Boltzmannově grafu, a to je hodnota úseku (q_s), jenž je funkcí hustoty (n_s) jednotlivých specií (s) v plazmatu (16).

$$q_s = \log \left(\frac{F n_s}{U_s(T)} \right) \quad (16)$$

Kde $U_s(T)$ je hodnota funkce rozdělení specií (s) při teplotě T , F je neznámý parametr, který odpovídá absolutní účinnosti detekčního systému.

Teplota plazmatu se získává lineární regresí bodů reprezentujících čáry stejného prvku, a to pomocí obrácené hodnoty směrnice získané křivky. Celková hustota počtu částic je dána součtem neutrálních (I) a jednou ionizovaných (II) energetických stavů prvků: $n = n^I + n^{II}$. Po výpočtu celkových celočíselných hodnot je možný výpočet relativního výskytu prvku pomocí vzorce (17):

$$c_a^x = \frac{n_a}{\sum_a n_a} = \frac{(n_a^I + n_a^{II})}{\sum_a n_a} \quad (17)$$

Rovnice vychází z předpokladu, že platí (18):

$$\sum_a n_a = 100\% \quad (18)$$

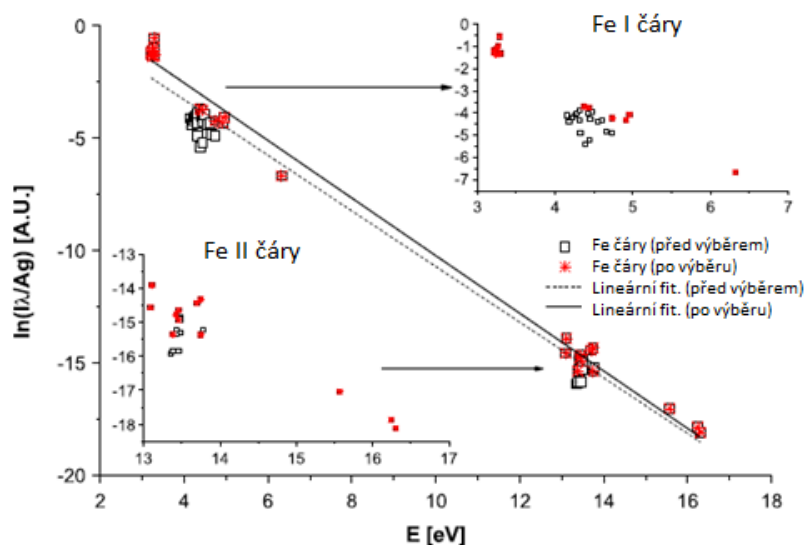
Je třeba ovšem podotknout, že analýza vzorků pomocí CF-LIBS je stále poměrně problematická, pro výpočet potřebných hodnot jsou nutné složité matematické vztahy a měření je stále zatíženo chybou, pokud se nejedná o analýzu matričních prvků. (Tognoni; et al., 2010)

1.3.4 CF LIBS pro analýzu tenkých vrstev

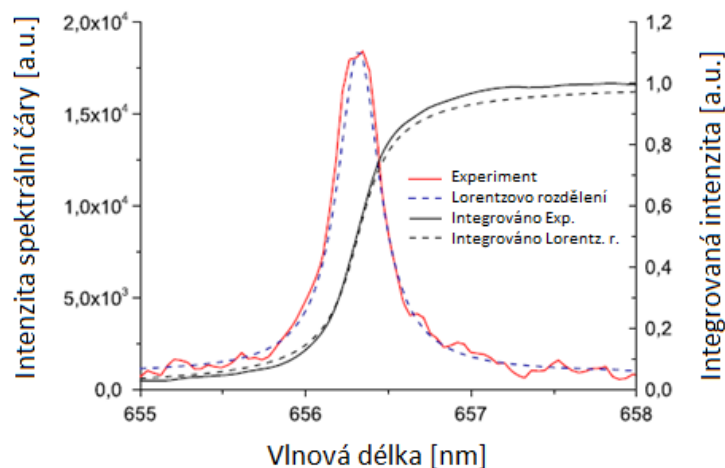
Využití CF-LIBS pro analýzu archeologických nálezů je popsáno v práci (Gaudiuso; et al., 2014). Modifikovaná verze bezkalibrační metody (CF) byla použita při analýze souboru archeologických nálezů broží vyrobených z různých slitin na bázi mědi. Vyvinutá metodika je založena na postupu určení teploty plazmatu na základě opačného vyhodnocování souboru rovnic, než je obvyklé v typickém algoritmu CF-LIBS a je tudíž označována jako "inverzní metoda". Teplota plazmatu je určena pro jeden certifikovaný standard o známém prvkovém složení a pak je aplikována na soubor neznámých vzorků, kdy je v CF režimu vyhodnoceno jejich složení. Jako standard byly využity slitiny na bázi bronzu a mosazi s certifikovaným obsahem prvků. Porovnání výsledků přineslo uspokojivé výsledky, což potvrdilo předpoklad

použitelnosti inverzní CF-LIBS metody. Na základě výsledků LIBS mohla být popsána značná nehomogenita vzorků a bylo odhaleno, že jeden ze tří analyzovaných vzorků byl falzifikát. Analýza byla zaměřena na matriční prvky - Cu, Sn a Pb, pokud byly přítomny tak i na Zn a Ni. Rozsah koncentrací analyzovaných prvků ve vzorcích byl pro Sn 0,4 - 12,96 hm. %, pro Pb 0,57 - 6,12 hm. %, pro Cu 62,35 - 90,1 hm. %, pro Zn 1,22 - 32,7 hm. % a pro Ni 0,49 - 2,56 hm. %.

V práci (Hornackova; et al., 2014) byla CF-LIBS popsána jako alternativní metoda vhodná pro analýzu fragmentů meteoritů. Byla provedena analýza elementárního složení a kvantitativní analýza fragmentů meteoritu. Analyzován byl objemový materiál vzorků i jejich kůra. Z důvodu nehomogenity vzorků bylo nutné provést analýzu v 5 různých místech a s akumulací 100 laserových nástřelů. Autoři publikace stanovili elektronovou teplotu pomocí Saha-Boltzmanova grafu (Obr. 11) a elektronovou hustotu pomocí Starkova rozšíření vodíkové linie H α (656 nm) (Obr. 12). Kvalitativní analýzou bylo prokázáno, že vzorky kromě prvků Mg, Si a Fe, jež jsou hlavními matričními prvky, obsahují i Al, Ca, Cr, Mn, K a Na. Koncentrace těchto prvků byly určeny pomocí CF-LIBS a pro zvýšení přesnosti analýzy byl proveden výběr čar. Stanovené koncentrace se pro prvky Fe, Mg a Si pohybovaly jak v kůře, tak pro vnitřní materiál vzorku, okolo 30 hm. %, pro Na, Al a Ca to byly řádově jednotky % a Cr, Mn a Ni byly zastoupeny do 0,5 hm. %.



Obrázek 11- Saha-Boltzmanův graf čar Fe (před výběrem a po výběru čar)



Obrázek 12 - Profilování vodíkové linie H α (656 nm)

1.3.5 Hodnocení vyvinutého postupu LIBS analýzy

Jak již bylo zmíněno, k analýze pomocí LIBS spektrometrie je nutné pouze malé množství vzorku, řádově se jedná o jednotky či desítky mikrogramů (Cremers; Chinni, 2009). Při analýze takto malého množství materiálu vzrůstá pravděpodobnost vzniku chyby, ať už vlivem nehomogenity vzorku, špatného vzorkování, či nesprávným vyhodnocením výsledků. Obecně, je cílem každé analýzy poskytnout přesné a správné výsledky. Dle normy ČSN 5725-2 je přesnost vymezena dvěma pojmy, a to shodností a správností. Shodnost vyjadřuje těsnost shody mezi výsledky za podmínek opakovatelnosti, (stejná laboratoř, stejný pracovník, stejná metoda analýzy, stejné vybavení a zařízení), a za podmínek reprodukovatelnosti (stejná metoda a identické zkušební jednotky, ale odlišné laboratoře, pracovníci, různé vybavení). Shodnost je obvykle určována jako směrodatná odchylka opakovatelnosti nebo reprodukovatelnosti. Správnost je definována jako těsnost shody střední hodnoty velkého počtu výsledků zkoušek s referenční nebo pravou hodnotou. (ČSN, 1997)

Výsledky LIBS analýzy nejčastěji doprovázejí termíny relativní směrodatná odchylka a limita detekce. Relativní směrodatná odchylka (RSD) je často využívaným ukazatelem statistické disperze. RSD je parametr udávaný v % a získá se výpočtem (19):

$$RSD = (\sigma / \bar{x}) * 100 \quad (19)$$

kdy σ je směrodatná odchylka a \bar{x} je aritmetický průměr. RSD je často nazýváno jako variační koeficient a charakterizuje variabilitu měření. V případě, že koncentrace analytu klesá, přesnost

vyjádřená právě pomocí RSD se zhoršuje. Kvantitativně řečeno - hodnota RSD se pohybuje okolo 10% pro limit kvantifikace a 33% na hranici limitu detekce. (Parsons; et al., 2009; Thomsen; Schatzlein; Mercuro, 2003)

Základní definice limitu detekce (LOD) je dle IUPAC (*The International Union of Pure and Applied Chemistry* - Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii) následující: Limit detekce, vyjádřený jako koncentrace c_L , nebo kvantita q_L , je odvozen od nejmenšího naměřeného signálu x_L , jenž může být pro danou analytickou metodu detekován s přiměřenou jistotou. Hodnota x_L je dána vztahem (20):

$$x_L = x_B + k s_B \quad (20)$$

kdy x_B je průměr naměřeného signálu pro slepý pokus, s_B je směrodatná odchylka signálu slepého pokusu, k je numerický faktor zvolený na základě požadované úrovně spolehlivosti. (Thomsen; Schatzlein; Mercuro, 2003)

Vztah mezi signálem a koncentrací je dán směrnici kalibrační přímky, rovnice pro vyjádření limitu detekce pak může být vyjádřena (21):

$$LOD = k \left(\frac{s_B}{x_B} \right) \left(\frac{x_B}{b} \right) \quad (21)$$

kdy numerická konstanta k je dle doporučení IUPAC 2 nebo 3 (dvojnásobek směrodatné odchylky pokrývá až 95 % naměřených dat v daném intervalu, trojnásobek směrodatné odchylky až 99%), s_B směrodatná odchylka pozadí vzorku s nejnižší koncentrací, popř. slepého pokusu, x_B je průměrná intenzita signálu pozadí, popř. signálu slepého pokusu a b je směrnice lineární části kalibrační křivky. První závorka vyjadřuje hodnotu RSD, druhá závorka popisuje koncentraci odpovídající úrovni signálu pozadí (BEC - *Background Equivalent Concentration*). (Hahn; Omenetto, 2012; Thomsen; Schatzlein; Mercuro, 2003)

1.4 Shrnutí teoretické části práce

Uvedená literární rešerše by měla přinést vhled do problematiky analýzy tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie. Z uvedeného vyplývá, že kvantitativní ani kvalitativní analýza tenkých vrstev pomocí této techniky není triviální záležitost. Je třeba brát v úvahu mnoho faktorů, které mohou mít značný vliv na výsledek analýzy, jako je optimalizace a správně zvolené experimentální podmínky analýzy, dále pak homogenita vzorků, popřípadě vhodně zvolené standardy, nutné pro sestavení kalibrační závislosti. Velký vliv má také matrice vzorku, zkušenosti pracovníka s touto metodou atd. I přes všechny zmíněná úskalí lze na základě uvedené rešerše konstatovat, že LIBS je metoda vhodná pro kvantitativní i kvalitativní analýzu tenkých vrstev, ať už se jedná o povrchové úpravy vzorků, o práškové materiály analyzované v tenké vrstvě anebo kapaliny na různých nosičích. Výhody LIBS spektrometrie v oblasti aplikací analýzy tenkých vrstev jsou především kvazi-nedestruktivní charakter analýzy, možnost optimalizace experimentálních podmínek s ohledem na typ analyzovaného vzorku, nízké nároky na přípravu vzorku k analýze, či nízké množství objemu vzorku a možnost analýzy lehkých prvků. Vzorky není třeba rozpouštět či leptat a dochází k časové i finanční úspoře. Nevýhodou v tomto případě mohou být vyšší detekční limity ve srovnání s konvenčními metodami pro analýzu tenkých vrstev, nemožnost analýzy izotopového zastoupení (LA-ICP-MS) a pro přesnou kvantitativní analýzu i nutnost analýzy odpovídajících kalibračních standardů, či referenčních vzorků.

2 Praktická část

2.1 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy

2.1.1 Problematika stanovení fluoru

Fluoridy většiny kationtů, stejně tak jako komplexy obsahující fluoridový aniont, patří mezi vysoce stabilní sloučeniny, z nichž je velmi obtížné tento aniont uvolnit. Techniky jako izotachoforéza, kapilární elektroforéza či přímá potenciometrie lze však použít pro stanovení fluoridového aniontu pouze v případě, že byl kvantitativně převeden do roztoku. Rozklad vzorků obsahujících F^- je obvykle časově i materiálně náročný proces a převod analytu do roztoku nemusí být vždy kvantitativní. Jako vhodná alternativa ke konvenčním analytickým metodám se nabízí právě LIBS spektrometrie. Její hlavní výhodou je především možnost přímé analýzy pevných vzorků bez nutnosti jejich předchozího rozkladu. Dalším přínosem může být skutečnost, že LIBS má obecně dobré detekční limity pro celou řadu lehkých prvků a konkrétně v případě F může dosahovat lepších detekčních limitů než další běžně využívané metody nevyžadující rozklad vzorku jako je např. WD XRF. Konkrétním úkolem řešeným v této části práce bude analýza obsahu F ve vzorcích organických pigmentů. Kritickým parametrem navrhované metodiky bude dosažení detekčního limitu, který umožní stanovení F v reálných vzorcích a dále pak minimalizace spotřeby vzorku. Testovány budou dvě techniky přípravy vzorku - a to naprašování vzorku pomocí štětce na lepicí pásku (vzorek ve formě tenké vrstvy) a lisování tablet (objemový vzorek).

Použité analytické nástroje

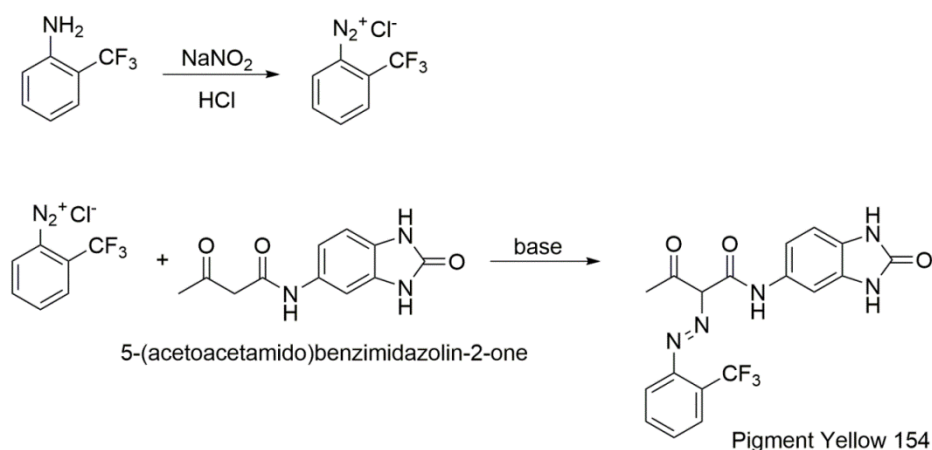
Laserový optický emisní spektrometr LEA-S500

LEA-S500 (Solar TII Ltd., Bělorusko) je komerčně dostupný kompaktní laserový optický emisní spektrometr. Při analýze využívá nanosekundový dvoupulzní Nd:YAG laser opatřený Q-spínáním s délkou pulzu 12 ns a opakovací frekvencí 20 Hz, který emituje dva kolineární paprsky o vlnové délce 1064 nm. Emitovaný paprsek má Gaussovský profil. energii pulzu je možné nastavit v rozmezí od 80 do 150 mJ, zpoždění mezi dvěma pulzy v rozmezí 0 až 20 μ s. Snímaný rozsah vlnových délek spektrometru se pohybuje od 170 do 800 nm. Spektrometr je typu Czerny-Turner a jeho ohnisková vzdálenost je 500 mm. Difrakční mřížka opatřená až 3600 vrypů/mm poskytuje lineární rozptyl od 0,5 do 1 nm/mm. Spektrum je zaznamenáváno pomocí CCD detektoru, jehož teoretický rozsah je 170 -

1100 nm. Integrační čas detektoru je pevně nastaven na hodnotu 1 ms. Spektrum je snímáno v oknech o šířce 30 nm. Vzorek je v ablační komoře umístěn na posuvném stolku, který umožňuje jeho laterální pohyb v osách x a y a pomocí pohybu v ose z je zajištěno zaostření budícího paprsku. Do ablační komory a/nebo do prostoru optiky je možné přivádět inertní plyn, čehož je využíváno zejména při měření v oblasti vlnových délek 170 - 220 nm. Spektrometr je ovládán pomocí softwaru Atilla2pro, který umožňuje jak vytváření metod a tak i jejich používání pro identifikaci, kvalitativní či kvantitativní analýzu vzorku skupinami různě pokročilých uživatelů. (Kopachevskii; Krivosheeva, 2007) Výše popsany LIBS spektrometr LEA-S500 byl využit jako analytický nástroj pro plnění všech dílčích cílů práce.

Vzorky organických pigmentů

Reálné vzorky organických pigmentů a standardy použité pro optimalizaci podmínek a kalibraci LIBS spektrometru dodala firma HEUBACH Research Centre s.r.o., Pardubice. Organická barviva byla připravena diazotací dvou aktivních komponent (Obr. 13): anilinu a trifluoromethylanilinu (TFMA). Vhodně zvolenými hmotnostními poměry reagujících výchozích diazoniových solí byl řízen obsah F v kalibračních standardech (firemní označení HRC) v rozsahu koncentrací 0 - 14 hm. %, jež jsou uvedeny v Tabulce 1. Po ukončení syntézy byly jednotlivé šarže barviv vysušeny a namlety na jemný prášek o velikosti částic menší než 20 μm .



Obrázek 13 - Schéma postupu přípravy analyzovaných organických pigmentů

Tabulka 1 - Obsah F v jednotlivých vzorcích organických pigmentů

Označení vzorku	Teoretický obsah F [hm. %]
HRC 0/1	0
HRC 1/1	1
HRC 2/1	2
HRC 4/1	4
HRC 6/1	6
HRC 8/1	8
HRC 10/1	10
HRC 12/1	12
HRC 14/1	14

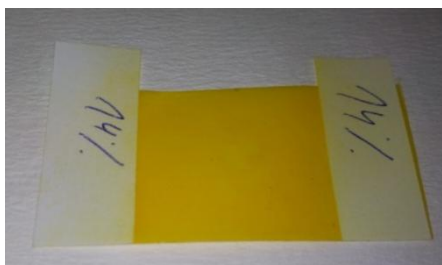
2.1.2 Optimalizace podmínek experimentu

Příprava vzorků k analýze

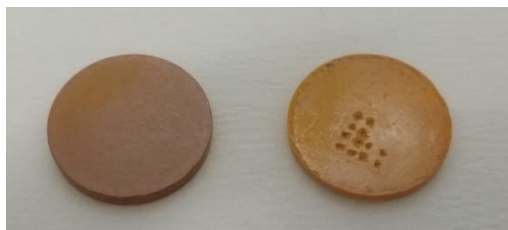
Aby bylo možné posoudit vliv techniky přípravy vzorku na analýzu, byly vzorky organických pigmentů (Obr. 14) připraveny dvěma způsoby. První způsob úpravy vedl ke vzorku ve formě tenké vrstvy (Obr. 15). Každý vzorek byl pomocí plastové lžičky nanesen na jednostrannou lepicí pásku a rozetřen po její ploše kovovou kopistí. Rovnoměrného nanesení pigmentu po celé ploše pásky bylo dosaženo odprášením nepřichycených částí vzorku pomocí jemného štětce. Pro každý vzorek byly připraveny dvě pásky. Druhý způsob úpravy vedl ke vzorkům ve formě tablety (Obr. 16). Vzorek byl nadávkován do lisovací hlavice ručního hydraulického lisu a stlačen. Pro přípravu jednotlivých tablet byl aplikován tlak 195 ± 10 barů, připravené tablety měly průměr 12 mm a tloušťku 3 - 4 mm. Pro každý vzorek byly připraveny dvě tablety.



Obrázek 14 - Vzorek analyzovaného pigmentu s obsahem F 14 hm. %



Obrázek 15 - Vzorek pigmentu s obsahem F 14 hm. % ve formě tenké vrstvy na pásce



Obrázek 16 - Vzorky pigmentu ve formě tablety

(Vpravo vzorek s neznámým obsahem F, vlevo vzorek s obsahem F 14 hm. % po analýze)

Optimalizace parametrů LIBS spektrometru

Při vývoji analytické metody byly nejprve parametry LIBS spektrometru rozděleny na fixní a variabilní. Fixní parametry se neoptimalizují, jejich hodnota je dána vlastnostmi vzorku či analytu a jejich změna při řešení daného analytického úkolu nemá praktický význam. V případě analýzy F ve vzorcích organických pigmentů byly za fixní parametry zvoleny šířka vstupní štěrby spektrometru (slit), počet laserových pulzů v jednom analytickém bodě (AC - accumulation counts), počet analytických bodů (AP - analytical points) a dvoupulzní režim laseru (DP - double pulse). Fixní parametry pro analýzu tenké vrstvy na pásce byly nastaveny následovně: slit 20 μm , AC 1 a AP 9. Fixní parametry pro analýzu tablet byly nastavené: slit 20 μm , AC 1 a AP 4. Hodnota parametru slit byla zvolena tak, aby bylo dosaženo uspokojivé hodnoty rozlišení a zároveň dostatečné citlivosti měření. Pro analýzu tenkých vrstev byl AC zvolen 1, aby byla eliminována možnost průrazu pásky. Počet AP byl zvolen tak, aby mohla být analyzována co možná největší plocha vzorku v ablační komoře. V případě vzorků ve formě tablet byl AC zvolen 1 proto, aby získané výsledky bylo možné porovnávat s výsledky získanými analýzou pásek. Počet AP byl limitován velikostí vzorku a možným odštěpováním materiálu v okolí kráteru po interakci laseru se vzorkem. Mezi variabilní parametry, u kterých byla prováděna optimalizace, byly zařazeny energie laserového pulzu, šířka analytického spotu, doba zpoždění mezi pulzy a pokud je využit, tak i průtok inertního plynu ablační komorou. Dvoupulzní režim laseru byl

zvolen na základě dřívějších prací (Kratochvil; et al., 2013), z nichž vyplynulo, že daný režim umožňuje dosáhnout lepší citlivosti a reprodukovatelnosti měření. Optimalizace variabilních parametrů byla provedena na vzorku organického pigmentu s nejvyšší koncentrací F (14 hm. %) pro obě analyzované formy vzorku, aby bylo možné předejít případné saturaci detektoru. Obě analyzované formy vzorků byly postupně proměřeny ve třech různých atmosférách (vzduch, heliová a argonová atmosféra) a byl pozorován vliv atmosféry na intenzitu signálu a výšku spektrálního pozadí. Nejprve byla provedena optimalizace podmínek měření na vzduchu, po dosažení optimálních podmínek byl optimalizován průtok inertních plynů ablační komorou. Po optimalizaci průtoků plynů byla pro každý typ atmosféry znovu optimalizována energie laserového pulzu.

V rozsahu vlnových délek použitého spektrometru (170-800 nm) se nachází několik emisních čar F, kdy nejintenzivnější čáry leží na vlnových délkách 683,4; 685,6; 687,02 a 690,2 nm. Pro měření bylo tedy zvoleno analytické okno v rozsahu 670 až 700 nm.

Pro obě analyzované formy vzorků (tenká vrstva, tableta) byla optimalizace variabilních parametrů zahájena s využitím shodných počátečních podmínek, které byly následně upravovány. Pro analýzu organických pigmentů na vzduchu byly zvoleny následující počáteční podmínky: šířka analytického bodu 300 μm , energie laserového pulzu 105 mJ a doba zpoždění mezi pulzy 8 μs . V průběhu optimalizace byl vždy měněn v určitém rozsahu hodnot pouze jeden variabilní parametr a ostatní parametry zůstávaly konstantní. Optimalizačním kritériem byl parametr SBR a cílem optimalizace byla maximalizace tohoto parametru.

Optimalizace parametrů LIBS spektrometru pro analýzu vzorků pigmentů ve formě tenké vrstvy deponované na pásce

Energie laserového pulzu byla v průběhu optimalizace metody pro měření vzorků nanesených na pásce měněna v rozmezí 120 až 145 mJ s krokem 5 mJ. Ostatní variabilní parametry byly nastaveny následovně: šířka analytického bodu 300 μm , doba zpoždění mezi pulzy 8 μs . V další části optimalizace byla měněna šířka analytického bodu a to v rozmezí od 300 do 500 μm s krokem 50 μm . V daném případě byla energie laserového pulzu 130 mJ a doba zpoždění mezi pulzy 8 μs . Nakonec byla při energii pulzu 130 mJ a šířce spotu 400 μm měněna délka zpoždění mezi pulzy, a to v rozmezí 4 až 10 μs s krokem 1 μs .

Průtok helia ablační komorou byl měněn v rozmezí od 0 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ do 6,4 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Zbývající parametry byly nastaveny na základě výsledků předešlých optimalizačních kroků.

Energie laserového pulzu, pro měření vzorků na pásce v heliové atmosféře, byla měněna v rozmezí 120 až 145 mJ, v krocích po 5 mJ.

Průtok argonu ablační komorou byl měněn v rozmezí od 0,8 l.min⁻¹ do 2 l.min⁻¹. Zbývající parametry byly nastaveny na základě výsledků předešlých optimalizačních kroků. Energie laserového pulzu pro měření vzorků na pásce v atmosféře argonu byla měněna v rozmezí 110 až 150 mJ, v krocích po 5 mJ.

Optimalizace parametrů LIBS spektrometru pro analýzu vzorků pigmentů ve formě tablet

Energie laserového pulzu byla v průběhu optimalizace metody pro měření vzorků nanesených na pásce měněna v rozmezí 110 až 150 mJ s krokem 5 mJ. Ostatní variabilní parametry byly nastaveny následovně: šířka analytického bodu 300 μm, doba zpoždění mezi pulzy 8 μs. V další části optimalizace byla měněna šířka analytického bodu a to v rozmezí od 200 do 500 μm s krokem 50 μm. V daném případě byla energie laserového pulzu 140 mJ a doba zpoždění mezi pulzy 8 μs. Nakonec byla při energii pulzu 140 mJ a šířce spotu 300 μm měněna délka zpoždění mezi pulzy a to v rozmezí 5 až 10 μs s krokem 1 μs.

Průtok helia ablační komorou byl měněn v rozmezí od 0 l.min⁻¹ do 6,4 l.min⁻¹. Zbývající parametry byly nastaveny na základě výsledků předešlých optimalizačních kroků. Energie laserového pulzu, pro měření vzorků na pásce v heliové atmosféře, byla měněna v rozmezí 124 až 145 mJ, v krocích po 5 mJ.

Průtok argonu ablační komorou byl měněn v rozmezí od 0,8 l.min⁻¹ do 2 l.min⁻¹. Zbývající parametry byly nastaveny na základě výsledků předešlých optimalizačních kroků. Energie laserového pulzu pro měření vzorků na pásce v atmosféře argonu byla měněna v rozmezí 115 až 150 mJ, v krocích po 5 mJ.

2.1.3 Kalibrace LIBS spektrometru

Za podmínek optimalizovaných na vzorku pigmentu s nejvyšší teoretickou koncentrací F, byly proměřeny dvě sady kalibračních standardů - standardy ve formě tenké vrstvy a ve formě tablet. Uvedené kalibrační standardy byly proměřeny jak pod inertní atmosférou helia a argonu, tak v prostředí statického vzduchu. Následně byly zkonstruovány kalibrační křivky a vyhodnoceny statistické parametry regrese.

2.1.4 Stanovení F v neznámých vzorcích

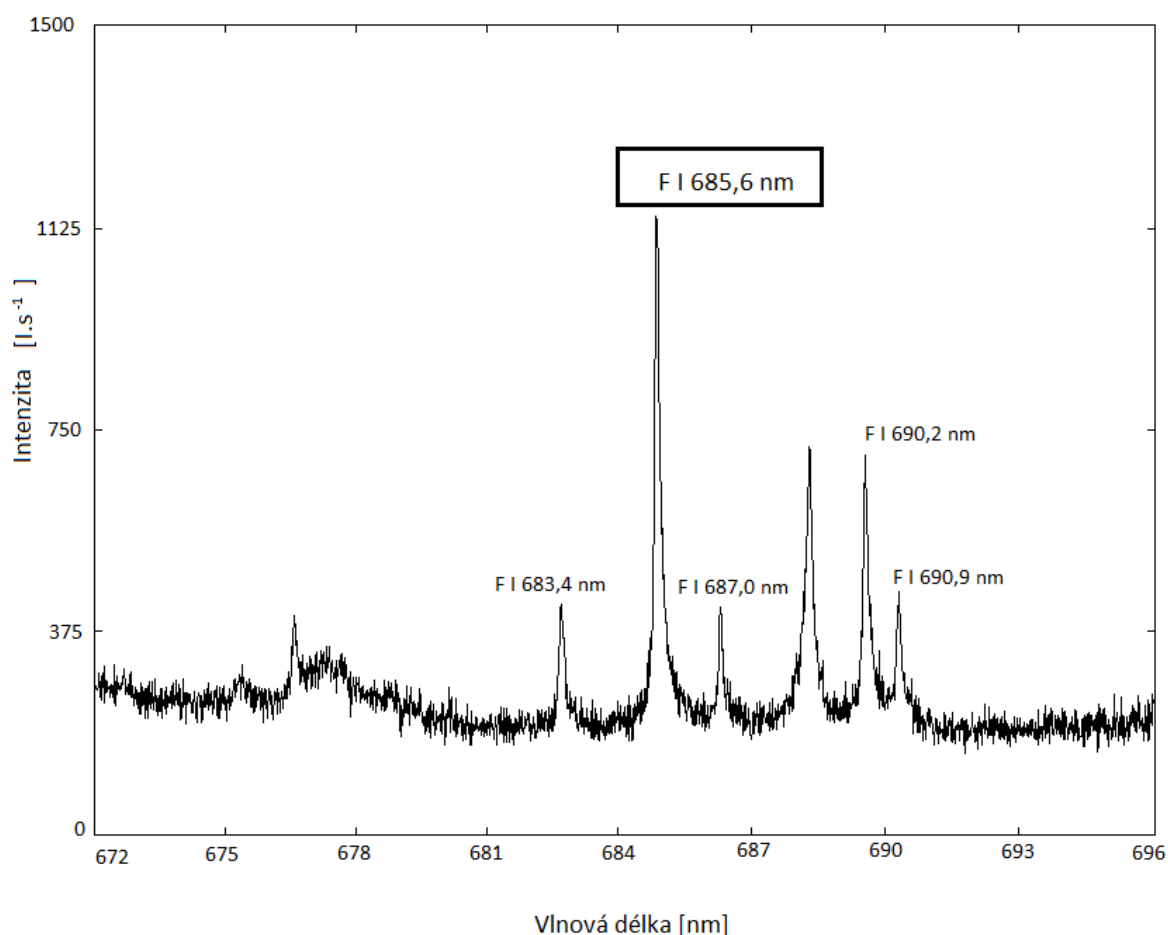
Po dokončení kalibrace LIBS spektrometru byly analyzovány 2 provozní vzorky obdobně připraveného pigmentu s neznámou koncentrací F dodané opět firmou HEUBACH Research Centre s.r.o. Naměřené hodnoty byly porovnány s teoretickým obsahem F vypočteným na základě stechiometrie reakce, jejíž reakční schéma je znázorněno na Obr. 13.

2.2 Výsledky a diskuze - Plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy

2.2.1 Optimalizace podmínek experimentu

Volba vhodné vlnové délky emisní čáry F

Pro analytické účely byla jako nejvhodnější vyhodnocena čára F o vlnové délce 685,6 nm. Tato čára byla vybrána zejména z důvodu dostatečné citlivosti v celém rozsahu kalibrační závislosti. Spektrum znázorněné na Obr. 17, kde je námi vybraná analytická čára označena, bylo nasnímáno na vzduchu za následujících podmínek: šířka analytického bodu 300 μm , energie laserového pulzu 105 mJ a doba zpoždění mezi pulzy 8 μs .



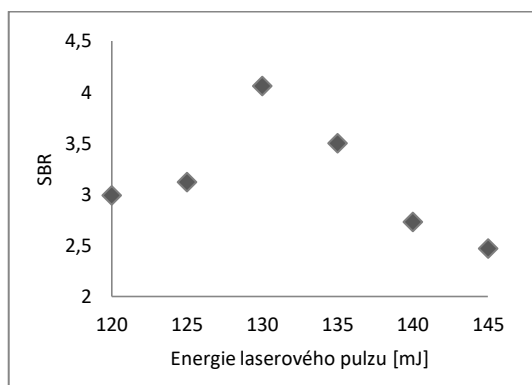
Obrázek 17 - Spektrum vzorku s obsahem F 14 hm. % ve formě tablety.

Optimalizace podmínek analýzy vzorků organických pigmentů ve formě tenké vrstvy

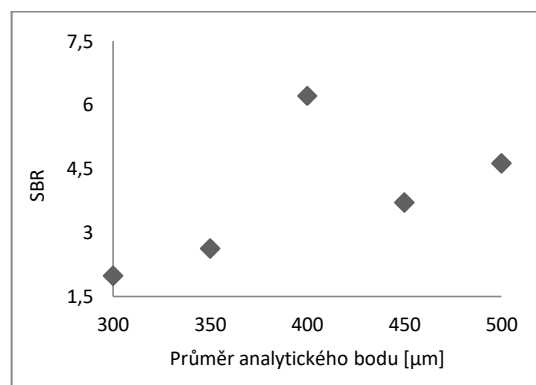
Při optimalizaci jednotlivých parametrů LIBS spektrometru byly jako optimalizační kritérium využívány hodnoty SBR (*signal to background ratio*). Výchozí podmínky optimalizace byly následující: průměr analytického bodu (průměr AP) 300 μm , energie laserového pulzu 105 mJ a zpoždění doby mezi pulzy (delay) 8 μs . Nejprve byla optimalizována hodnota energie laserového pulzu, dalším optimalizovaným parametrem byla šířka analytického bodu, a nakonec byla optimalizována doba zpoždění mezi pulzy. Grafická znázornění hodnot SBR v závislosti na hodnotě příslušného optimalizovaného parametru při analýze vzorku ve formě tenké vrstvy jsou uvedena v grafech 1 až 3. Pro analýzu vzorků v atmosféře inertního plynu bylo nutné optimalizovat průtok tohoto plynu ablační komorou. Nejprve byl optimalizován průtok helia (Graf 4) a následně byla optimalizována energie laserového pulzu v heliové atmosféře (Graf 5). Stejně tak byl optimalizován i průtok argonu (Graf 6) a energie laserového pulzu v argonové atmosféře (Graf 7). Pro analýzu v heliové a argonové atmosféře nebyly z důvodu nízkého vlivu na analýzu optimalizovány parametry doba zpoždění mezi pulzy a průměr analytického bodu. V tabulce 2 jsou uvedeny optimální hodnoty jednotlivých parametrů.

Tabulka 2 - Optimální parametry pro analýzu pigmentů ve formě tenké vrstvy

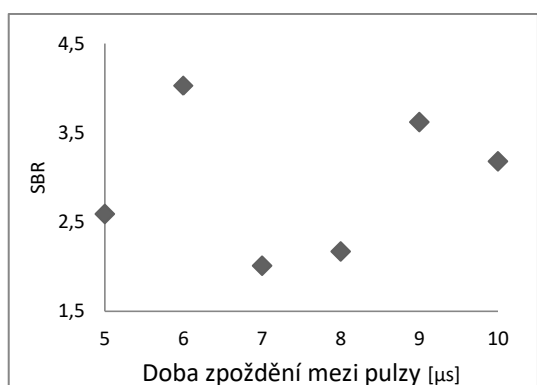
Optimalizovaný parametr	Měřicí atmosféra					
	Vzduch	SBR	Helium	SBR	Argon	SBR
Průtok plynu [$\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$]	-	-	3,7	6,16	1,3	2,56
Energie laserového pulzu [mJ]	130	4,06	140	8,89	120	2,7
Průměr analytického bodu [μm]	400	6,21	400	-	400	-
Doba zpoždění mezi pulzy [μs]	6	4,03	6	-	6	-



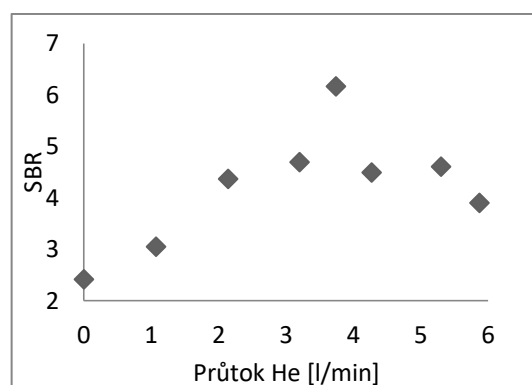
Graf 1 - Optimalizace energie pulzu



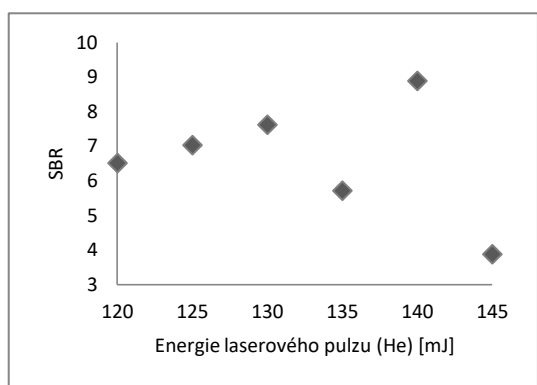
Graf 2 - Optimalizace průměru AP



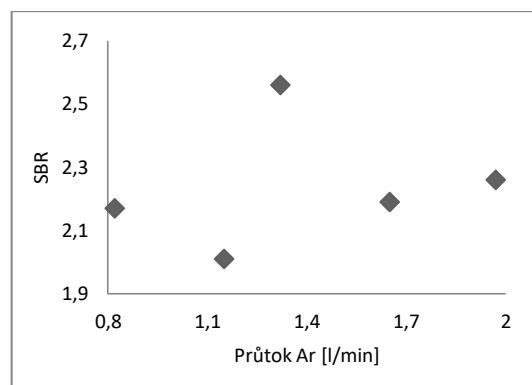
Graf 3 - Optimalizace doby zpoždění



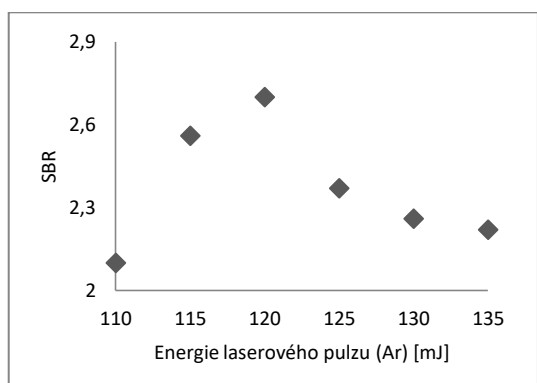
Graf 4 - Optimalizace průtoku He



Graf 5 - Optimalizace energie pulzu (He)



Graf 6 - Optimalizace průtoku Ar



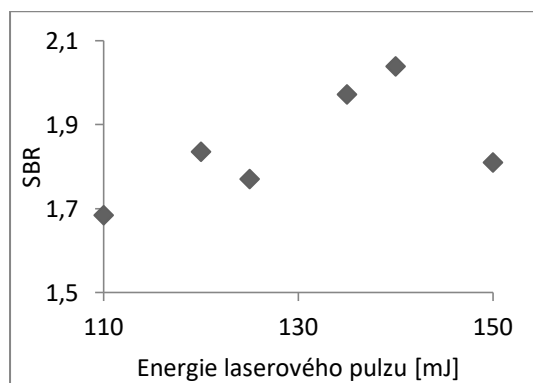
Graf 7 - Optimalizace energie pulzu (Ar)

Optimalizace podmínek analýzy vzorků organických pigmentů ve formě tablety

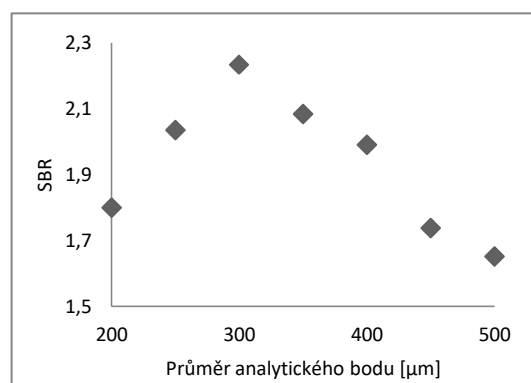
Optimalizace podmínek metody pro analýzu organických pigmentů ve formě tablet proběhla obdobně jako optimalizace pro vzorky ve formě tenké vrstvy na pásce. Výchozí podmínky optimalizace byly následující: šířka analytického bodu 300 μm , energie laserového pulzu 105 mJ a doba zpoždění mezi pulzy 8 μs . Nejprve byla optimalizována energie laserového pulzu, dále šířka analytického bodu a následně doba zpoždění mezi pulzy (Graf 8-10). Pro analýzu vzorků v atmosféře inertního plynu bylo nutné optimalizovat průtok tohoto plynu ablační komorou. Nejprve byl optimalizován průtok helia (Graf 11) a následně byla optimalizována energie laserového pulzu v heliové atmosféře (Graf 12). Stejně tak byl optimalizován i průtok argonu (Graf 13) a energie laserového pulzu v argonové atmosféře (Graf 14). Pro analýzu v heliové a argonové atmosféře nebyly z důvodu nízkého vlivu na analýzu optimalizovány parametry doba zpoždění mezi pulzy a průměr analytického bodu. V tabulce 3 jsou uvedeny optimalizované hodnoty jednotlivých parametrů.

Tabulka 3 - Optimální parametry pro analýzu pigmentů ve formě tablety

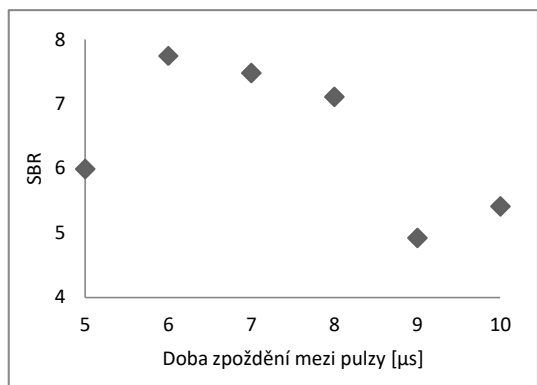
Optimalizovaný parametr	Měřicí atmosféra					
	Vzduch	SBR	Helium	SBR	Argon	SBR
Průtok plynu [$\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$]	-	-	5,3	7,42	1,5	1,84
Energie laserového pulzu [mJ]	140	2,03	135	7,98	120	2,14
Průměr analytického bodu [μm]	300	2,24	300	-	300	-
Doba zpoždění mezi pulzy [μs]	6	7,75	6	-	6	-



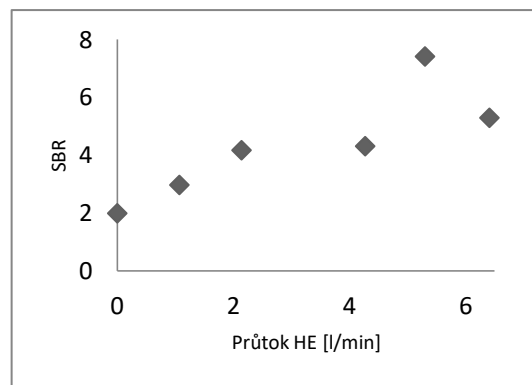
Graf 8 - Optimalizace energie pulzu



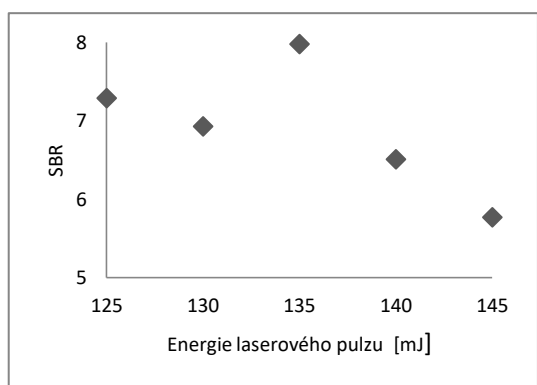
Graf 9 - Optimalizace průměru AP



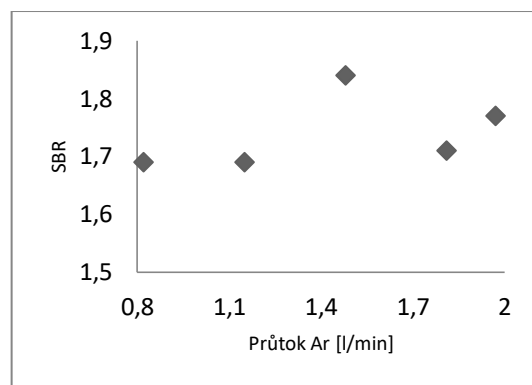
Graf 10 - Optimalizace doby zpoždění



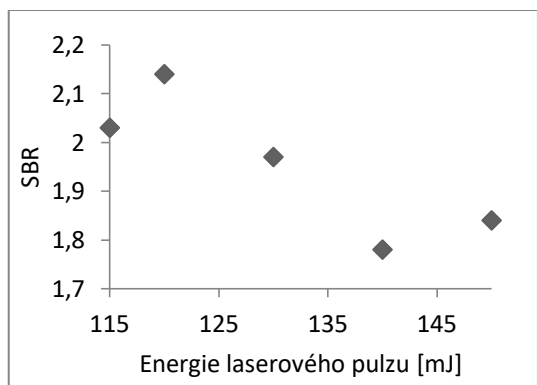
Graf 11 - Optimalizace průtoku He



Graf 12 - Optimalizace energie pulzu (He)



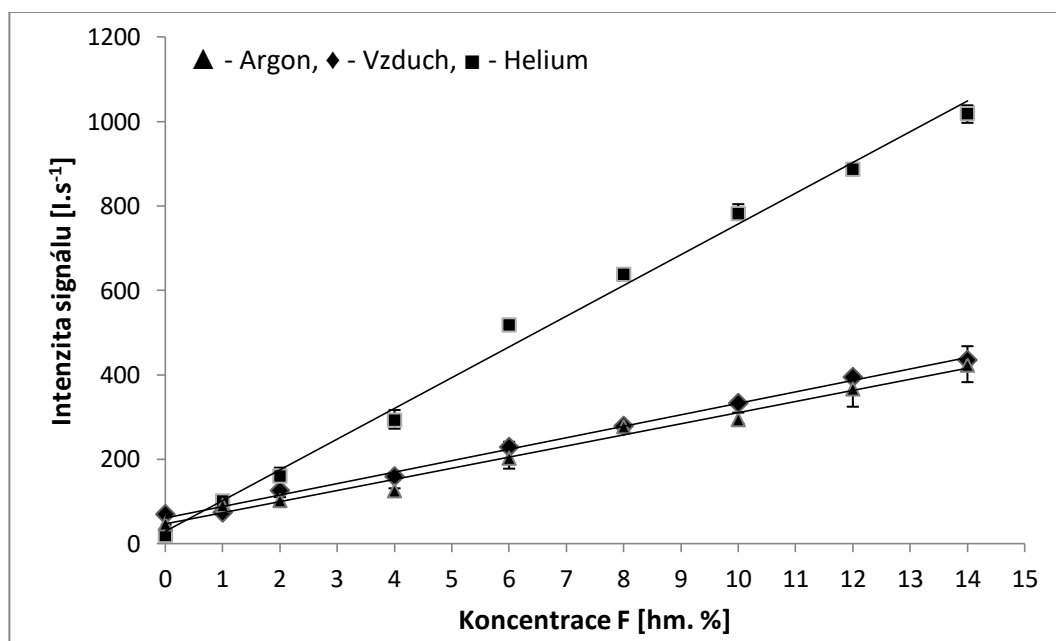
Graf 13 - Optimalizace průtoku Ar



Graf 14 - Optimalizace energie pulzu (Ar)

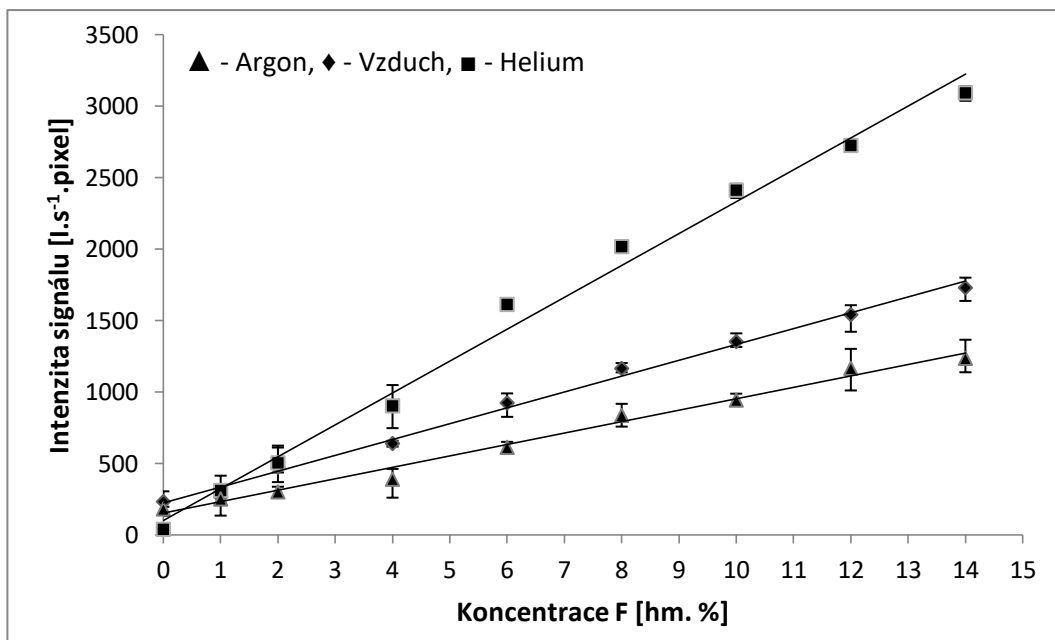
2.2.2 Kalibrace LIBS spektrometru

Za optimálních podmínek byla proměřena řada kalibračních standardů jak ve formě tenké vrstvy na pásce, tak ve formě tablet. Pro konstrukci kalibrační křivky byl každý standard proměřen třikrát. Na Grafech 15 - 18 jsou znázorněny kalibrační závislosti získané při použití standardů ve formě tenké vrstvy a ve formě tablet měřených na vzduchu a v atmosféře He či Ar, kde intenzita analytického signálu byla vyhodnocována buď jako plocha či jako výška čáry. Chybové úsečky zobrazené v grafech znázorňují míru rozptylu měření vyjádřenou směrodatnou odchylkou. Směrnice získaných křivek a jejich úseky jsou pro přehlednost shrnuty v tabulce 4. Z uvedených grafů je zřejmé, že nejvyšší citlivosti měření, z hlediska hodnoty směrnice křivky, bylo jak pro pásy, tak i pro tablety dosaženo v heliové atmosféře, citlivost měření na vzduchu a v atmosféře Ar se výrazně nelišily. Dále je zřejmé, že úprava vzorku do formy tenké vrstvy na pásce vedla k horší reprodukovatelnosti a tedy k vyšším hodnotám RSD, než jakých bylo dosahováno při analýze vzorků ve formě tablet.

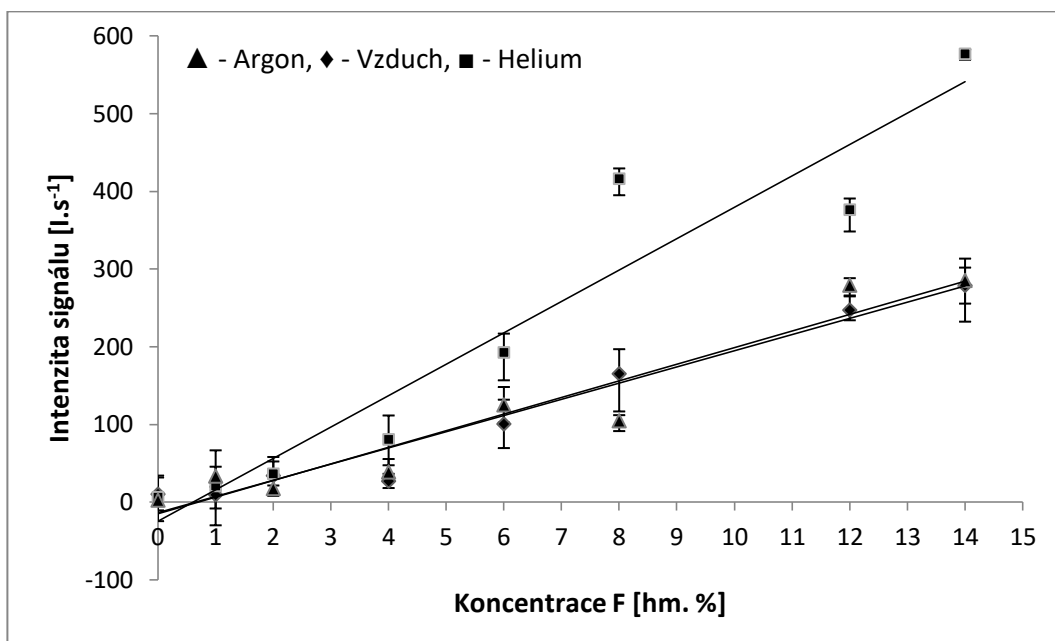


Graf 15 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tablet

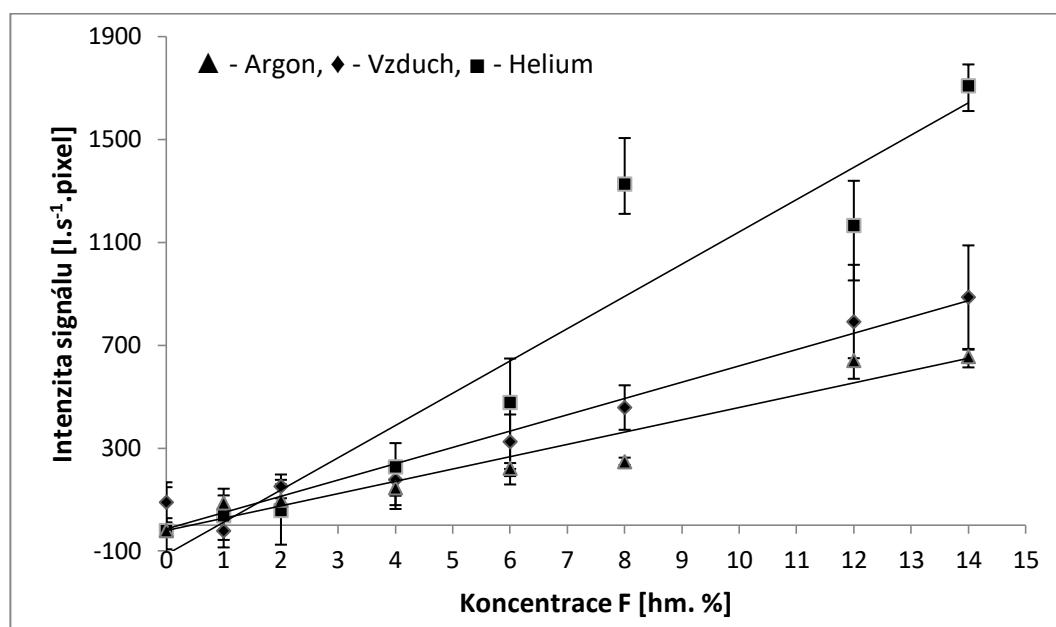
Intenzita analytické čáry F 685,6 nm vyhodnocena jako výška píku



Graf 16 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tablet
Intenzita analytické čáry F 685,6 nm vyhodnocena jako plocha píku



Graf 17 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tenké vrstvy na pásce
Intenzita analytické čáry F 685,6 nm vyhodnocena jako výška píku



Graf 18 - Kalibrační křivky získané s využitím standardů ve formě tenké vrstvy na pásce

Intenzita analytické čáry F 685,6 nm vyhodnocena jako plocha píku

V tabulce 4 jsou shrnuty statistické parametry regrese vypočtené pro jednotlivé kalibrační závislosti - a to AIC, MEP a R^2 . Parametr R^2 slouží k popisu kvality proložení naměřených dat. V případě kalibračních závislostí pro tablety daný parametr dosahoval nejvyšších hodnot při měření v He atmosféře. Pro kalibrace získané měřením standardů ve formě tenké vrstvy bylo dosahováno podstatně nižších hodnot R^2 , vliv atmosféry na hodnotu daného parametru nebyl v daném případě jednoznačný. Hodnoty R^2 byly v případě tenkovrstvých standardů systematicky vyšší, pokud byla hodnota intenzity vypočtena jako výška čáry, než když byla vypočtena jako plocha čáry. Hodnoty AIC a MEP popisují kvalitu regresního modelu a mohou sloužit k výběru nejlepšího z několika způsobů proložení naměřených dat.

V případě kalibrační závislosti pro tablety měřené v He atmosféře jsou hodnoty AIC a MEP podstatně nižší, pokud je intenzita analytické čáry vypočtena jako výška píku - daný model lze tedy považovat za vhodnější. Dále jsou v tabulce vyneseny vypočítané limity detekce (LOD) pro jednotlivé analyzované formy vzorků. Výpočtem pomocí konceptu $3\sigma/s$, kdy σ je směrodatná odchylka a s je směrnice kalibrační přímky, byly získány mnohem nižší hodnoty LOD, které při našem měření odpovídaly spíše intenzitě pozadí. Druhý způsob výpočtu LOD byl proveden pomocí statistického softwaru Adstat. V tomto případě byly

limity detekce vypočítány z konfidenčních pásů kalibračních křivek. Takto vypočítané hodnoty LOD jsou vyšší, než při využití konceptu $3\sigma/s$. Srovnatelné hodnoty LOD získané výpočtem z konfidenčních pásů a pomocí konceptu $3\sigma/s$ byly získány pro měření v heliové atmosféře.

Tabulka 4 - Parametry regrese pro jednotlivé kalibrační závislosti

		LOD [hm. % F]		Základní charakteristiky lineární regrese		
Forma vzorku	Atmosféra v ablační komoře	Konfidenční pásy	$3\sigma/s$	MEP	AIC	R^2
Tablety - výška	vzduch	1,389	0,1134	579,6	170,8	0,971
	He	0,5383	0,2238	952,3	185,6	0,993
	Ar	1,749	0,2166	698,2	176,2	0,963
Tablety - plocha	vzduch	1,114	1,950	7705	241,1	0,977
	He	0,6083	0,2185	15460	260,7	0,988
	Ar	2,001	0,6737	7674	231,9	0,958
Pásky - výška	vzduch	-	2,488	1023	166,3	0,921
	He	4,829	0,6018	4551	202,5	0,906
	Ar	4,861	3,392	1226	170,8	0,910
Pásky - plocha	vzduch	5,231	2,621	15459	230,3	0,882
	He	-	2,949	6571	266,9	0,864
	Ar	3,259	3,291	5912	208,7	0,913

Je patrné, že výsledky získané analýzou tenkých vrstev nanesených na pásce nebyly ve srovnání s výsledky analýzy tablet dostatečně reprodukovatelné. Domníváme se, že je to z důvodu velmi malého množství vzorku přeneseného do plazmatu, dále pak chováním pásky při interakci s laserem a především nedostatečnou homogenitou vzorku. Tento problém je obvykle možné řešit metodou srovnávací čáry (compare line), kdy je ve spektru vybrána silná emisní čára prvku, který je ve všech vzorcích obsažen ve stejné koncentraci a k její intenzitě je vztažena intenzita sledované analytické čáry. Nejčastěji se jedná o emisní čáry železa, uhlíku či křemíku. V případě našeho experimentu nebylo možné tento postup využít, protože v námi vybraném spektrálním okně se použitelná emisní čára nenacházela.

2.2.3 Stanovení F v neznámých vzorcích

Pro ověření aplikovatelnosti námi navržené metody stanovení F v organických pigmentech nám byly opět firmou HEUBACH Research Centre s.r.o. dodány další 2 vzorky pigmentů o neznámé koncentraci F (z jiné sady vzorků a z jiné šarže, ale postup syntézy vzorků byl stejný jako u kalibračních standardů). Vzorky byly k analýze připraveny ve formě tablet a proměřeny byly za optimálních podmínek v heliové atmosféře. Následně byla využita metoda kalibrační přímky pro výpočet koncentrace F v neznámých vzorcích. Vypočítané údaje jsou uvedeny v tabulce 5 spolu s deklarovaným obsahem F od výrobce a s vypočítanou výtěžností (R). Naměřené hodnoty koncentrací F byly v dobré shodě s teoretickými koncentracemi, jež byly vypočítány pomocí reakčního schématu znázorněného na obr. 13.

Tabulka 5 - Teoretický a naměřený obsah F v neznámých vzorcích

Označení vzorku	Teoretická koncentrace [hm. % F]	Naměřená koncentrace [hm. % F]	R [%]
Vzorek A	3,37	3,34 ± 0,3	0,967
Vzorek B	11,3	11,1 ± 0,3	0,986

2.3 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 2 - Analýza kapalin ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči

2.3.1 Problematika analýzy toxických prvků v předmětech denní potřeby

Kvantitativní analýza toxických prvků v simulovaných potních výluzích může být velmi důležitým ukazatelem škodlivosti či naopak nezávadnosti různých objektů, které přichází do styku s lidskou pokožkou. Existuje několik experimentálních metod, které mohou poskytovat představu o transportu škodlivých a toxických prvků (např. Pb, Cd, Co, Ni, atd.) do lidského potu. Pomocí těchto metod mohou být analyzovány nejen šperky, ale i dětské hračky, kosmetika a další produkty. (Carretero; et al., 2010; Connor; Magee, 2014; Haudrechy; et al., 1993; Kulthong; et al., 2010) V těchto případech se často přistupuje k vyluhovacím zkouškám, kdy se na analyzovaný objekt nechává působit nejčastěji simulovaný lidský pot. Vyluhovací experimenty jsou prováděny pomocí roztoků s přesně definovaným složením, které je často uvedeno v národních či mezinárodních nařízeních. Pro analýzu potních výluhů je nejčastěji využíváno roztokových analytických metod, jako je ICP OES, ICP MS a AAS. Výhodou jsou nízké limity detekce a rychlost analýzy, nevýhodou může být nutnost skladování velkých objemů vzorků a provozní náklady. LIBS může v tomto případě přinést několik výhod a najít své uplatnění v laboratořích, které nejsou vybaveny technikami roztokové analýzy, či v případech, kdy je vyžadováno dlouhodobé skladování vzorku. V případě kvalitně navržené metodiky je možné dosáhnout výsledků, které jsou srovnatelné s výsledky roztokových technik. Přestože komerčně dostupné LIBS spektrometry nejsou často uzpůsobeny pro přímou analýzu kapalin, lze využít postup přípravy vzorků k analýze, kdy jsou kapaliny v malém objemu aplikovány na pevné nosiče. Tento způsob přípravy vzorku minimalizuje vliv matrice, dochází ke snížení LOD, snižuje čas analýzy i potřebné množství vzorku, a především umožňuje dlouhodobé skladování vzorků.

Kadmium je toxický kov, který se poměrně snadno akumuluje v lidském těle. Působení i nízké koncentrace tohoto prvku na lidský organismus může mít za příčinu jeho ukládání v lidských tkáních, zvláště v ledvinách. Chronická otrava kadmiem může způsobit ledvinovou disfunkci, emfyzém a další komplikace. V důsledku poškození ledvin dochází k nadměrnému vyplavování vápníku a fosforu z organismu a zvyšuje se lámavost kostí. Řada autorů epidemiologických studií učinila závěr, že Cd zvyšuje riziko vzniku některých nádorů. Dle nařízení EU č. 1272/2008 o klasifikaci a označování látek a směsí, je Cd klasifikováno jako karcinogen (kat. 1B), mutagen (kat. 2), toxický pro reprodukci (kat. 2), akutně toxický

(kat. 2) a toxický pro vodní prostředí. Evropská unie vydala dokument popisující strategii omezení kadmia a oxid kademnatého (Sdělení Komise o výsledcích hodnocení rizik a strategiích omezování rizik 2008/C 149/03) na základě výsledků hodnocení rizik. Kadmium bylo klasifikováno jako bezprahový karcinogen, uvolňující se z dovážených levných šperků. Od roku 2011 je dle EU/EEA (*European Union/European Economic Area*) použití Cd při výrobě levných šperků zakázáno nařízením REACH č. 1907/2008, Annex XVII 23(10). Toto omezení bylo implementováno nařízením komise č. 494/2011 a koncentrační limit pro Cd v kovových částech šperků, bižuterie a vlasových doplňcích je stanoven na 0,01 hm. %. Šperky či jejich imitace obsahující nadlimitní množství Cd jsou na území EU/EEA zakázány od ledna 2012. Obsah Cd není omezen pouze ve špercích, ale i v dalších předmětech, jako je kosmetika, nádobí, dětské hračky, textil či plasty. V případě kontaktu lidské pokožky s předměty obsahujícími Cd byla diskutována možnost dermální expozice a vznik různých typů podráždění. Testy pro hodnocení dermální toxicity Cd byly popsány v několika publikacích. Test na perkutánní absorpci Cd byl např. proveden na vzorcích lidské kůže (Wester; et al., 1992). Cílem práce bylo stanovení množství Cd aplikovaného ve formě vodného roztoku CdCl_2 na lidskou kůži, které je absorbováno do krevní plazmy. Přes kůži bylo do krevní plazmy absorbováno pouze 0,5 - 0,6% aplikované dávky Cd. Dle autorů studie má povrchová koncentrace vliv na množství Cd difundovaného do kůže, ale přenos Cd do plazmy je na této koncentraci nezávislý. K určení množství uvolněného analytu z pevného vzorku je možné provést test vyluhování. V tomto případě se nejčastěji využívá roztok simulovaného lidského potu (viz kapitola 2.3.2).

Přístroje

Laserový optický emisní spektrometr LEA-S500

LIBS spektrometr využitý pro tento experiment je podrobně popsán v experimentální části práce v rámci plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy.

Energiově disperzní rentgenově fluorescenční spektrometr Elva

K určení povrchového složení vzorků byl využit stolní energiově disperzní rentgen-fluorescenční spektrometr Elva (Elvatech Ltd., Kiev, Ukraine). Tento spektrometr je vybaven rentgenkou s Pd anodou a termoelektricky chlazeným Si-pin detektorem PF 550 (MOXTEC, Orem, UT, USA). Excitační rentgenový paprsek prochází přes kolimátor (2 mm) a Ni filtr. Pro přesné umístění vzorku byla použita interní videokamera. Napájecí zdroj rentgenky pracoval s napětím 40 kV a proud na rentgence byl nastaven pomocí postupu automatické

optimalizace s přihlédnutím k optimálnímu zatížení detektoru v rozsahu 6000 až 6500 I.s⁻¹. Spektra byla integrována po dobu 90 s. ED XRF parametry byly optimalizovány s ohledem na citlivost měření a reprodukovatelnost.

2.3.2 Optimalizace podmínek experimentu

Příprava vyluhovacího činidla a kalibrační řady

Nejprve byly dle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví (č. 84/2001 Sb.) o hygienických požadavcích na hračky a výrobky pro děti do 3 let, připraveny dva typy umělého lidského potu. Kyselý pot byl připraven z 0,5 g C₆H₉O₂N₃ · HCl · H₂O (Sigma-Aldrich, čistota 98%), 5 g NaCl (Lach-Ner, p.a.), 2,2 g NaH₂PO₄ · 2H₂O (Lach-Ner, p.a.). Hodnota pH byla upravena pomocí 0,1 mol.l⁻¹ NaOH (Penta, p.a.) na 5,5 a roztok byl doplněn na objem 1 l destilovanou vodou. Zásaditý pot by připraven z 0,5 g C₆H₉O₂N₃ · HCl · H₂O (Sigma-Aldrich, čistota 98%), 5 g NaCl (Lach-Ner, p.a.), 5 g Na₂HPO₄ · 12 H₂O (Lach-Ner, p.a.). Hodnota pH byla upravena pomocí 0,1 mol.l⁻¹ NaOH (Penta, p.a.) na 8 a roztok byl doplněn na objem 1 l destilovanou vodou. Následně byly připraveny dvě série kalibračních standardů, v rozsahu koncentrací Cd 0 - 40 mg.l⁻¹ pro kyselý pot a 0 - 30 mg.l⁻¹ pro alkalický pot. Každý kalibrační standard byl aplikován v objemu 20 µl na pevný nosič a po usušení analyzován LIBS spektrometrem.

Příprava vzorků k analýze

Analyzované vzorky byly poskytnuty Českou inspekcí životního prostředí (ČIŽP). Vzorky pocházely ze tří inspekci dodavatelů, kteří provozují internetové obchody s levnými (tzv. „low-cost“) šperky dováženými z Asie. Celkem bylo získáno 13 vzorků, jednalo se o 3 páry náušnic, 6 přívěsků a 1 prsten. Objem vyluhovacího činidla (ml) byl vypočítán pro každý analyzovaný šperk na základě velikosti jeho plochy (cm²). 1 cm² plochy šperku odpovídal 2 ml použitého vyluhovacího činidla. Ty části vzorků, u kterých nebylo předpokládáno, že nebudou v kontaktu s pokožkou (ozdobné kameny atd.) nebyly započítávány do plochy předmětu. Před výluhem byly tyto části přelepeny odolnou lepicí páskou, aby bylo zabráněno uvolnění Cd i z těchto částí. Pro získání výluhu, byly vzorky ponořeny do odpovídajícího objemu roztoku umělého potu v plastové uzavíratelné nádobce po dobu 168 hodin a při teplotě 37 °C dle EN 1811 a č. 84/2001 Sb.(ESOs, 2011; No.84/2001) Po uplynutí doby vyluhování bylo pro LIBS analýzu odebráno 20 µl výluhu, který byl aplikován na papírový nosič. Následně bylo provedeno sušení pod lampou (50 - 60 °C) a nosiče byly analyzovány.

Optimalizace pevného nosiče

Testováno bylo několik materiálů, které byly dle našeho posouzení vhodné pro aplikaci potního výluhu. Jako nenasákavý nosič byla testována běžně dostupná hliníková a Mylarova fólie, které byly z důvodu zvýšení pevnosti podlepeny lepicí páskou. Dále byla testována řada nasákavých materiálů - filtrační papír, deska pro tenkovrstvou chromatografii, několik druhů kancelářských papírů, buničina či vatové tamponky. Ze všech testovaných materiálů byly vytvořeny pomocí kovové raznice terčíky o průměru 17 mm, na které byl aplikován kalibrační roztok se známým obsahem Cd. Výběr vhodného nosiče byl proveden na základě hodnot SBR a RSD.

Optimalizace podmínek LIBS analýzy

Spektrometr LEA-S500 zaznamenává spektrální okno o šířce 30 nm. Na základě literární rešerše byla pro měření zvolena spektrální oblast od 205 do 235 nm, která obsahovala intenzivní čáry Cd ležící na vlnových délkách 214,4 nm, 226,5 nm a 228,8 nm. Optimalizace podmínek měření byla provedena s využitím roztoku uměle připraveného potu o koncentraci Cd 10 mg.l^{-1} . Jako optimalizační kritérium byla zvolena hodnota SBR, přičemž bylo přihlíženo rovněž k hodnotě RSD. Optimalizace šířky analytického bodu byla provedena v rozsahu 200 - 500 μm v krocích po 50 μm , energie laserového pulzu byla optimalizována v rozsahu 80 - 120 mJ v krocích po 5 mJ. Následovala optimalizace šířky vstupní štěrby spektrometru, ta byla provedena v rozsahu 10 - 30 μm , v krocích po 5 μm . Další byla optimalizace parametru doby zpoždění mezi pulzy v rozsahu 0-10 μs , v krocích po 2 μs . Dále byl optimalizován počet analytických bodů (n^2 ; $n \in \mathbb{Z} \wedge \mathbb{Z} \in \langle 2; 5 \rangle$) a počet laserových pulzů na analytický bod (1-3). Po optimalizaci podmínek byly proměřeny obě kalibrační řady připravených standardů.

2.3.3 Kalibrace LIBS spektrometru

Za optimálních podmínek byly proměřeny dvě kalibrační řady - roztok Cd v uměle připraveném alkalickém a kyselém potu nanesený v optimalizovaném objemu na vhodný pevný nosič. Po proměření kalibračních standardů byly sestaveny kalibrační křivky a vyhodnoceny statistické parametry regrese (R^2 , AIC, MEP).

2.3.4 Analýza vzorků

Povrchová analýza vzorků šperků pomocí ED XRF

Před vyluhovacím procesem byl každý vzorek analyzován pomocí ED XRF v pěti různých místech rozmístěných rovnoměrně po té části vzorku, která by mohla být v kontaktu s pokožkou. Části vzorku, které obvykle do styku s lidskou kůží nepřicházejí, nebyly analyzovány. Koncentrace prvků zjištěných ve vzorcích byla vypočtena bezkalibračním modulem založeným na metodě fundamentálních parametrů.

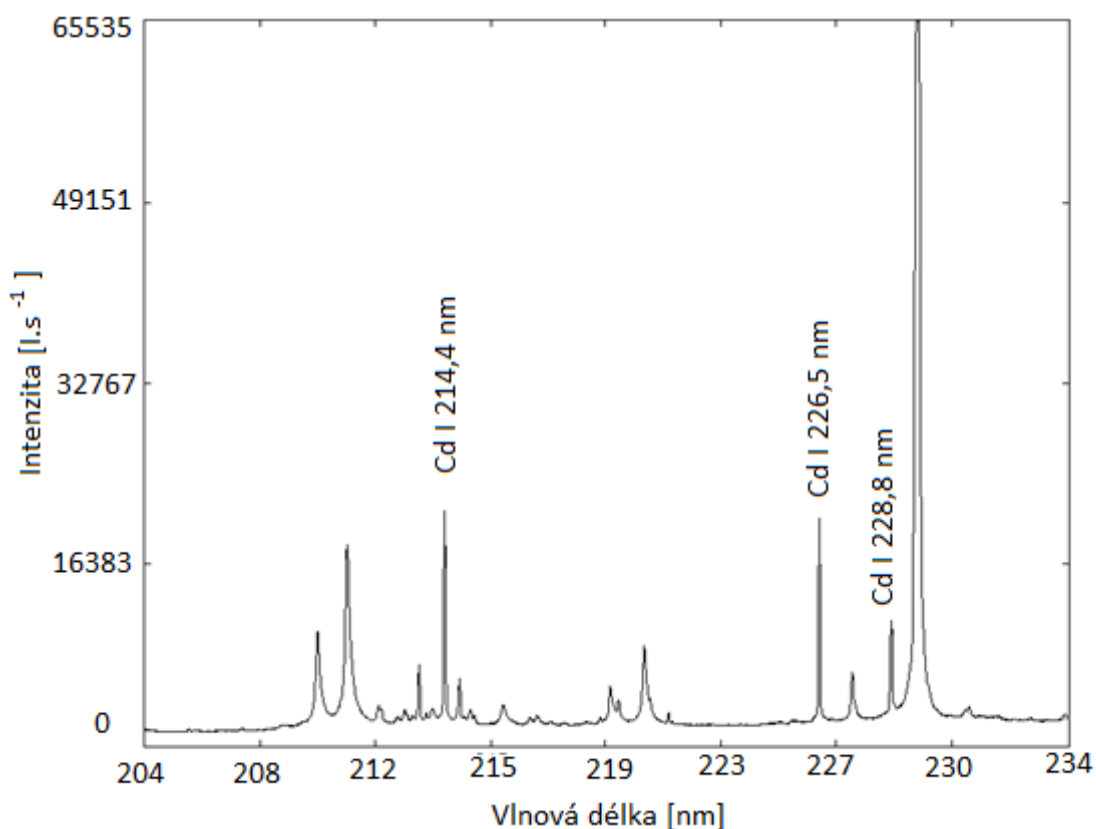
Analýza potních výluhů šperků pomocí LIBS spektrometru

Po sestrojení kalibračních závislostí pro uměle připravené roztoky alkalického a kyselého potu byly za optimalizovaných podmínek analyzovány výluhy šperků, které byly poskytnuty k analýze. Naměřené hodnoty byly standardně vyhodnoceny a sloužily jako podklad pro hodnocení rizika vzniku nekarcinogenního toxického účinku (nefrotoxicita) spojeného s expozicí Cd uvolněnému z těchto šperků.

2.4 Výsledková část - Plnění dílčích cílů 2 - Analýza kapalin ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči

2.4.1 Optimalizace podmínek experimentu

Na Obr. 18 je uvedeno ukázkové spektrum nasnímané pro simulovaný kyselý roztok potu o koncentraci $\text{Cd } 40 \text{ mg.l}^{-1}$, jenž byl nanesen na nosič ze sešitového papíru a analyzován za výchozích podmínek (energie laserového pulzu 95 mJ, průměr analytického bodu 300 μm , šířka vstupní štěrbinu 18 μm a doba zpoždění mezi pulzy 7 μs). Na tomto spektru je možné pozorovat intenzivní čáry Cd o vlnových délkách 214,4 nm, 226,5 nm a 228,8 nm.



Obrázek 18 - Emisní spektrum vzorku simulovaného kyselého potu ($\text{Cd } 40 \text{ mg.l}^{-1}$)

Výběr vhodného pevného nosiče

Výběr pevného nosiče byl proveden s využitím roztoku Cd o koncentraci 10 mg.l^{-1} . Ten byl v objemu 100 μl nanášen automatickou pipetou na terčíky o průměru 17 mm (Obr. 19 a 20), připravené z několika druhů materiálů. Ty byly následně sušeny pod infralampou a analyzovány. Analýza byla provedena za výše zmíněných výchozích podmínek a na základě hodnoty SBR byl vybrán nosič nejvhodnější pro další měření. Na grafu 19 je znázorněna hodnota SBR pro každý testovaný nosič. Jak je z grafu patrné, nejlepší hodnota SBR byla

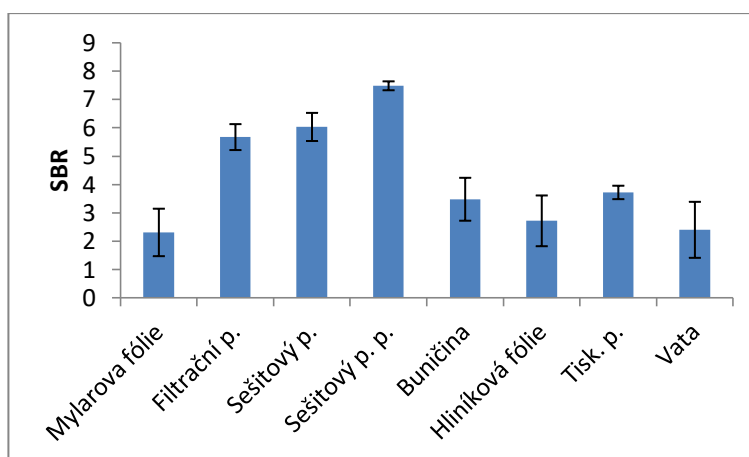
obdržena pro běžně dostupný sešitový linkovaný papír podlepený lepicí páskou pro zvýšení pevnosti (sešitový p. p.). Terčíky z tohoto materiálu byly jako pevný nosič využity pro další měření. Testované nenasákavé materiály (Mylarova fólie, hliníková fólie) v tomto případě neposkytovaly dostatečnou intenzitu signálu a vykazovaly poměrně vysoké spektrální pozadí. Vzorek aplikovaný na nenasákavý materiál neusychal v jedné vrstvě, ale koncentroval se pouze do okrajů aplikované kapky a doba sušení byla oproti ostatním materiálům výrazně vyšší. Naopak silně nasákavé materiály (vata, buničina) pohlcovaly velké množství kapaliny a pro získání signálu bylo nutné aplikovat větší množství roztoku. Zajímavé je porovnání mezi sešitovým papírem, běžně používaným papírem do tiskárny (tisk. p.) a filtračním papírem. Filtrační papír je značně nasákavý a po aplikaci roztoku se kapička okamžitě rozptýlí do velkého prostoru a dochází ke snížení intenzity signálu při měření. Vysokogramážní papír do tiskárny vykazoval vlastnosti téměř jako nenasákavý materiál a jeho využití jako pevného nosiče se neosvědčilo. Naopak běžně dostupný linkovaný sešitový papír vykazoval pro tento typ analýzy v podstatě dokonalé vlastnosti. Nasákavost materiálu byla optimální pro to, aby nedocházelo k okamžitému rozptýření kapaliny po celé ploše nosiče, ale zároveň byla zkrácena doba schnutí aplikovaných kapek a tedy nedocházelo ke koncentraci analytu pouze v jejích okrajích.



Obrázek 19 - Ilustrační obrázek raznice a přípravy jednotlivých nosičů

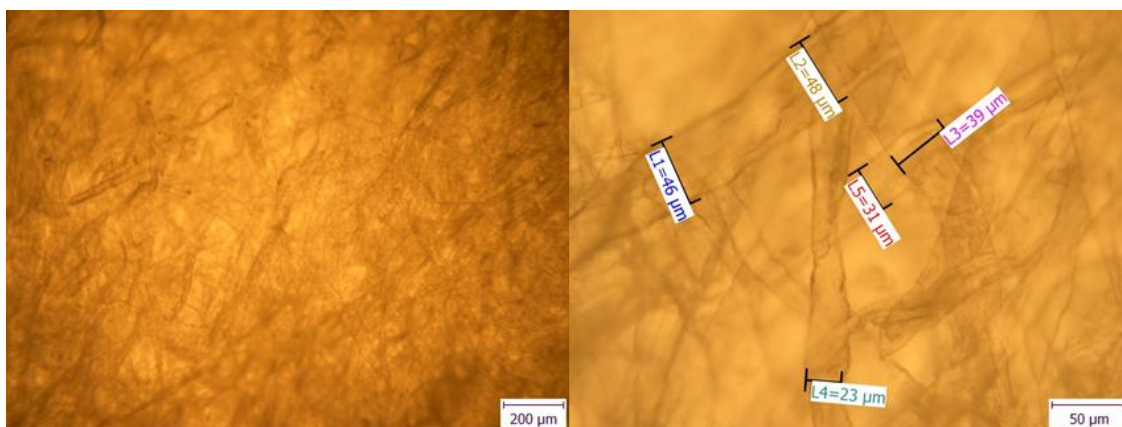


Obrázek 20 - Aplikace analyzovaného roztoku pomocí automatické pipety

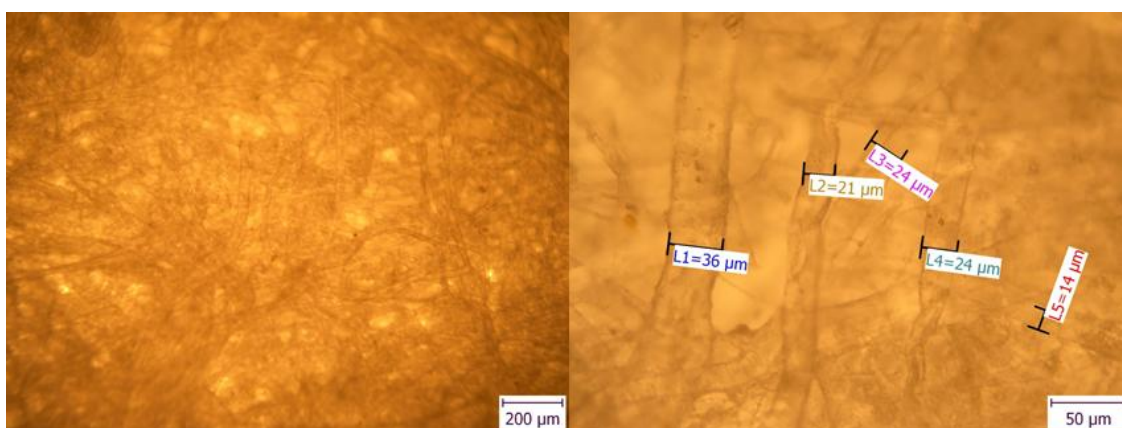


Graf 19 - Hodnota SBR pro jednotlivé typy testovaných materiálů pro nosič

Pomocí optického mikroskopu OLYMPUS BX 60 byly pořízeny snímky dvou testovaných materiálů, a to filtračního a sešitového papíru (Obr. 21 a 22). Již stonásobné zvětšení obou testovaných materiálů ukazuje rozdíly v jejich struktuře. Při pětisetnásobném zvětšení byla pomocí měřítka určena šířka vláken v materiálu, která ukazuje, že v případě filtračního papíru je porozita až 2x vyšší než u sešitového papíru. Předpokládáme, že právě tento rozdíl podporuje rychlé šíření kapaliny materiálem, což je samozřejmě při standardním využití filtračních papírů požadovaná vlastnost.



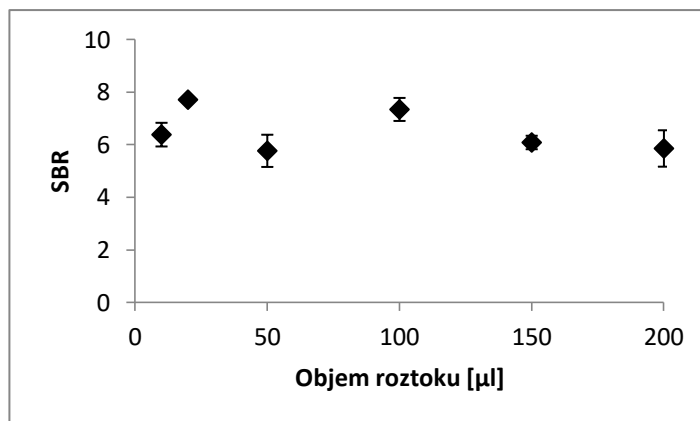
Obrázek 21 - Snímek z optického mikroskopu - filtrační papír (zvětšeno 100x a 500x)



Obrázek 22 - Snímek z optického mikroskopu - sešitový papír (zvětšeno 100x a 500x)

Optimalizace objemu vzorku aplikovaného na nosič

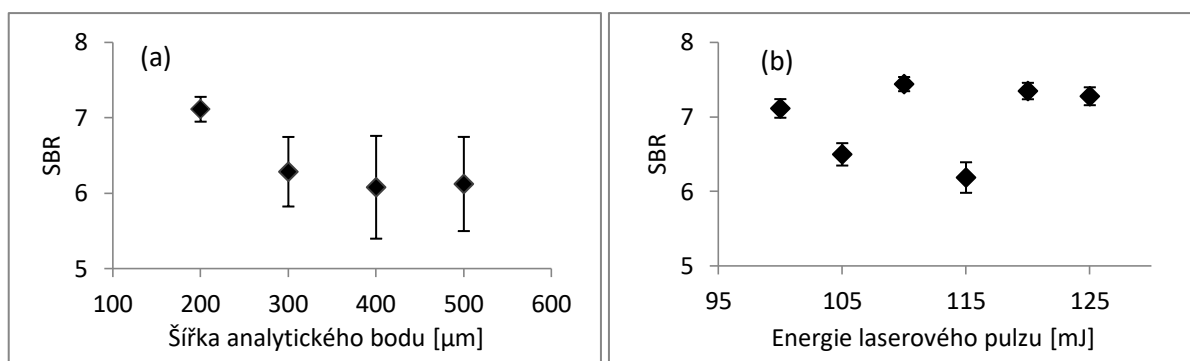
Dále bylo nutné optimalizovat i objem roztoku aplikovaného na použitý nosič. Opět byl využit roztok o koncentraci $\text{Cd } 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Testovány byly objemy 10, 20, 50, 100, 150 a 200 μl . Grafické znázornění výsledků je uvedeno na grafu 20. Podmínky analýzy byly opět nastaveny jako na počátku experimentu. Nejvyšší hodnota SBR byla zjištěna pro objem 20 μl . Tento objem byl následně využíván pro aplikaci roztoků kalibrační řady i výluhů šperků na pevný nosič. V případě aplikace nižšího objemu roztoku (10 μl), byla vytvořená kapka příliš malá a nebylo možné využít k analýze více jak jeden analytický bod. V případě aplikace větších objemů mírně klesla hodnota SBR a především se výrazně prodloužil čas schnutí a tedy i celé analýzy.



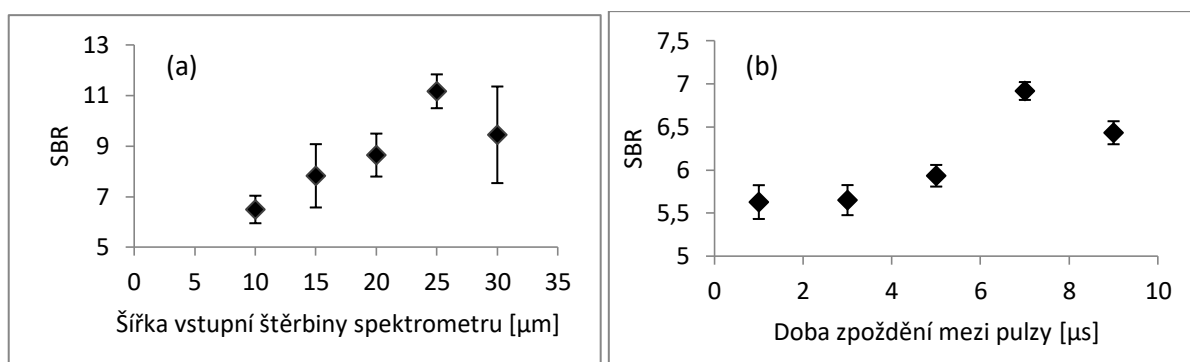
Graf 20 - Optimalizace objemu aplikovaného roztoku na nosič

Optimalizace podmínek měření LIBS spektrometru

Optimalizace jednotlivých parametrů byla opět provedena s využitím roztoku s koncentrací Cd 10 mg.l^{-1} . Výchozí podmínky byly nastaveny následovně: energie laserového pulzu 95 mJ, šířka vstupní štěrby spektrometru 18 μm a doba zpoždění mezi pulzy 7 μs . Nejvyšší hodnota SBR byla získána pro průměr 200 μm (Graf 21a). Druhým optimalizovaným parametrem byla energie laserového paprsku (Graf 21b). Nejvyšší hodnota SBR, pro tento parametr, byla zjištěna pro energii 110 mJ. Další optimalizované parametry měření byly: šířka vstupní štěrby a doba zpoždění mezi pulzy. Nejvyšší hodnota SBR pro šířku vstupní štěrby byla získána pro 25 μm (Graf 22a). Nejvyšší hodnota SBR byla získána pro nastavení doby zpoždění mezi pulzy 7 μs , jak ukazuje Graf 22b. Počet laserových impulzů na jeden analytický bod je parametr, který je limitován odolností materiálu nosiče. V případě využití papírového nosiče, jako v našem experimentu, není možné aplikovat více jak 1 laserový pulz. Počet analytických bodů je omezen rozměry ablační komory a velikostí analyzovaných vzorků. Průměr analytického bodu byl nastaven na nejmenší možnou hodnotu (200 μm); proto bylo možné využít pro analýzu jedné kapky roztoku 9 analytických bodů. Konečné podmínky pro LIBS analýzu byly nastaveny takto: průměr analytického bodu 200 μm , energie laserového paprsku 110 mJ, šířka vstupní štěrby spektrometru 25 μm , doba zpoždění mezi pulzy 7 μs , 1 laserový pulz na analytický bod a 9 analytických bodů.



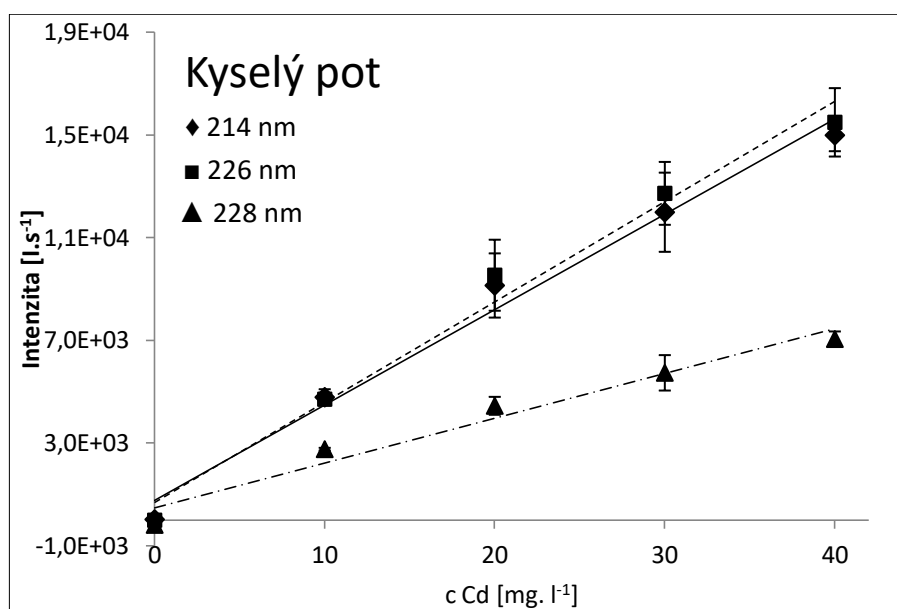
Graf 21 - Optimalizace šířky analytického bodu (a) a laserové energie (b)



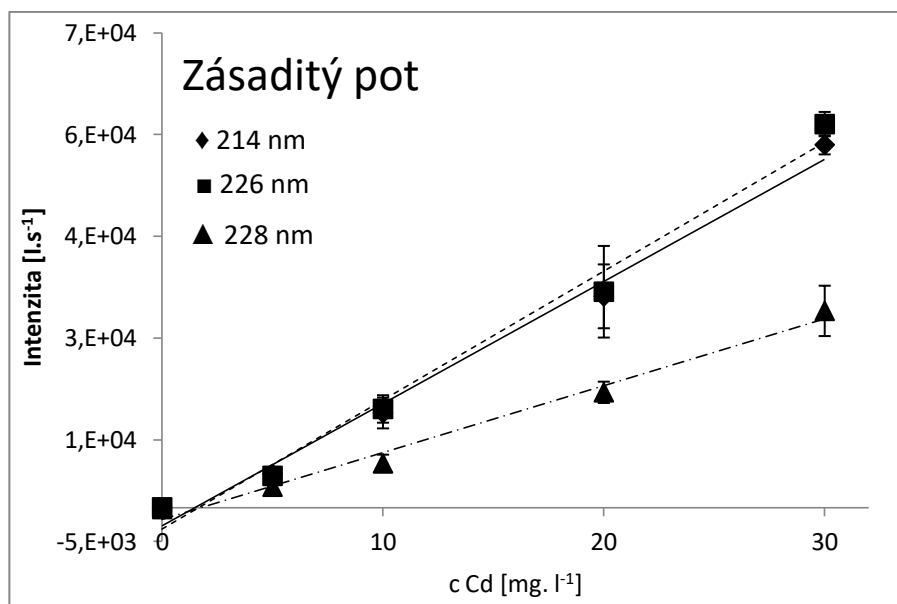
Graf 22 - Optimalizace šířky vstupní štěrby spektrometru (a); doby zpoždění mezi pulzy (b)

2.4.2 Kalibrace LIBS spektrometru

Za optimálních podmínek byly proměřeny připravené kalibrační standardy v koncentračním rozsahu Cd $0 - 30 \text{ mg.l}^{-1}$ pro alkalický a $0 - 40 \text{ mg.l}^{-1}$ pro kyselý pot. Výsledné kalibrační křivky jsou uvedeny na Grafu 23 a 24. Statistické parametry regrese jsou uvedeny v tabulce 6. Z výsledků je patrné, že sledované statistické parametry se mezi jednotlivými vlnovými délkami příliš neliší. Pro vyhodnocení koncentrace Cd v potních výluzích šperků byly zvoleny analytické čáry Cd na vlnové délce 214,4 a 226,5 nm, které poskytují téměř identické výsledky, což bylo potvrzeno také statistickými parametry AIC a MEP. Pro vyhodnocení kvality naměřených kalibračních křivek byly pro každý model vypočteny hodnoty p pomocí Fisher-Snedecorova testu. Ve všech případech byla vypočtená hodnota nižší než hladina významnosti $\alpha 0,05$ a modely mohou být posouzen jako vhodné. Mez detekce (LOD) byla stanovena pomocí konceptu $3 \sigma / s$, kde σ je směrodatná odchylka intenzity vypočtená z 36 opakovaných měření nejnižšího kalibračního standardu provedeného za optimálních podmínek a s je směrnice kalibrační křivky. Stanovená hodnota LOD pro kyselý pot je $0,08 \text{ mg.l}^{-1}$ Cd a pro alkalický pot $0,06 \text{ mg.l}^{-1}$.



Graf 23 - Kalibrační křivky sestavené pro roztok umělého kyselého potu



Graf 24 - Kalibrační křivky sestavené pro roztok umělého zásaditého potu

Tabulka 6 - Statistické parametry vypočítané pro každý kalibrační model umělého potu

Typ potu	Vlnová délka [nm]	β_1	<i>Intr</i>	R^2	<i>MEP</i>	<i>AIC</i>	<i>p hodnota</i>
Kyselý	214	370	767,3	0,986	$2,32 \cdot 10^6$	70,3	$6,8 \cdot 10^{-4}$
	226	389,3	710,3	0,985	$1,81 \cdot 10^6$	69,3	$7,3 \cdot 10^{-4}$
	228	174,5	469,3	0,964	$9,35 \cdot 10^5$	65,6	$2,9 \cdot 10^{-3}$
Zásaditý	214	1802	-2729	0,989	$1,91 \cdot 10^7$	80,1	$4,8 \cdot 10^{-4}$
	226	1901	-3204	0,985	$2,92 \cdot 10^7$	82,2	$7,5 \cdot 10^{-4}$
	228	983,9	-1730	0,987	$6,11 \cdot 10^6$	74,9	$6,1 \cdot 10^{-4}$

β_1 - směrnice křivky, *Intr* - úsek křivky, R^2 - koeficient determinace, *MEP* - střední kvadratická chyba predikce, *AIC* - Akaikovo informační kritérium, *p hodnota* - výsledek Fisher-Snedecorova testu

2.4.3 Analýza vzorků











Povrchová analýza šperků

Před vyluhováním šperků v roztocích umělého potu byla provedena analýza složení jejich povrchu pomocí ED XRF (Ilustrační fotografie analyzovaných šperků jsou uvedeny na Obr. 23). Získané výsledky ukázaly značně variabilní složení povrchu. Jak je patrné z tabulky 7, povrchová vrstva všech vzorků obsahovala Cd (13,4 - 44,6 %), Zn (0,5 - 39,7%) a Cu (25,8 - 85,4%). Měřitelný obsah Ag byl obsažen v 11 z 12 vzorků (0,2 - 1,6%); Sn byl detekován ve 4 vzorcích (0,2 - 4%) a v 8 vzorcích byl zjištěn obsah Ni (0,3 - 13,8%). Koncentrace Cd zjištěné ve vzorcích šperků za použití ED XRF výrazně překročily příslušné limity platné jak v EU (0,01%), tak v USA (0,03%) a Kanadě (0,013%).



Obrázek 23 - Ilustrační fotografie vybraných analyzovaných šperků

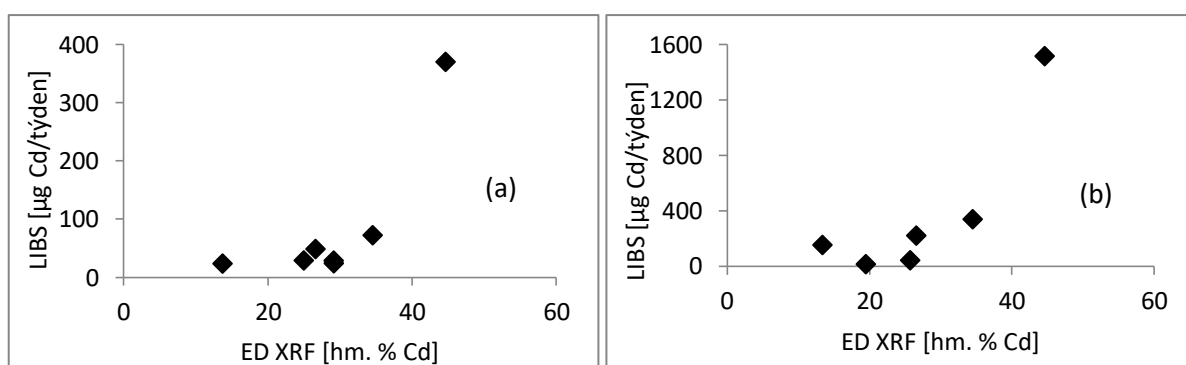
Tabulka 7 - Výsledky analýzy povrchového složení šperků pomocí ED-XRF

Vzorek	ED XRF [hm. %]						Plocha šperku [cm ²]	Váha šperku [g]	Obrázek
	Cd	Cu	Zn	Sn	Ni	Ag			
1B	44,64	35,82	5,55	0,00	13,76	0,23	6,00	5,676	
2B	34,52	25,78	39,71	0,00	0,00	0,00	9,00	10,24	
3B	26,59	46,00	25,31	0,20	0,35	1,55	4,00	2,58	
4A	24,96	64,73	8,20	0,21	0,47	1,42	3,00	4,21	
6A	29,13	57,07	7,18	0,00	0,00	6,63	1,00	3,59	
7A	13,69	65,01	20,00	0,00	0,93	0,37	6,25	4,07	
9A	29,11	38,06	32,00	0,00	0,58	0,25	9,00	4,63	
5A	25,73	64,30	9,20	0,00	0,54	0,24	12,50	4,80	
10A	19,50	52,49	26,63	0,39	0,34	0,65	4,00	2,88	
Prsten	13,40	85,41	0,54	0,15	0,49	0,00	3,00	7,09	

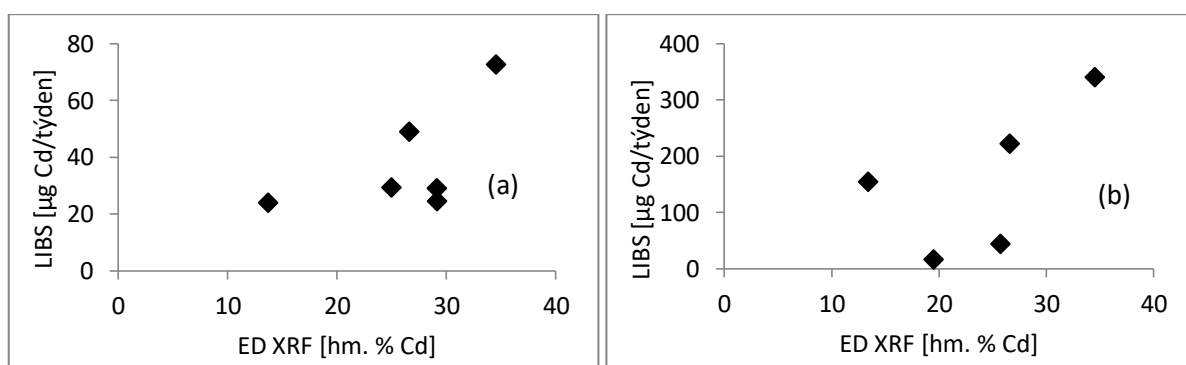
Analýza výluhů šperků pomocí LIBS spektrometrie

Po uplynutí doby vyluhování byly vzorky z roztoku potu vyjmuty a získané výluhy byly přefiltrovány. Pro analýzu pomocí LIBS spektrometru nebyly nijak dále upravovány a pro každý výluh byly připraveny 3 pevné nosiče, na které byl aplikován roztok výluhu o objemu 20 μ l. Nosiče byly sušeny pod infralampou a analyzovány za dříve optimalizovaných podmínek. V případě analýzy 3 párů náušnic (1B, 2B, 3B) byla vždy jedna z páru vyluhována v kyselém a druhá v alkalickém potu. Další vzorky byly pro vyluhování v obou typech potů vybrány náhodně. Kromě náušnic byly vyluhovány čtyři přívěšky (4A,

6A, 7A a 9A) v alkalickém potu a dva kusy přívěšků (5A a 10A) společně se vzorkem prstenu v kyselém potu. Údaje v Tab. 9 ukazují, že celkové množství Cd, které bylo uvolněno do zásaditého potu, představuje přibližně 20 % množství Cd uvolněného do kyselého potu. Celkové množství Cd uvolněné do jednotlivých typů umělého potu není jasné korelováno s obsahem Cd v povrchové vrstvě vzorku (Tab. 7). Korelační koeficienty vypočítané pro obsah Cd ve vzorcích šperků v alkalickém roztoku nebo v kyselém potu byly poměrně vysoké, ale tyto výsledky byly výrazně ovlivněny vlivným bodem 1B. Po vyloučení tohoto bodu korelační koeficienty výrazně poklesly. Grafické znázornění korelace je uvedeno na grafech 25 a 26.



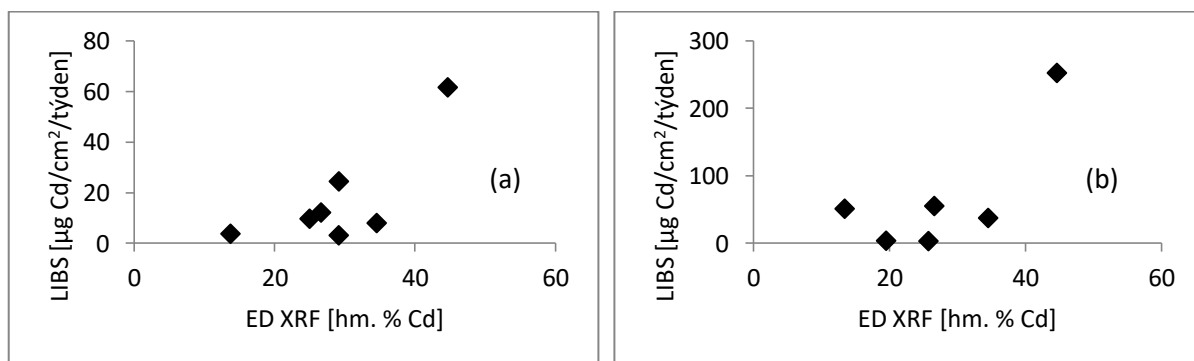
Graf 25 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy



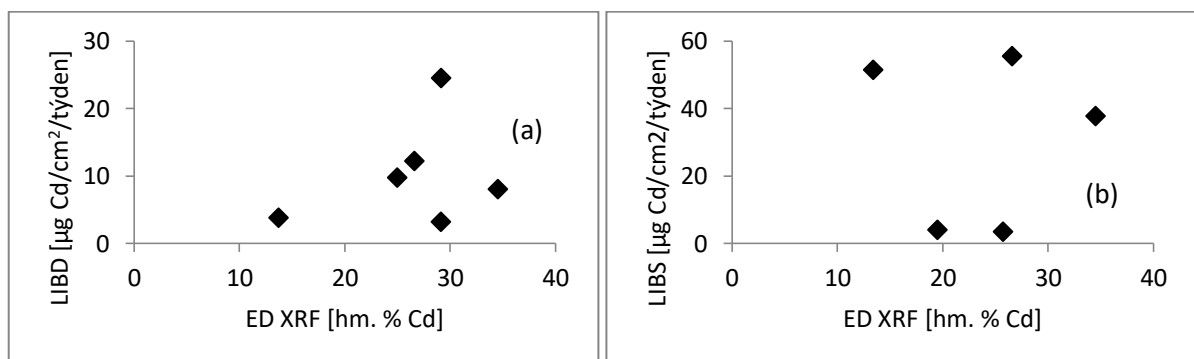
Graf 26 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy po odstranění vlivného bodu 1B

Stejně vztahy byly pozorovány i v případě, když byly vypočteny korelační koeficienty pro obsah Cd v povrchu vzorku měřený pomocí ED XRF a pro Cd uvolněné z jednoho čtverečního centimetru vzorku v průběhu jednoho týdne. Korelační koeficienty pro alkalický

a kyselý pot byly také poměrně vysoké, ale tyto výsledky byly taktéž ovlivněny vlivným bodem 1B. I v tomto případě byl pozorován prudký pokles korelačního koeficientu po vyloučení vlivného bodu 1B (Tabulka 8). Grafické znázornění korelace je uvedeno v grafech 27 a 28.



Graf 27 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/cm}^2/\text{týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy.



Graf 28 - Korelace mezi výsledky LIBS analýzy [$\mu\text{g Cd/cm}^2/\text{týden}$] zásaditých (a) a kyselých (b) potních výluhů s výsledky povrchové ED XRF analýzy po odstranění vlivného bodu 1B.

Tabulka 8 - Shrnutí jednotlivých statistických parametrů popisujících korelaci

Typ výluhu	Korelace LIBS vs. ED XRF ($\mu\text{g Cd/týden}$)		Korelace LIBS vs. ED XRF ($\mu\text{g Cd/cm}^2/\text{týden}$)	
	R^2	p	R^2	p
Kyselý	0,741	0,04	0,741	0,09
Zásaditý	0,763	0,04	0,763	0,05
Kyselý bez 1B	0,607	0,28	0,560	0,33
Zásaditý bez 1B	0,312	0,19	0,312	0,55

R^2 - korelační koeficient, p - hodnota Fisher-Snedecorova testu

2.4.4 Systémové nekarcinogenní zdravotní riziko uvolněného Cd

Referenční dávka (RfD) je regulační limit určený Agenturou pro ochranu životního prostředí Spojených států (US EPA). Tento limit představuje maximální perorální dávku toxické látky, která ani při každodenní celoživotní expozici nezvyšuje riziko vzniku žádného nekarcinogenního toxického účinku. Podle systému IRIS (*Integrated Risk Information System*) je výpočet RfD pro chronickou orální expozici založen na předpokladu zvýšené proteinurie, ke které dochází, když obsah Cd v renální kůře přesáhne hodnotu 200 $\mu\text{g Cd/g}$ vlhké tkáně. (IRIS) Denní příjem Cd ve výši 0,352 mg (nebo 0,005 mg/kg/den u dospělých vážících 70 kg) je nutný k tomu, aby koncentrace tohoto prvku v renální kůře dosáhla kritické hodnoty. Tato hodnota byla odhadnuta na základě práce (Friberg; et al., 1974). V této práci autoři pracují s předpokladem, že biologický poločas ($\Delta_{1/2}$) Cd je 19 let, v případě že expozice trvá 50 let a absorbuje se 4,5% Cd obsaženého v potravinách. US EPA předpokládá pouze 2,5% absorpci Cd z potravy a stanovila hodnotu NOAEL (hladina bez pozorovaných nežádoucích účinků) 0,01 mg Cd/kg/den. Hodnota RfD 0,001 Cd/kg/den je pak získána podělením hodnoty NOAEL faktorem nejistoty, jenž je 10. Dokument organizace US EPA sdílený v databázi IRIS bohužel neposkytuje žádné další informace týkající se použitého toxikokinetického modelu. Pokud byl využit standardní jednokompartmentový model s eliminační kinetikou prvního řádu a jednorázovým podáním (jednorázová dávka látky), popsany v práci (Amzal; et al., 2009), byla získána stejná hodnota NOAEL (0,01 mg Cd/kg/den) pro následující soubor parametrů: index gastrointestinální absorpce Cd 2,5 %, frakce absorbovaného Cd přeneseného do ledviny 33%; poměr obsahu Cd v celé ledvině a v ledvinové kůře 1,25 (v případě hmotnosti ledviny 300 g) a biologický poločas Cd $\Delta_{1/2}$ 18,3 let.

Agentura US EPA nedefinovala limit pro Cd, jež vstupuje do organismu transdermálně. Aby bylo možné posoudit zdravotní riziko Cd uvolněného z levných šperků, byla navržena aproximace dermální RfD na základě již zmíněného toxikokinetického modelu. Využity byly výše uvedené parametry, přičemž uvažovaná hodnota biologické dostupnosti Cd byla 0,6%. Vypočtená hodnota NOAEL pro dermální expozici byla 0,042 mg/kg/den. Výsledná dermální RfD byla také v tomto případě získána dělením hodnoty NOAEL faktorem nejistoty 10 a měla hodnotu 0,004 mg/kg/den. Odhadovaná dermální RfD představuje tzv. "the worst-case scenario", jelikož skutečné hodnoty biologické dostupnosti Cd po dermální expozici mohou být podstatně nižší (v různých literárních zdrojích jsou uváděny hodnoty v rozmezí 0,1-0,6%). Celkové množství Cd uvolněné z jednotlivých vzorků šperků (TRA-Total Released Amount) do kyselého nebo alkalického umělého potu během jednoho týdne

vyluhování je uvedeno v Tabulce 9. Maximální absorbovatelná denní dávka Cd (MADD) z konkrétních analyzovaných šperků byla vypočtena na základě předpokládané biologické dostupnosti Cd (0,6%) a průměrné lidské tělesné hmotnosti 70 kg, podle rovnice:

$$MADD = 0,006 - \frac{TRA}{(70 \times 7)} \quad (22)$$

Faktor 7 ve jmenovateli byl použit k převodu množství uvolněného Cd během jednoho týdne vyluhování na denní expozici. Poměr charakterizace rizika (RCR) pak byl vypočten jako stonásobný poměr MADD a RfD. Tento faktor slouží jako odhad toho, kolik procent bezpečné denní dávky Cd může být uvolněno z analyzovaného šperku. Množství Cd vyloučeného do alkalického umělého potu typicky představuje asi 0,01 až 0,02% bezpečné denní dávky, zatímco maximální RCR pro vzorek 1B je 0,1%. V případě kyselého umělého potu jsou hodnoty RCR vyšší a více variabilní (v rozmezí od 0,05% do 0,46%). Ačkoli je proces odhadovaného zdravotního rizika extrémně zjednodušený, lze usoudit, že vyhodnocená sada šperků obsahujících Cd nepředstavuje žádné vážné zdravotní riziko, pokud jde o systémové nekarcinogenní účinky.

Tabulka 9 - Celkové množství Cd uvolněné ze šperků do umělého potu a vypočítané hodnoty MADD a RCR

Vzorek	Typ potu	TRA Cd [μg/týden]	TRA Cd * [μg/cm ² /týden]	MADD [μg/kg/den]	RCR [%]
1B	Zásaditý	370,4	61,73	4,54 x 10 ⁻³	1,13 x 10 ⁻¹
2B	Zásaditý	72,70	8,078	8,90 x 10 ⁻³	2,23 x 10 ⁻²
3B	Zásaditý	49,01	12,25	6,00 x 10 ⁻⁴	1,50 x 10 ⁻²
4A	Zásaditý	29,37	9,789	3,60 x 10 ⁻⁴	8,99 x 10 ⁻³
6A	Zásaditý	24,55	24,55	3,01 x 10 ⁻⁴	7,52 x 10 ⁻³
7A	Zásaditý	24,00	3,840	2,94 x 10 ⁻⁴	7,35 x 10 ⁻³
9A	Zásaditý	29,09	3,232	3,56 x 10 ⁻⁴	8,90 x 10 ⁻³
1B	Kyselý	1517	252,9	1,86 x 10 ⁻²	4,64 x 10 ⁻¹
2B	Kyselý	340,5	37,82	4,17 x 10 ⁻³	1,04 x 10 ⁻¹
3B	Kyselý	222,3	55,59	2,72 x 10 ⁻³	6,81 x 10 ⁻²
5A	Kyselý	44,14	3,532	5,41 x 10 ⁻⁴	1,35 x 10 ⁻²
10A	Kyselý	16,36	4,089	2,00 x 10 ⁻⁴	5,01 x 10 ⁻³
Prsten	Kyselý	154,6	51,53	1,89 x 10 ⁻³	4,73 x 10 ⁻²

TRA Cd - celkové množství uvolněného Cd za 1 týden

TRA Cd* - celkové uvolněné množství Cd z 1 cm² šperku za 1 týden

MADD - maximální absorbovatelná denní dávka

RCR - Poměr charakterizace rizika

2.5 Experimentální část - Plnění dílčích cílů 3 - Analýza ultratenkých povrchových vrstev

2.5.1 Problematika analýzy povrchových vrstev

Tato část práce byla věnována vývoji rychlé a levné metody stanovení kovů, které tvoří tenkou (nm- μ m) antikorozií vrstvu plechů a mohou být obsaženy i v podkladovém materiálu. Standardní postup analýzy tohoto typu vzorků je založen na tzv. mokré cestě, kdy je povrchová vrstva odleptána působením kyseliny a výsledný roztok je následně analyzován, nejčastěji pomocí metod atomové emisní spektrometrie, jako jsou AAS, ICP OES či ICP MS (Limbeck; et al., 2016). Při tomto postupu přípravy vzorku k analýze je nevýhodou zejména využití vysoce korozivních chemikálií a časová náročnost. V případě nevhodně zvolených podmínek (volba chemikálií, volba reakčního času), může také docházet k odleptání silnější vrstvy, než je požadovaná povrchová vrstva. Tento postup pak také nepřináší žádanou informaci o homogenitě povrchové vrstvy. Běžnou nedestruktivní alternativou k výše zmíněným metodám je ED XRF. Při využití této metody může být ovšem problematické, pokud je stanovovaný analyt obsažen i v substrátu vzorku. Při analýze pak dochází k ovlivnění analytického signálu. Dalším úskalím může být nejen nedostatek vhodných kalibračních standardů, ale i potřebný koncentrační rozsah analytu.

V následující části práce je diskutována možnost využití LIBS spektrometrie pro kvantitativní analýzu Cr tvořícího několik nanometrů silnou povrchovou vrstvu na antikorozií Zn povlaku ocelových plechů s obsahem Cr. Cílem experimentu bylo navrhnout rychlou, levnou a snadnou metodu, která by byla uplatnitelná v systému kontroly kvality výrobního procesu.

Použité přístroje

Laserový optický emisní spektrometr LEA-S500

LIBS spektrometr využitý pro tento experiment je podrobně popsán v experimentální části práce v rámci plnění dílčích cílů 1 - Analýza práškového vzorku ve formě tenké vrstvy.

Vzorky ocelových plechů

Pro optimalizaci podmínek měření a kalibraci LIBS spektrometru bylo využito 5 reálných vzorků ocelových plechů s antikorozií povrchovou úpravou (označení S1 - S5). Antikorozií Zn vrstva o tloušťce 25 μ m obsahovala na svém povrchu ultratenkou vrstvu Cr

o tloušťce několika nanometrů. Tloušťka této vrstvy byla variabilní a značně závislá na postupu přípravy vzorku. Koncentrace Cr v povrchové vrstvě kalibračních standardů byla stanovena pomocí odleptávací metody v průmyslové laboratoři, která nám vzorky poskytla a pracuje v systému GLP (Good Laboratory Practice - Správná laboratorní praxe). Plechy s různou povrchovou koncentrací Cr byly nastříhány na čtverce o definované velikosti a ty byly následně ponořeny do 50 hm.% HCl po dobu 10 minut. Získaný výluh byl následně naředěn destilovanou vodou na objem 100 ml a poté analyzován pomocí AAS. Pro jednotlivé plechy byla koncentrace Cr v povrchové vrstvě stanovena v rozsahu 11-21 mg.m⁻². Další sada 4 vzorků (označení V1 - V4) byla nejprve analyzována ve stejné GLP laboratoři pomocí standardizované metody ED XRF a tyto vzorky byly následně využity pro verifikaci navržené LIBS metody. V tabulce 10 jsou uvedeny koncentrace Cr pro jednotlivé vzorky plechů.

Tabulka 10 - Koncentrace Cr v povrchové vrstvě analyzovaných vzorků

Označení vzorku	Plošná koncentrace Cr
	[mg.m ⁻²]
S1	11
S2	13
S3	17
S4	20
S5	21

2.5.2 Optimalizace podmínek experimentu

Příprava vzorků k LIBS analýze

Vzorky plechů byly dodány ve formě plátů o velikosti zhruba 21 x 30 cm, proto byly pro LIBS analýzu pouze nastříhány na menší rozměry tak, aby je bylo možné umístit do ablační komory. Následně byly bez další úpravy analyzovány.

Optimalizace podmínek analýzy pomocí LIBS spektrometru

Na základě literární rešerše byla pro měření vybrána spektrální oblast od 410 do 440 nm, která obsahovala několik intenzivních čar Cr ležících na vlnových délkách 425,43 nm, 427,48 nm a 428,97 nm. Optimalizace podmínek LIBS spektrometru byla provedena s využitím postupu popsaneho v publikaci (Kratohvil; et al., 2014), ve které se autoři zabývali analýzou ultratenkých vrstev titanu na ocelovém plechu. Optimalizovány byly

následující parametry - šířka analytického bodu (200; 400 a 500 μm), energie laserového paprsku (110-140 mJ, krok 5 mJ) a posuzován byl vliv SP/DP (jdnopulzní/dvoupulzní) režimu LIBS spektrometru. Na LIBS spektrometru byly fixně nastaveny parametry šířka vstupní štěrbinu spektrometru (slit), doba zpoždění snímání signálu, počet analytických bodů a počet akumulovaných pulzů. Tyto parametry dále optimalizovány nebyly, jejich nastavení je dáno charakterem vzorku a nelze je měnit v širším rozsahu. Následně byla opakovaně proměřena sada kalibračních standardů za různých analytických podmínek a byly sestaveny závislosti koncentrace - intenzita analytické čáry (tzv. c-I křivky). c-I křivka s nejlepšími parametry pak byla použita jako kalibrační závislost a sloužila pro hodnocení analýzy neznámých vzorků.

2.5.3 Kalibrace LIBS spektrometru

Jako kalibrační křivka byla využita c-I křivka, která poskytovala nejlepší hodnoty sledovaných statistických parametrů regrese (R^2 , MEP, AIC). Po kalibraci LIBS spektrometru byla provedena analýza vzorků s neznámým obsahem Cr.

2.5.4 Inspekce ablačních kráterů

Po standardně provedené LIBS analýze byla následně provedena i analýza vzniklých ablačních kráterů a jejich okolí, jež byla zaměřena na stanovení rozsahu tzv. tepelně ovlivněné zóny (HAZ - The heat affected zone). Tato oblast vzniká okolo místa interakce laseru se vzorkem. V této oblasti dochází k prudkému zahřátí materiálu vzorku, kterým mohou být iniciovány změny ve struktuře vzorku. Vlastnosti HAZ oblasti byly studovány pomocí optického mikroskopu Olympus BX 60 a topologický popis ablačních kráterů a oblasti HAZ byl dále proveden s využitím mechanického profilometru (SCC-01, RMI s.r.o., Česká republika).

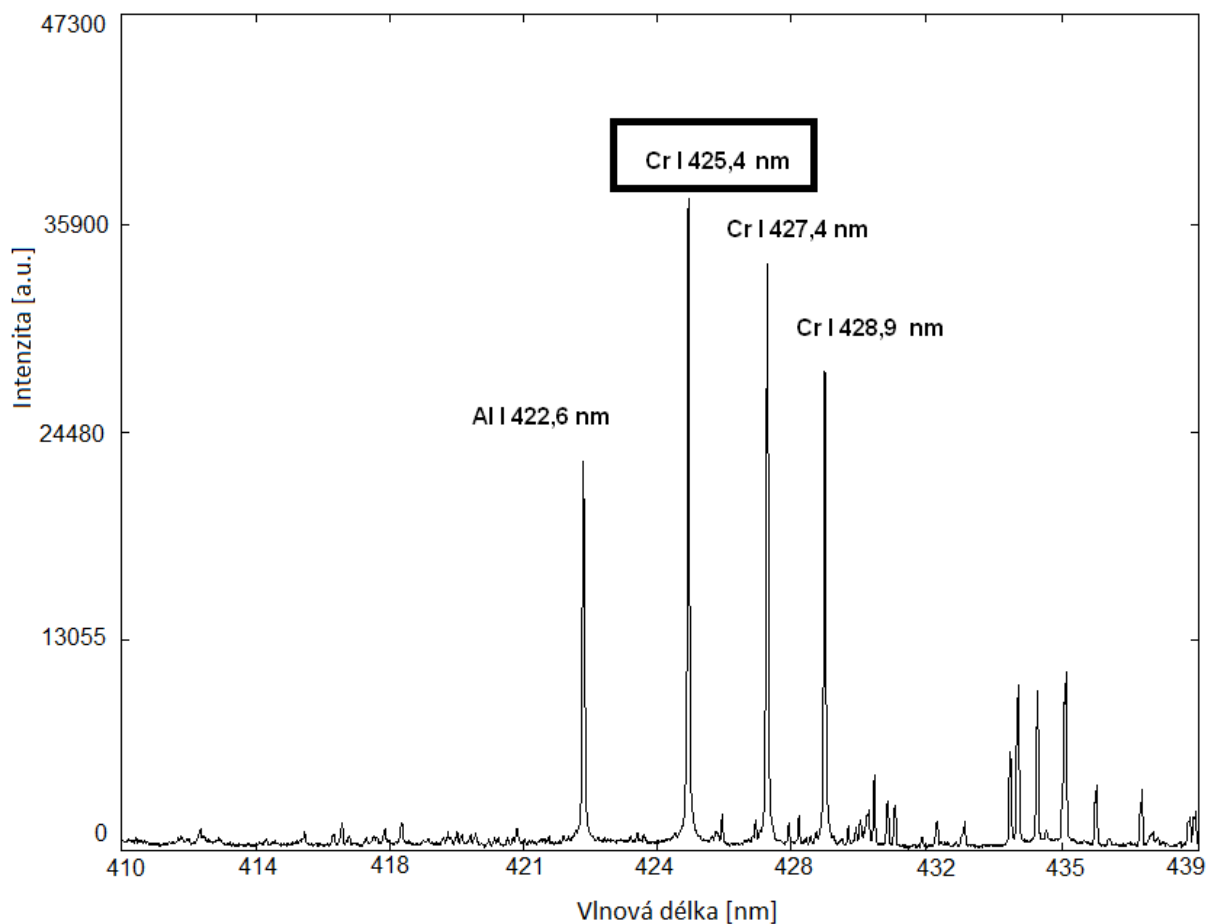
2.5.5 Analýza vzorků

Po provedené kalibraci LIBS spektrometru bylo přistoupeno k analýze 4 vzorků, které byly dodány stejnou laboratoří pracující v systému GLP, která prováděla oplachovou analýzu vzorků využitých jako kalibrační standardy. Tyto vzorky byly opatřeny jiným typem povrchové úpravy, než kalibrační standardy (odlišný způsob nanášení antikorozií vrstvy), ovšem chemické složení vrstev bylo u obou typů vzorků podobné.

2.6 Výsledková část - Plnění dílčích cílů 3 - Analýza ultratenkých povrchových vrstev

2.6.1 Optimalizace parametrů experimentu

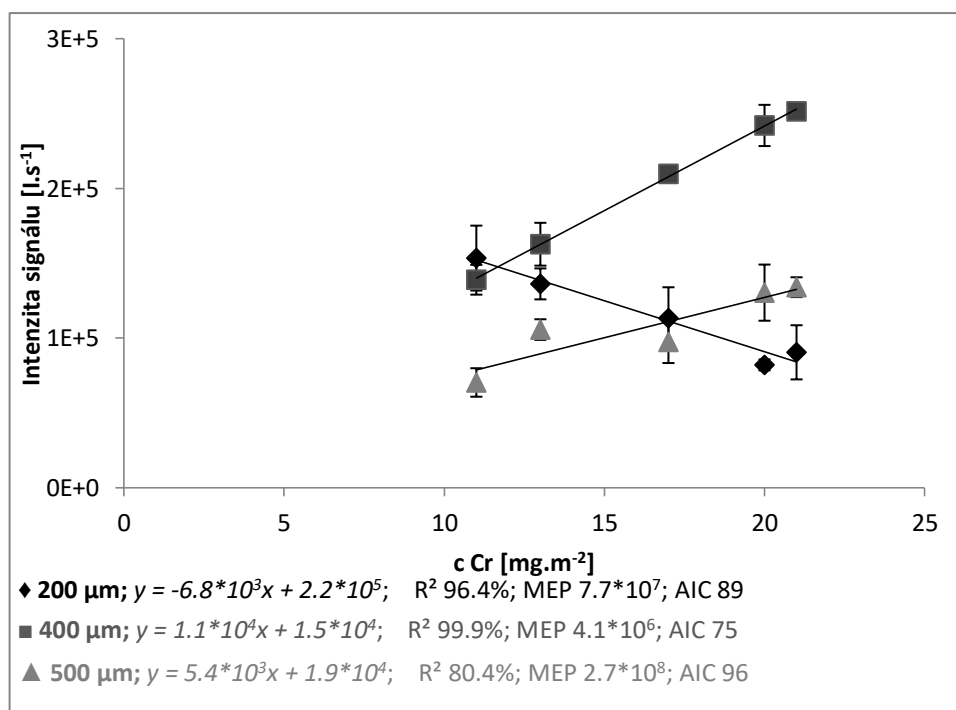
Pro analytické účely byla využita oblast vlnových délek 410 - 445 nm, na Obr. 24 je uvedeno spektrum kalibračního standardu S5 (koncentrace Cr 21 mg.m⁻²) nasnímáno za optimálních podmínek. Tato oblast obsahovala několik intenzivních čar Cr. Výběr vhodné analytické čáry byl proveden s využitím spekter získaných analýzou vzorku plechu s deklarovanou koncentrací 21 mg.m⁻². Experimentální podmínky při snímání spekter daného vzorku byly následující - SP režim LIBS spektrometru, energie laserového pulzu 120 mJ, průměr analytického bodu 300 μm, šířka vstupní štěrbiny 21 μm, počet pulzů na jeden analytický bod 1 a počet analytických bodů 4. Jako nejvhodnější byla vybrána emisní čára ležící na vlnové délce 425,4 nm. Tato emisní čára Cr poskytovala požadovanou intenzitu i citlivost a byla využita pro další měření.



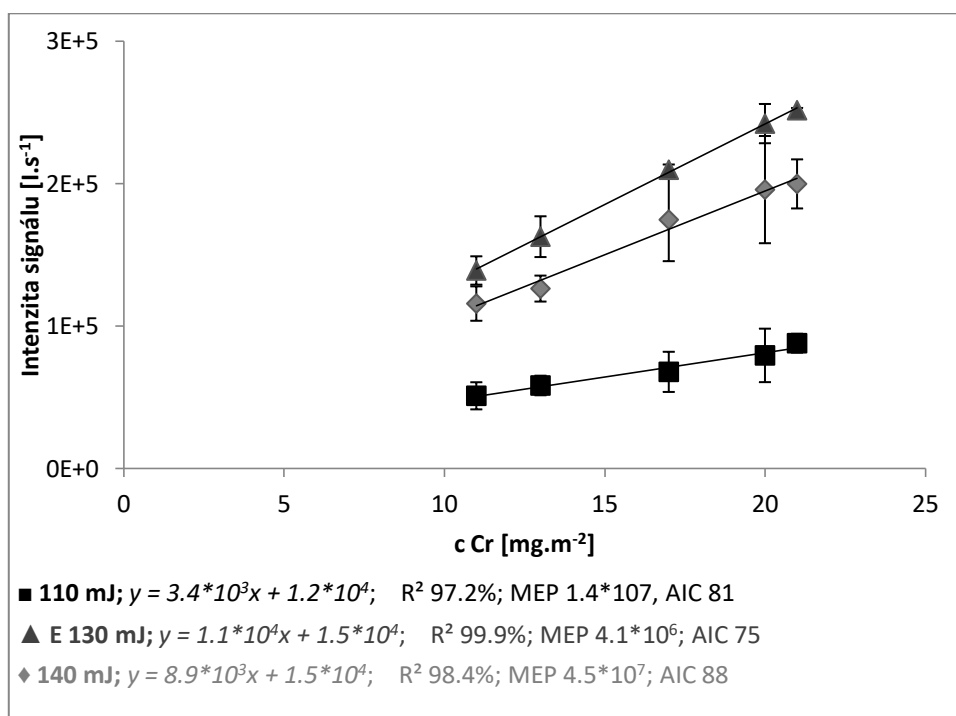
Obrázek 24 - Oblast použitelných analytických čar Cr,

2.6.2 Optimalizace podmínek LIBS analýzy

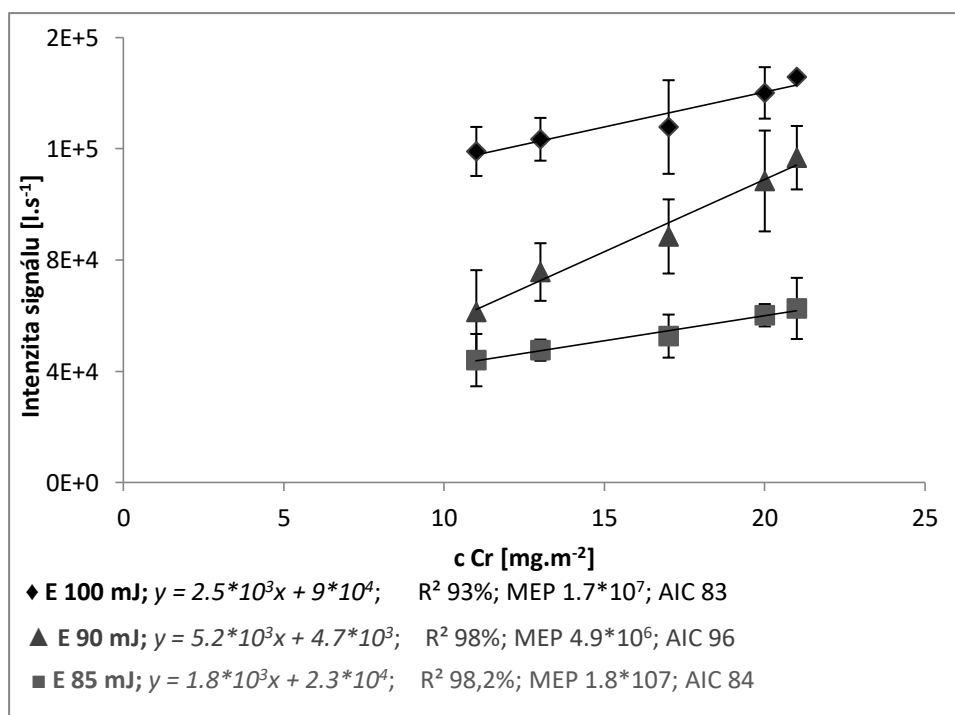
Podmínky analýzy byly v případě tohoto experimentu optimalizovány na základě statistických parametrů regrese c-I křivek, které byly naměřeny za různých experimentálních podmínek. Vždy byl optimalizován pouze jeden parametr a následně byl posuzován jeho vliv na směrnici sestrojené křivky a další statistické parametry (R^2 , AIC, MEP). Fixní parametry experimentu byly nastaveny následovně: šířka vstupní štěrby spektrometru 21 μm , doba zpoždění mezi pulzy v případě DP režimu 7 μs , počet analytických bodů 4 a počet pulzů na jeden analytický bod 1. Na základě výsledků našich předchozích experimentů bylo očekáváno, že nastavení průměru analytického bodu bude mít nejsilnější vliv na tvar c-I křivky. Průměr byl postupně nastaven na hodnoty 200, 400 a 500 μm . Pro každou hodnotu průměru analytického bodu byla proměřena celá koncentrační řada vzorků v SP režimu LIBS spektrometru, s energií laseru 130 mJ. Jak je patrné z grafu 29, c-I křivka získaná při šířce analytického bodu 200 μm a odpovídající hustotě energie (fluence) 413,8 J/cm^2 , vykazuje oproti ostatním křivkám negativní sklon. Diskuzi příčiny tohoto jevu bude věnována samostatná kapitola. Při využití většího průměru analytického bodu (400 a 500 μm) a současně nižší fluence (103,5 a 66,2 $\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$) měly získané c-I křivky standardní průběh, kdy se zvyšující se koncentrací se současně zvyšuje i naměřená intenzita analytické čáry. Nejlepší statistické parametry regrese byly získány při průměru analytického bodu 400 μm . Tato hodnota byla použita pro následné optimalizační kroky. Následující fáze optimalizačního procesu byla věnována výběru optimální hodnoty energie laserového pulzu a to v SP nebo DP režimu. V SP režimu byly testovány energie laserového pulzu 110, 130 a 140 mJ. V DP režimu byly testovány energie laserového pulzu 85, 90 a 100 mJ. Dolní hranice vybraných rozsahů odpovídají nejnižším hodnotám, pro které došlo k ablaci vzorku a vzniku mikroplazmatu. Horní hodnoty představují energie, které by v případě překročení vedly k nasycení detektoru. V grafu 30 jsou uvedeny naměřené c-I křivky pro SP režim a v grafu 31 c-I křivky naměřené pro DP režim. Nejlepší statistické parametry regrese a nejvyšší hodnoty směrnice křivky byly získány pro režim SP s energií pulzu 130 mJ. Optimální parametry byly tedy následující: šířka analytického bodu 400 μm a SP režim LIBS spektrometru s využitím energie laserového pulzu 130 mJ. Každý bod ve vynesných c-I křivkách je průměrem z 12 měření každého kalibračního standardu. Chybové úsečky zobrazují vypočítanou směrodatnou odchylku z 12 měření každého kalibračního standardu.



Graf 29 - c-I křivky naměřené při variabilní šířce analytického bodu (SP režim)



Graf 30 - c-I křivky naměřené při variabilní hodnotě energie laserového paprsku (SP režim)



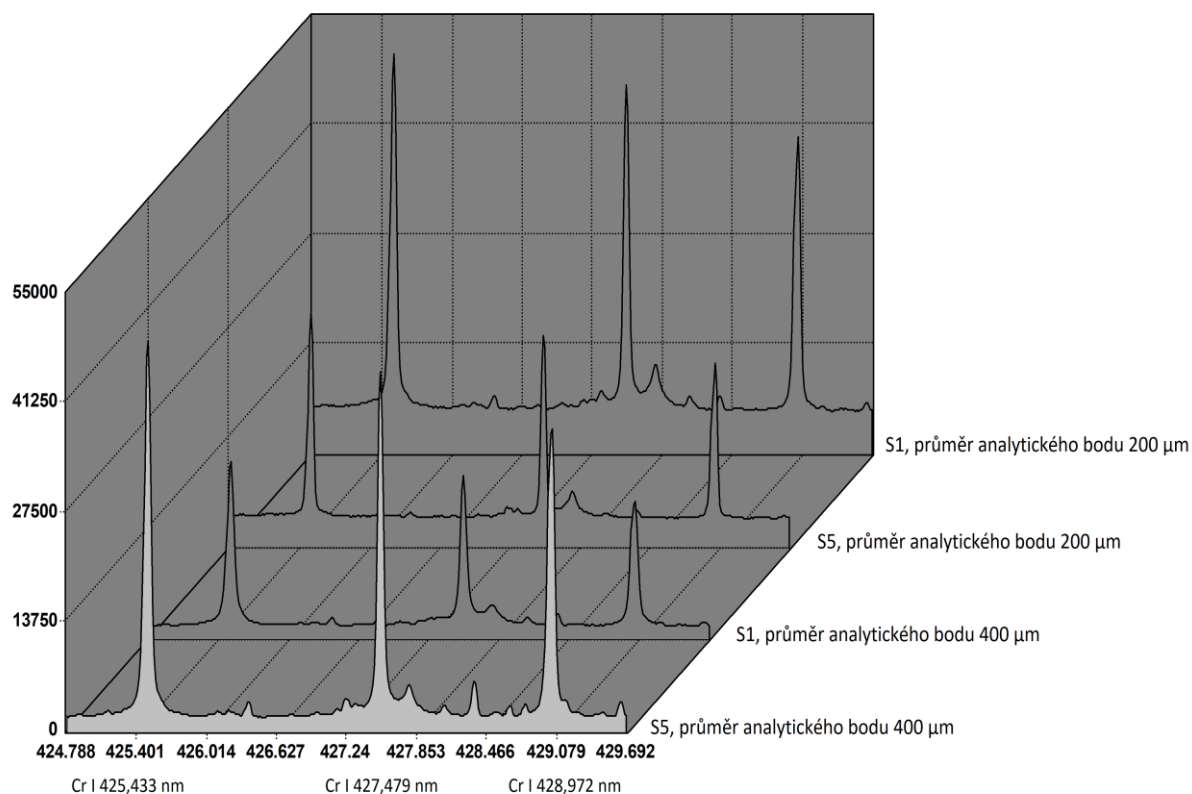
Graf 31 - c-I křivky naměřené při variabilní hodnotě energie laserového paprsku (DP režim)

2.6.2 Kalibrace LIBS spektrometru

Parametry LIBS spektrometru použité pro kalibraci přístroje jsou uvedeny v předchozí kapitole. Kalibrační závislost vykazuje dobrou linearitu a hodnoty RSD se v daném případě pohybovaly v rozsahu 0,6 - 8,7 %. Limita detekce (LOD) byla určena podle vztahu $3 \sigma / s$, kde σ představuje směrodatnou odchylku intenzity vypočtenou z 12 opakovaných měření nejnižšího kalibračního vzorku provedeného za optimálních podmínek a s je směrnice kalibrační křivky. Vypočtená hodnota LOD byla $0,7 \text{ mg.m}^{-2}$. Z technologického hlediska nemá kvantitativní analýza Cr v koncentracích pod $0,7 \text{ mg.m}^{-2}$ u takového typu vzorků žádný praktický význam a metrologické parametry navrhované metody LIBS jsou plně uspokojivé pro využití v praxi.

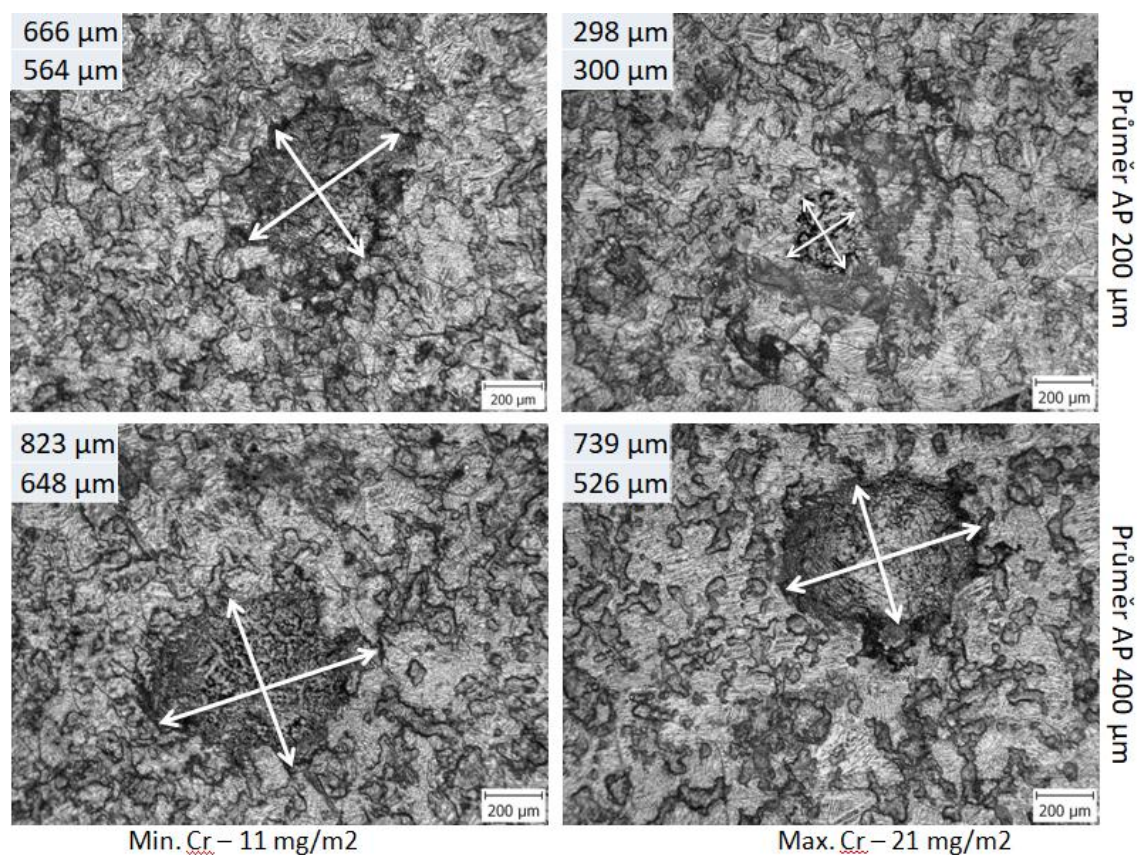
2.6.3 Inspekce ablačních kráterů

Jak bylo zmíněno v předchozí části, při nastavení průměru analytického bodu na hodnotu $200 \mu\text{m}$ (s fluencí $413,8 \text{ J.cm}^{-2}$), byla sestrojena c-I křivka s negativním sklonem. Nejvyšší hodnoty intenzit byly měřeny pro vzorky s nejnižším obsahem analytu a naopak (Graf 32). Tento jev lze vysvětlit vztahem mezi obsahem Cr v povrchové vrstvě a celkovým množstvím ablatovaného materiálu, které silně závisí na nastavené hodnotě průměru analytického bodu.



Graf 32 - Srovnání spektra měřeného s použitím ohniskové vzdálenosti 200 a 400 μm (režim SP, 130 mJ) pro vzorek s nejvyšším (S5) a nejnižší koncentrací Cr (S1)

Pro ověření uvedeného předpokladu byla provedena inspekce vzniklých ablačních kráterů pomocí optické mikroskopie a mechanického profilometru. Na získaných mikroskopických snímcích (Obr. 25) vzorků o koncentraci Cr 11 a 21 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ jsou patrné ostré okraje kruhových kráterů o průměru vyšším, než je nastavená hodnota (nastavený průměr AP 200 a 400 μm) a nepravidelné tmavé oblasti představující tzv. tepelně ovlivněné zóny (HAZ). Velikost oblasti HAZ byla určena pomocí nejdelší části zóny a kolmé čáry vynesené na ní. Naměřené hodnoty těchto oblastí jsou uvedeny v levém horním rohu každého mikroskopického obrázku.



Obrázek 25 - Snímek z optického mikroskopu pro plechy s koncentrací 11 a 21 mg.m⁻²

V případě, že je průměr analytického bodu nastaven na hodnotu 400 µm (fluence 103,5 J.cm⁻²), jsou u vzorků s odlišným obsahem Cr v povrchové vrstvě rozměry HAZ podobné a dá se říci, že velikost oblasti HAZ je v tomto případě na koncentraci Cr nezávislá. V případě průměru analytického bodu nastaveného na 200 µm je velikost oblasti HAZ závislá na koncentraci Cr na povrchu analyzovaného vzorku. Průměr oblasti HAZ pro vzorek s koncentrací Cr 11 mg.m⁻² byl přibližně 600 µm a ve vzorku s koncentrací Cr 21 mg.m⁻² 300 µm. Hodnoty ekvivalentního průměru R_{eq} (průměr kruhu se stejnou povrchovou plochou, jenž odpovídá oblasti HAZ) jsou shrnuty v tabulce 11. Plochy HAZ byly vypočteny pomocí programu Gwyddion.(Necas; Klapetek, 2012) Stejně jako v případě sledování velikosti oblasti HAZ, v případě nastavení průměru analytického bodu na hodnotu 400 µm zůstalo R_{eq} téměř konstantní, přičemž jeho hodnota klesala se zvyšující se koncentrací Cr v povrchové vrstvě, pokud byly použity analytické body s průměrem 200 µm. Výsledky z optického mikroskopu tedy potvrzují naši domněnku, že záporná směrnice c-I křivky při šířce spotu 200 µm je zapříčiněna změnou množství ablatovaného materiálu vzorku. Při zachování energie a zmenšení průměru analytického bodu je laserový paprsek fokusován na menší plochu

a dochází k ablaci materiálu i pod povrchovou vrstvou. Tím dochází k naředění ablatované povrchové vrstvy vlastním materiálem plechu a ke zmíněnému zvratu křivky. Se snižující se koncentrací Cr je povrchová vrstva plechu homogenizovanější a ředění vznikající plazmy není tak výrazné, protože homogenizovaný povrch lépe pohltí laserový paprsek a nedochází k jeho interakci s materiálem pod povrchem.

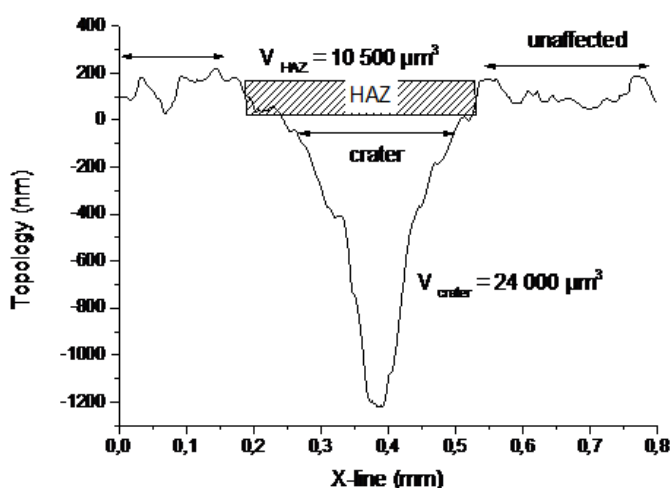
Profily HAZ a krátery ablace byly kromě mikroskopu studovány i pomocí mechanického profilometru. Typické profily jsou znázorněny na Obr. 26 a 27, kde je zachycena také výrazná hrubost samotného materiálu na místech mimo oblast HAZ. Plocha oblasti HAZ se na profilu projeví skokovým snížením topologie o 100 - 150 nm bez závislosti na nastavení LIBS spektrometru a typu vzorku. Profil samotného kráteru je již ale závislý jak na nastavení přístroje, tak i tloušťce analyzované vrstvy. Pro průměr analytického bodu 200 μm jsou hloubky kráterů kladně korelovány s koncentrací Cr. Kráter hloubky 1200 nm byl pro nejvyšší koncentraci Cr 21 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$, zatímco při nejnižší koncentraci 11 $\text{mg}\cdot\text{m}^{-2}$ bylo pouze 800 nm. Mění se také profil kráteru, který se zvýšením koncentrace Cr zužuje a stává se symetričtější. Vztah mezi ablatovaným objemem vzorku a koncentrací Cr má ovšem inverzní charakter. Objem (V_{total}) byl proto počítán jako suma dvou částí a to objemu HAZ (objem válce s poloměrem R_{eq} stanovených z optické mikroskopie a výškou 100 - 150 nm dle odečtu z jednotlivých profilů - V_{HAZ}) a objemu kráteru vytvořeného pod plochou HAZ (získaný rotací podél osy - $V_{\text{kráter}}$). Pro vzorek s minimálním obsahem Cr je objem určen jako:

$$V_{\text{total}} = V_{\text{HAZ}} + V_{\text{kráter}} = 3,14 * R_{\text{eq}}^2 * h_{\text{HAZ}} + V_{\text{kráter}} \quad (23)$$

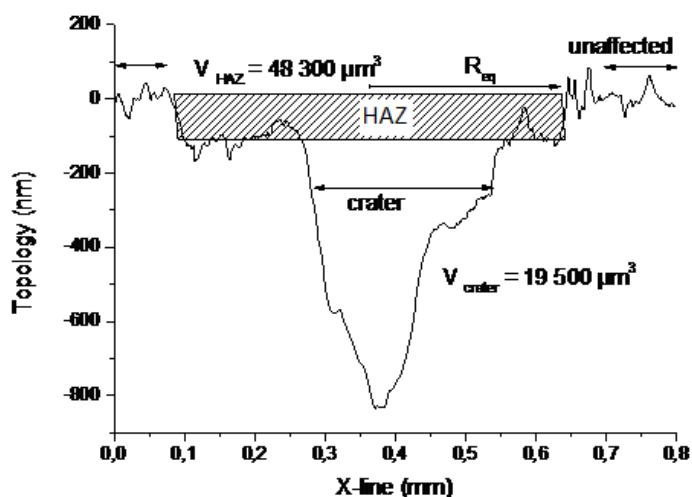
$$V_{\text{total}} = 3,14 * 344^2 * 0,13 + 19\,500 = 48\,300 + 19\,500 = 67800\mu\text{m}^3$$

Tedy objem odpalovaného materiálu v ploše HAZ je zhruba dvojnásobný oproti objemu materiálu uvnitř kráteru. Při výpočtu pro materiály s nízkým obsahem Cr je poměr těchto složek opačný. Krátery vytvořené s nastavením průměru analytického bodu 400 μm mají průměrný objem a hloubku kráterů v úzkém intervalu - $V = 85\,000 - 105\,000\mu\text{m}^3$ a $h = 300 - 400\text{ nm}$, což je v dobré shodě s vypočítanými hodnotami pro plochu HAZ i R_{eq} . Hodnoty V_{total} jsou shrnuty v Tab. 11. Z tabulky je patrné, že pro analytický bod s průměrem nastaveným na 200 μm , závislost plochy strmě klesá s koncentrací. Plocha HAZ pro nejnižší koncentraci je více než čtyřnásobná pro vzorek plechu s nejvyšší koncentrací Cr v povrchové vrstvě. U spotu s nastaveným průměrem 400 μm tyto rozdíly nejsou tak značné a pohybují se v řádu procent. Tyto rozdíly jsou nejspíše způsobeny sumou experimentálních chyb, samotným měřením i vyhodnocením a nejedná se o vliv složení povrchové vrstvy.

Hloubka krátera v řádu stovek nm překračuje o dva řády tloušťku nanovrstvy Cr (při první aproximaci vypočítané z obsahu Cr (hmotnost/plocha) a známé hustoty elementárního Cr ($7,15 \text{ g.cm}^{-3}$). Nejvíce koncentrovaný vzorek obsahoval 21 mg.m^{-2} , tloušťka vrstvy Cr byla aproximována vztahem $d = (\text{hmotnost/plocha})/\text{hustota}$. V našem případě $d = (0,021 \text{ g.m}^{-2}) / (7,15 \text{E6 g.m}^{-3}) = 3 \cdot 10^{-9} \text{ m} = 3 \text{ nm}$. Hloubka krátera je o řád nižší než tloušťka vrstvy Zn (cca $25 \text{ }\mu\text{m}$) a proto analýza Cr není ovlivněna obsahem Cr z oceli, což je v souladu s absencí analytických čar Fe během prvního impulsu.



Obrázek 26 - Profil krátera ve vzorku S5 (c Cr 21 mg.m^{-2}) - analytický bod o šířce $200 \text{ }\mu\text{m}$



Obrázek 27- Profil krátera pro plech S1 (c Cr 11 mg.m^{-2}) - analytický bod o šířce $200 \text{ }\mu\text{m}$

Tabulka 11 - Vypočítané hodnoty V_{total} a R_{eq} pro jednotlivé kalibrační standardy

Vzorky		$R_{\text{eq}} (\mu\text{m})$	$V_{\text{total}} (\mu\text{m}^3)$	$R_{\text{eq}} (\mu\text{m})$	$V_{\text{total}} (\mu\text{m}^3)$
Název	c Cr (mg.m^{-2})	LIBS $\varnothing 200 \mu\text{m}$		LIBS $\varnothing 400 \mu\text{m}$	
S1	11	344	67 800	377	105 100
S2	13	333	69 100	340	97 200
S3	17	245	47 300	354	101 200
S4	20	146	38 700	322	85 000
S5	21	167	34 500	354	91 600

2.6.4 Analýza vzorků

Pro ověření funkčnosti navrhované metody LIBS byly analyzovány čtyři vzorky ocelových plechů s různými typy povrchové modifikace a povrchové koncentrace Cr. Výsledky analýzy LIBS byly porovnány s výsledky ED XRF získanými z průmyslové laboratoře pracující podle GLP. Údaje shrnuté v tabulce 12 představují aritmetický průměr a standardní odchylky vypočtené z třech (ED XRF) resp. čtyř (LIBS) opakovaných měření jednotlivých vzorků. Analýza LIBS byla provedena za výše popsaných optimálních podmínek. Hodnoty návratnosti od 99,2 do 101% potvrzují dobrou shodu mezi oběma metodami.

Tabulka 12 - Výsledky LIBS a ED XRF analýzy neznámých vzorků

Označení vzorku	LIBS [mg.m^{-2}]	ED XRF [mg.m^{-2}]	Návratnost [%]
V1	$21,95 \pm 0,7$	$21,54 \pm 0,7$	101
V2	$18,77 \pm 1,5$	$18,92 \pm 0,2$	99,2
V3	$13,68 \pm 1,4$	$13,66 \pm 0,5$	100
V4	< LOD	$0,82 \pm 0,3$	-

3 Závěr

Prezentovaná disertační práce je zaměřena na problematiku kvantitativní prvkové analýzy vzorků ve formě tenké vrstvy pomocí spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS). Cílem práce bylo vytvoření metodik, které umožní praktickou aplikaci této techniky. Hlavní cíl práce byl rozdělen do tří dílčích cílů, ve kterých byl kladen důraz především na problematiku optimalizace experimentálních podmínek a přípravu vzorků k analýze, protože oba tyto faktory výrazně ovlivňují nejen průběh analýzy, ale i přesnost a správnost výsledků experimentů.

Prvním dílčím cílem předkládané disertační práce bylo ověření možnosti využití spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu pro kvantitativní analýzu lehkých, ale těžko excitovatelných prvků přítomných v organické matici v práškových vzorcích převedených do formy tenké vrstvy. Konkrétní naplnění tohoto cíle bylo provedeno pomocí analýzy vzorků organických pigmentů s deklarovaným obsahem fluoru, které byly pomocí štětce naprášeny na jednostrannou lepicí pásku. V této části práce bylo posuzováno několik faktorů ovlivňujících analýzu - vliv formy vzorku, optimalizace experimentálních podmínek a vliv atmosféry v ablační komoře. Vzorky organických pigmentů byly připraveny do dvou analyzovatelných forem jako tenká vrstva na pásce a jako lisované tablety. Pro oba typy úpravy vzorků byly optimalizovány podmínky analýzy, proměřeny kalibrační standardy a následně sestrojeny kalibrační křivky. Vyšší linearitu vykazovaly kalibrace sestrojené pro vzorky připravené ve formě tablet. Výsledky naměřené pro tenké vrstvy na pásce vykazovaly nejen nižší linearitu, ale i vyšší hodnoty RSD. Předpokládáme, že důvodem byla odlišná afinita jednotlivých vzorků použitých jako kalibrační standardy k použité pásce. Množství vzorku zachyceného na pásce je ovlivněno jak vlastnostmi pásky, tak i vlastnostmi vzorku. Problém by bylo patrně možné odstranit použitím jiného typu pásky. Dále byl sledován vliv atmosféry v ablační komoře, testován byl statický vzduch a dynamická heliová a argonová atmosféra. V každém typu atmosféry byly proměřeny kalibrační standardy připravené v obou analyzovatelných formách. Při měření v heliové atmosféře docházelo k významnému snížení pozadí a zvýšení intenzity čáry fluoru, naopak výsledky analýzy ve vzduchu a v argonové atmosféře byly téměř srovnatelné. Z výše uvedených důvodů byla heliová atmosféra vyhodnocena jako optimální pro analýzu fluoru v organických pigmentech. Ze zmíněných poznatků je patrné, že v případě analýzy tohoto typu vzorků je nejvhodnější příprava do formy tablet a následná analýza v heliové atmosféře. Deponování vzorků pigmentů v tenké

vrstvě na lepicí pásku se v tomto konkrétním případě jeví jako nevhodné, z důvodu malého množství zachyceného materiálu a možného ovlivnění analýzy rozdílnými fyzikálními vlastnostmi kalibračních standardů a vzorků. Postup přípravy práškového vzorku do formy tablety může být využit při rutinní analýze fluoru v pevných vzorcích v koncentracích vyšších než 1 hm. % F.

Na základě dosažených výsledků lze říci, že LIBS spektrometrie je metoda vhodná pro přímou analýzu F v práškových vzorcích, bez nutnosti předchozího rozkladu vzorku. Příprava práškového vzorku do formy tenké vrstvy sebou přináší značnou úsporu nejen materiálu, ale i času na přípravu a místa nutného pro skladování vzorků. Nutné je ovšem přihlídnutí k vlastnostem vzorku, které ovlivňují jeho adhezivitu k pásce a je žádané, aby kalibrační standardy i analyzované vzorky měly stejnou přilnavost. Výhodou vyvinuté metody stanovení fluoru pomocí LIBS spektrometru je její jednoduchost a rychlost. Stanovený detekční limit je sice poměrně vysoký, ale dostačující pro některé typy aplikací (analýza dentálních cementů, pigmentů a dalších materiálů). U toho typu analýz by bylo výhodou, pokud by použitý přístroj umožňoval nastavení zpoždění detektoru, což námi využitý LIBS spektrometr neumožňuje.

Druhým dílčím cílem disertační práce bylo ověření možnosti prvkové analýzy malých objemů kapalných vzorků nanesených ve formě tenké vrstvy na pevném nosiči pomocí LIBS spektrometru. Praktické naplnění tohoto dílčího cíle bylo realizováno v rámci vývoje metodiky pro stanovení Cd ve vzorcích výluhů šperků. Nejprve bylo složení povrchové vrstvy 13 vzorků levných šperků s vysokým obsahem Cd analyzováno pomocí ED XRF. Tyto vzorky byly následně vyluhovány v modelovém kyselém a alkalickém potu, výsledné výluhy byly nanесeny na pevný nosič a analyzovány pomocí LIBS. V této části práce bylo posuzováno několik faktorů ovlivňujících analýzu - volba vhodného pevného nosiče, objem roztoku aplikovaný na pevný nosič a optimalizace podmínek měření. V rámci optimalizace vhodného pevného nosiče, bylo testováno několik typů nasákavých i nenasákavých materiálů. Jako nejvhodnější byl na základě hodnoty SBR zvolen nosič vytvořený ze sešitového papíru, který vykazoval vhodnou míru nasákavosti. Následně byl optimalizován objem výluhu aplikovaný na nosič. Jako nejvhodnější byl vyhodnocen objem 20 μl . Následně proběhla optimalizace experimentálních podmínek. Za optimálních podmínek byly naměřeny kalibrační standardy se známým obsahem Cd, na jejichž základě byl následně vyhodnocen obsah Cd uvolněného ze šperků. Limit detekce byl následně vypočítán pomocí konceptu $3\sigma/s$. Stanovená hodnota pro kyselý pot byla 0,08 mg.l^{-1} Cd a pro alkalický pot 0,06 mg.l^{-1} . Získané

výsledky poskytly informace o mobilitě toxického prvku a byly využity v procesu hodnocení zdravotních rizik analyzovaných šperků. Hodnoty koncentrace Cd naměřené v povrchové vrstvě šperků výrazně překračovaly povolené limity v EU nebo USA. Analýza výluhů naznačuje, že do kyselého modelového potu se uvolňuje množství Cd zhruba pětikrát vyšší než do modelového alkalického potu. Vztah mezi povrchovým složením vzorků a množstvím Cd uvolněného do modelového potu nebyl jasně prokázán. Nízká biologická dostupnost Cd při dermální expozici spolu s malým množstvím Cd uvolněným z povrchové vrstvy šperků vede k závěru, že ani dlouhodobé používání těchto šperků nepředstavuje významné zdravotní riziko z hlediska nekarcinogenních toxických účinků Cd, protože maximální množství uvolněného Cd z analyzovaných šperků činí asi 0,5% akceptovatelného denního příjmu.

LIBS může v tomto typu analýz přinést několik výhod a najít své uplatnění v laboratořích, které nejsou vybaveny technikami roztokové analýzy, či v případech, kdy je vyžadováno dlouhodobé skladování vzorku. Nanesením malého objemu vzorku na pevný nosič, je možné, po jeho usušení, značně eliminovat i prostor nutný pro skladování vzorků. V případě kvalitně navržené metodiky je možné dosáhnout výsledků, které jsou srovnatelné s výsledky roztokových technik. Tento způsob přípravy vzorku může minimalizovat vliv matrice, snížit hodnotu LOD, zkrátit čas analýzy i potřebné množství vzorku.

Třetím dílčím cílem bylo ověření možnosti kvantitativní analýzy prvků tvořících tenkou antikorozi vrstvu ocelových plechů pomocí LIBS. Praktické naplnění dílčího cíle bylo provedeno na základě kvantitativní LIBS analýzy Cr v tenké antikorozi zinkové vrstvě na ocelových plechách, které daný prvek rovněž obsahovaly. V této části práce byl posuzován vliv experimentálních podmínek na výsledky analýzy. Během optimalizace parametrů LIBS spektrometru bylo zjištěno, že povrchová vrstva ocelových plechů silně ovlivňuje interakci laserového paprsku se vzorkem a následný proces ablace, především množství ablatovaného materiálu. Jako nejdůležitější parametr byl vyhodnocen průměr analytického bodu a energie laserového paprsku. Kalibrační standardy plechů byly analyzovány za různých podmínek, následně byly sestrojeny kalibrační křivky a na základě jejich statistických parametrů byly vybrány optimální podmínky pro stanovení Cr v povrchové vrstvě neznámých vzorků. Limit detekce byl stanoven ($0,7 \text{ mg Cr.m}^{-2}$). Při optimalizaci bylo zjištěno, že při nižším průměru analytického bodu ($200 \text{ }\mu\text{m}$) a za určité hodnoty energie laserového paprsku, dochází k ablaci nejen povrchové antikorozi vrstvy, ale i vlastního materiálu ocelového plechu. Matriční efekt spojený s ablací podkladového materiálu způsobil, že kalibrační křivka sestrojená za takto nastavených experimentálních podmínek vykazovala zápornou hodnotu směrnice.

Standardní postup přípravy podobného typu vzorků k analýze je založen na tzv. mokré cestě, kdy je povrchová vrstva odleptána působením kyseliny a výsledný roztok je analyzován pomocí vhodné roztokové metody. Tento postup je náročný jak časově, tak materiálově. V případě nevhodně zvolených podmínek, může také docházet k odleptání silnější vrstvy, než je požadovaná povrchová vrstva a navíc tento postup nepřináší informaci o homogenitě povrchové vrstvy. Navrhovaný postup analýzy pomocí LIBS spektrometrie je velmi rychlý, citlivost a rozsah kalibrace ovšem silně závisí na vhodně zvolených podmínkách analýzy. Další výhodou navrhované metody je možnost rutinní analýzy v provozu s minimálními náklady a nároky na obsluhu. Navrhovaná metoda poskytuje výsledky, které jsou v dobré shodě s výsledky získanými metodou ED XRF, jenž se v současné době používá jako součást procesu kontroly kvality tohoto typu výrob. Velkou výhodou LIBS spektrometrie v tomto případě je, že není nutná samostatná kalibrace pro každý typ ocelového plechu, jenž má, v případě ED XRF, za cíl odstranění interferencí způsobených variabilní koncentrací Cr v materiálu plechů.

Výsledky související s tématem mé disertační práce byly prezentovány na níže uvedených konferencích a uveřejněny v níže uvedených publikacích.

Seznam publikací

Kratochvíl T., Pouzar M., Novotný K., Havránek V., Černohorský T., **Zvolská M.**; The use of laser-induced breakdown spectroscopy for the determination of fluorine concentration in glass ionomer cement, *Spectrochimica Acta part B: Atomic Spectroscopy*, 2013, Vol. 88, 26-31.

Kratochvíl T., Černohorský T., Pouzar M., Knotek P., Návesník J., **Zvolská M.**; Fast determination of surface concentration of titanium in ultra-thin layers using laser-induced breakdown spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2014, Vol. 29, 1806-1812.

Zvolská M., Kratochvíl T., Černohorský T., Pouzar M.; Determination of fluorine in samples of organic pigments by using laser-induced breakdown spectrometry, *Journal of Applied and Laser Spectroscopy*, 2014, Vol.1, 41 - 45.

Zvolská M., Pouzar M., Knotek P., Černohorský T.; Determination of chromium in the surface nano-layer covering the Zn-based anti corrosion coating of steel sheets using a laser-induced breakdown spectrometry, *Chemical Papers*; 2017, Vol. 71, 2045-2052.

Pouzar M., **Zvolská M.** *, Jarolím O., Audrlická Vavrušová L.; The Health Risk of Cd Released from Low-Cost Jewelry, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2017, Vol. 14, 1-8.

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T., Jarolím O., Laser induced breakdown spectrometry for quantitative analysis of Cd in artificial sweat leachate of jewellery, *Scientific Papers of University of Pardubice, Series A, Faculty of Chemical Technology*, 2017, Vol. 23, 213-224.

Příspěvky na konferencích

Přednášky

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T., Kratochvíl T.; Determination of fluorine in solid samples by using laser-induced breakdown spectrometry. 15th Slovak Student Scientific Conference 2013, Bratislava, Slovakia. ISBN 978-80-227-4078-4.

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T., Kratochvíl T.; Quantitative analysis of fluorine in samples of coolant with using laser-induced breakdown spectroscopy. ESAS 2014, Prague, Czech Republic. ISBN 978- 80-905704-1-2.

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T.; Stanovení kadmia a olova v biologických tekutinách pomocí spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu - LIBS, Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie, Kouty nad Desnou, 2016. ISBN 978-80- 7395-981- 4.

Zvolská M., Bendakovská L., Pouzar M.; Stanovení Fe ve vzorcích zeolitů pomocí metod XRF, LIBS a ICP OES, Symposium studentů doktorských programů, Brno, 2016.

Postery

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T., Kratochvíl T.; Analýza vzorků životního prostředí pomocí spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS), Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie, Kouty nad Desnou, 2014. ISBN ISBN 978-80- 7395-781- 0.

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T. Freibauerová T.; Analýza toxických prvků v kapalných vzorcích nanesených na pevné podložce pomocí spektroskopie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS), Průmyslová toxikologie a ekotoxikologie, Kouty nad Desnou, 2015. ISBN 978-80-7395-897-8.

Zvolská M., Pouzar M., Černohorský T.; Determination of cadmium and lead in biological fluids using laser-induced breakdown spectrometry, ESAS 2016, Eger, Hungary. ISBN 978-963-9970-65-6.

4 Použitá literatura

Amzal, B.; Julin, B.; Vahter, M.; et al. (2009): Population Toxicokinetic Modeling of Cadmium for Health Risk Assessment. *Environmental Health Perspectives* 117, 8, 1293-1301. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.0800317>.

Friberg, L.; Piscator, M.; Nordberg, G. F.; et al. (1974): Cadmium in the Environment.

IRIS Integrated Risk Information System. (U.S. Environmental Protection Agency, National Center for Environmental Assessment, Chemical Assessment Summary; Cadmium; CASRN 7440-43-9.

Kopachevskii, V. D.; Krivosheeva, M. A. (2007): Use of laser analyser LEA S 500 for analyzing the chemical composition of materials. *Refractories and Industrial Ceramics* 48, 4, 255-258. <http://dx.doi.org/10.1007/s11148-007-0071-z>.

Kratochvil, T.; Cernohorsky, T.; Knotek, P.; et al. (2014): Fast determination of the surface density of titanium in ultrathin layers using LIBS spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29, 10, 1806-1812. <http://dx.doi.org/10.1039/c3ja50398d>.

Kratochvil, T.; Pouzar, M.; Novotny, K.; et al. (2013): The use of laser-induced breakdown spectroscopy for the determination of fluorine concentration in glass ionomer cement. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 88, 26-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2013.08.001>.

Limbeck, A.; Rupp, G. M.; Kubicek, M.; et al. (2016): Dynamic etching of soluble surface layers with on-line inductively coupled plasma mass spectrometry detection - a novel approach for determination of complex metal oxide surface cation stoichiometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 31, 8, 1638-1646. <http://dx.doi.org/10.1039/c6ja00154h>.

Sopha, H.; Jager, A.; Knotek, P.; et al. (2016): Self-organized Anodic TiO₂ Nanotube Layers: Influence of the Ti substrate on Nanotube Growth and Dimensions. *Electrochimica Acta* 190, 744-752. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2015.12.121>.

Wester, R. C.; Maibach, H. I.; Sedik, L.; et al. (1992): In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fundamental and applied toxicology* 19, 1, 1-5. [http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590\(92\)90021-9](http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590(92)90021-9).

Abdelhamid, M.; Grassini, S.; Angelini, E.; et al. (2009): Effect Of Changing Laser Irradiance On The Laser Induced Plasma Parameters For Au/Cu Layered Target. In 7th International Conference on Laser Applications. (Cairo, EGYPT, Amer Inst Physics), pp 70-+.

Abdelhamid, M.; Grassini, S.; Angelini, E.; et al. (2010): Depth profiling of coated metallic artifacts adopting laser-induced breakdown spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 65, 8, 695-701. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2010.03.017>.

Aguilera, J. A.; Aragon, C. (2007): Multi-element Saha-Boltzmann and Boltzmann plots in laser-induced plasmas. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 62, 4, 378-385. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2007.03.024>.

Allmen, M.; Blatter, A. (2013): Laser-Beam Interactions with Materials: Physical Principles and Applications.(Springer).

An, J. S.; Kim, K. H.; Yoon, H. O.; et al. (2012): Application of the wavelength dispersive X-ray fluorescence technique to determine soil fluorine with consideration of iron content in the matrix.

Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy 69, 38-43.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2012.02.006>.

Ardakani, H. A.; Tavassoli, S. H. (2013): Depth profile analysis of nanometric layers by laser-induced breakdown spectroscopy. *Journal of Applied Spectroscopy* 80, 1, 153-157.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10812-013-9738-z>.

Asgill, M. E.; Brown, M. S.; Frische, K.; et al. (2010): Double-pulse and single-pulse laser-induced breakdown spectroscopy for distinguishing between gaseous and particulate phase analytes. *Applied Optics* 49, 13, C110-C119. <http://dx.doi.org/10.1364/ao.49.00c110>.

Babushok, V. I.; DeLucia, F. C.; Gottfried, J. L.; et al. (2006): Double pulse laser ablation and plasma: Laser induced breakdown spectroscopy signal enhancement. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 61, 9, 999-1014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2006.09.003>.

Becker, J. S.; Matusch, A.; Wu, B. (2014): Bioimaging mass spectrometry of trace elements - recent advance and applications of LA-ICP-MS: A review. *Analytica Chimica Acta* 835, 1-18.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.048>.

Bilmes, M. G.; Freisztav, C.; Schinca, D.; et al. (2005): Cleaning and characterization of objects of cultural value

by laser ablation. (Washington, SPIE), p 7.

Bleiner, D.; Bogaerts, A. (2006): Multiplicity and contiguity of ablation mechanisms in laser-assisted analytical micro-sampling. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 61, 4, 421-432. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2006.02.007>.

Bocca, B.; Pino, A.; Alimonti, A.; et al. (2014): Toxic metals contained in cosmetics: A status report. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 68, 3, 447-467.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.02.003>.

Brillson, J. L. (2012): *Rutherford Backscattering Spectrometry*. (Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA).

Carretero, M. I.; Pozo, M.; Martin-Rubi, J. A.; et al. (2010): Mobility of elements in interaction between artificial sweat and peloids used in Spanish spas. *Applied Clay Science* 48, 3, 506-515.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2010.02.016>.

Cazes, J. (2004): *Analytical Instrumentation Handbook*. (Florida Atlantic University, CRC Press), p 1035.

Cerrato, R.; Casal, A.; Mateo, M. P.; et al. (2017): Dealloying evidence on corroded brass by laser-induced breakdown spectroscopy mapping and depth profiling measurements. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 130, 1-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2016.11.006>.

Colao, F.; Fantoni, R.; Lazic, V.; et al. (2002): Laser-induced breakdown spectroscopy for semi-quantitative and quantitative analyses of artworks - application on multi-layered ceramics and copper based alloys. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 57, 7, 1219-1234.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0584-8547\(02\)00054-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0584-8547(02)00054-x).

Connor, K.; Magee, B. (2014): A quantitative assessment of risks of heavy metal residues in laundered shop towels and their use by workers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 70, 1, 125-137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.06.020>.

- Cremers (2012): Laser-induced Breakdown Spectroscopy, Elemental Analysis. Encyclopedia of Analytical Chemistry, 26. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470027318.a0708.pub2>.
- Cremers, D. A.; Chinni, R. C. (2009): Laser-Induced Breakdown Spectroscopy-Capabilities and Limitations. Applied Spectroscopy Reviews 44, 6, 457-506. <http://dx.doi.org/10.1080/05704920903058755>.
- Cremers, D. A.; Radziemski, L. J. (2006): Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy.(John Wiley & Sons, Ltd).
- Ctvrtnickova, T.; Fortes, F. J.; Cabalin, L. M.; et al. (2009): Depth profiles of ceramic tiles by using orthogonal double-pulse laser induced breakdown spectrometry. Surface and Interface Analysis 41, 9, 714-719. <http://dx.doi.org/10.1002/sia.3077>.
- Diego-Vallejo, D.; Schwagmeier, M.; Ashkenasi, D.; et al. (2011): Laser-induced Plasma Investigations during Material Processing. Journal of Laser Micro Nanoengineering 6, 2, 146-150. <http://dx.doi.org/10.2961/jlmn.2011.02.0009>.
- Dong, M. R.; Mao, X. L.; Gonzalez, J. J.; et al. (2012): Time-resolved LIBS of atomic and molecular carbon from coal in air, argon and helium. Journal of Analytical Atomic Spectrometry 27, 12, 2066-2075. <http://dx.doi.org/10.1039/c2ja30222e>.
- Effenberger, A. J.; Scott, J. R. (2011): Effect of atmosphere on collinear double-pulse laser-induced breakdown spectroscopy. Analytical and Bioanalytical Chemistry 400, 10, 3217-3227. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-011-5034-z>.
- Elshair, H. T. (1991): ELECTRICAL AND OPTICAL-PROPERTIES OF AMORPHOUS TE40AS38GE10SI12 THIN-FILMS. Applied Physics a-Materials Science & Processing 53, 2, 164-167. <http://dx.doi.org/10.1007/bf00323877>.
- ESOs (2011): UNI EN 1811:2011 Reference Test Method For Release Of Nickel From All Post Assemblies Which Are Inserted Into Pierced Parts Of The Human Body And Articles Intended To Come Into Direct And Prolonged Contact With The Skin. (
- Fabre, C.; Maurice, S.; Cousin, A.; et al. (2011): Onboard calibration igneous targets for the Mars Science Laboratory Curiosity rover and the Chemistry Camera laser induced breakdown spectroscopy instrument. Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy 66, 3-4, 280-289. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2011.03.012>.
- Friberg, L.; Piscator, M.; Nordberg, G. F.; et al. (1974): Cadmium in the Environment.
- Gaudiuso, R.; Dell'Aglio, M.; De Pascale, O.; et al. (2014): Laser-induced breakdown spectroscopy of archaeological findings with calibration-free inverse method: Comparison with classical laser-induced breakdown spectroscopy and conventional techniques. Analytica Chimica Acta 813, 15-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2014.01.020>.
- Glaus, R.; Kaegi, R.; Krumeich, F.; et al. (2010): Phenomenological studies on structure and elemental composition of nanosecond and femtosecond laser-generated aerosols with implications on laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy 65, 9-10, 812-822. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2010.07.005>.
- Gornushkin, S. I.; Gornushkin, I. B.; Anzano, J. M.; et al. (2002): Effective normalization technique for correction of matrix effects in laser-induced breakdown spectroscopy detection of magnesium in powdered samples. Applied Spectroscopy 56, 4, 433-436. <http://dx.doi.org/10.1366/0003702021955088>.

- Hahn, D. W.; Omenetto, N. (2010): Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part I: Review of Basic Diagnostics and Plasma-Particle Interactions: Still-Challenging Issues Within the Analytical Plasma Community. *Applied Spectroscopy* 64, 12, 335A-366A.
- Hahn, D. W.; Omenetto, N. (2012): Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS), Part II: Review of Instrumental and Methodological Approaches to Material Analysis and Applications to Different Fields. *Applied Spectroscopy* 66, 4, 347-419. <http://dx.doi.org/10.1366/11-06574>.
- Haudrechy, P.; Fousseureau, J.; Mantout, B.; et al. (1993): NICKEL RELEASE FROM 304 AND 316 STAINLESS-STEELS IN SYNTHETIC SWEAT - COMPARISON WITH NICKEL AND NICKEL-PLATED METALS - CONSEQUENCES ON ALLERGIC CONTACT-DERMATITIS. *Corrosion Science* 35, 1-4, 329-336. [http://dx.doi.org/10.1016/0010-938x\(93\)90164-c](http://dx.doi.org/10.1016/0010-938x(93)90164-c).
- Hornackova, M.; Plavcan, J.; Rakovsky, J.; et al. (2014): Calibration-free laser induced breakdown spectroscopy as an alternative method for found meteorite fragments analysis. *European Physical Journal-Applied Physics* 66, 1, 10. <http://dx.doi.org/10.1051/epjap/2014130465>.
- Hou, H. M.; Cheng, L.; Richardson, T.; et al. (2015): Three-dimensional elemental imaging of Li-ion solid-state electrolytes using fs-laser induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 30, 11, 2295-2302. <http://dx.doi.org/10.1039/c5ja00250h>.
- Hudecová, L. (2017): ABLÁCIA CHALKOGENIDOVÝCH SKIEL PULZNÝM LASEROM. Univerzita Pardubice, Pardubice.
- IRIS Integrated Risk Information System. (U.S. Environmental Protection Agency, National Center for Environmental Assessment, Chemical Assessment Summary; Cadmium; CASRN 7440-43-9.
- Ishii, J.; Ono, A. (2001): Uncertainty estimation for emissivity measurements near room temperature with a Fourier transform spectrometer. *Measurement Science and Technology* 12, 12, 2103-2112. <http://dx.doi.org/10.1088/0957-0233/12/12/311>.
- Jarošová, M. (2016): Studium geochemických systému metodou ICP-MS s laserovou ablací. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc.
- Kaiser, J.; Galiova, M.; Novotny, K.; et al. (2009): Mapping of lead, magnesium and copper accumulation in plant tissues by laser-induced breakdown spectroscopy and laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 64, 1, 67-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2008.10.040>.
- Khater, M. A. (2013): Laser-induced breakdown spectroscopy for light elements detection in steel: State of the art. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 81, 1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2012.12.010>.
- Kim, J.; Lennard, W. N.; McNorgan, C. P.; et al. (2003): Depth profiling of ultrathin films using medium energy ion scattering. *Current Applied Physics* 3, 1, 75-82. [http://dx.doi.org/10.1016/s1567-1739\(02\)00240-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1567-1739(02)00240-7).
- Kimura, K.; Nakajima, K.; Zhao, M.; et al. (2008): Combination of high-resolution RBS and angle-resolved XPS: accurate depth profiling of chemical states. *Surface and Interface Analysis* 40, 3-4, 423-426. <http://dx.doi.org/10.1002/sia.2628>.
- Knopp, R.; Scherbaum, F. J.; Kim, J. I. (1996): Laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) as an analytical tool for the detection of metal ions in aqueous solutions. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 355, 1, 16-20.

Koch, J.; Gunther, D. (2011): Review of the State-of-the-Art of Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Applied Spectroscopy* 65, 5, 155A-162A. <http://dx.doi.org/10.1366/11-06255>.

Kopachevskii, V. D.; Krivosheeva, M. A. (2007): Use of laser analyser LEA S 500 for analyzing the chemical composition of materials. *Refractories and Industrial Ceramics* 48, 4, 255-258. <http://dx.doi.org/10.1007/s11148-007-0071-z>.

Kouřil, J. (2012): Využití metod laserové spektroskopie k diagnostice biologických vzorků: Kombinace Ramanovské spektroskopie a spektrometrie laserem indukovaného plazmatu. *Vysoké učení technické v Brně, Brno*.

Kratochvíl, T.; Cernohorsky, T.; Knotek, P.; et al. (2014): Fast determination of the surface density of titanium in ultrathin layers using LIBS spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 29, 10, 1806-1812. <http://dx.doi.org/10.1039/c3ja50398d>.

Kratochvíl, T.; Pouzar, M.; Novotny, K.; et al. (2013): The use of laser-induced breakdown spectroscopy for the determination of fluorine concentration in glass ionomer cement. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 88, 26-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2013.08.001>.

Kratochvíl, T. (2010): Prvková analýza práškových vzorků ve formě tenké vrstvy pomocí LIBS spektrometrie. *Univerzita Pardubice, Pardubice*.

Krejčova, A.; Cernohorsky, T.; Bendakovska, L. (2016): A practical approach to non-spectral interferences elimination in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Chemical Papers* 70, 6, 669-684. <http://dx.doi.org/10.1515/chempap-2016-0004>.

Kudriavtsev, Y.; Gallardo, S.; Koudriavtseva, O.; et al. (2011): SIMS depth profiling of semiconductor interfaces: Experimental study of depth resolution function. *Surface and Interface Analysis* 43, 10, 1277-1281. <http://dx.doi.org/10.1002/sia.3708>.

Kulthong, K.; Srisung, S.; Boonpavanitchakul, K.; et al. (2010): Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat. *Particle and Fibre Toxicology* 7, 9. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-8977-7-8>.

Lazic, V.; Fantoni, R.; Colao, F.; et al. (2004): Quantitative laser induced breakdown spectroscopy analysis of ancient marbles and corrections for the variability of plasma parameters and of ablation rate. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19, 4, 429-436. <http://dx.doi.org/10.1039/b315606k>.

Lazic, V.; Fantoni, R.; Palucci, A.; et al. (2017): Sample Preparation for Repeated Measurements on a Single Liquid Droplet Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Applied Spectroscopy* 71, 4, 670-677. <http://dx.doi.org/10.1177/0003702816685096>.

Lepore, K. H.; Fassett, C. I.; Breves, E. A.; et al. (2017): Matrix Effects in Quantitative Analysis of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) of Rock Powders Doped with Cr, Mn, Ni, Zn, and Co. *Applied Spectroscopy* 71, 4, 600-626. <http://dx.doi.org/10.1177/0003702816685095>.

Limbeck, A.; Rupp, G. M.; Kubicek, M.; et al. (2016): Dynamic etching of soluble surface layers with on-line inductively coupled plasma mass spectrometry detection - a novel approach for determination of complex metal oxide surface cation stoichiometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 31, 8, 1638-1646. <http://dx.doi.org/10.1039/c6ja00154h>.

Lobo, L.; Fernandez, B.; Pereiro, R. (2017): Depth profile analysis with glow discharge spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 32, 5, 920-930. <http://dx.doi.org/10.1039/c7ja00055c>.

Lövy, V. (2014): ZÍSKÁNÍ 3D INFORMACÍ O STRUKTUŘE VYVÍJENÉHO MATERIÁLU SI₃N₄

PRO VÁLCOVÁVÁNÍ LEGOVANÝCH DRÁTŮ. Vysoké učení technické v Brně, Brno.

Mateo, M. P.; Vadillo, J. M.; Laserna, J. J. (2001): Irradiance-dependent depth profiling of layered materials using laser-induced plasma spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 16, 11, 1317-1321. <http://dx.doi.org/10.1039/b104440k>.

Matýsková, K. (2012): Sledování matričních jevů u spektroskopie laserem buzeného mikrop plazmatu. Masarykova Univerzita, Brno.

Maurya, G. S.; Kumar, R.; Kumar, A.; et al. (2016): Analysis of impurities on contaminated surface of the tokamak limiter using laser induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 126, 17-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2016.10.010>.

Mercier, B.; Rousseau, J. P.; Jullien, A.; et al. (2010): Nonlinear beam shaper for femtosecond laser pulses, from Gaussian to flat-top profile. *Optics Communications* 283, 14, 2900-2907. <http://dx.doi.org/10.1016/j.optcom.2010.04.004>.

Motto-Ros, V.; Sancey, L.; Wang, X. C.; et al. (2013): Mapping nanoparticles injected into a biological tissue using laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 87, 168-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2013.05.020>.

Motz, C.; Schoberl, T.; Pippan, R. (2005): Mechanical properties of micro-sized copper bending beams machined by the focused ion beam technique. *Acta Materialia* 53, 15, 4269-4279. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actamat.2005.05.036>.

Necas, D.; Klapetek, P. (2012): Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis. *Central European Journal of Physics* 10, 1, 181-188. <http://dx.doi.org/10.2478/s11534-011-0096-2>.

No.84/2001 Decree of Ministry of Health of the Czech Republic No 84/2001 Col. (Prague, Czech Republic.

Pace, D. M. D.; D'Angelo, C. A.; Bertuccelli, D.; et al. (2006): Analysis of heavy metals in liquids using Laser Induced Breakdown Spectroscopy by liquid-to-solid matrix conversion. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 61, 8, 929-933. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2006.07.003>.

Parsons, H. M.; Ekman, D. R.; Collette, T. W.; et al. (2009): Spectral relative standard deviation: a practical benchmark in metabolomics. *Analyst* 134, 3, 478-485. <http://dx.doi.org/10.1039/b808986h>.

Pasquini, C.; Cortez, J.; Silva, L. M. C.; et al. (2007): Laser induced breakdown spectroscopy. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 18, 3, 463-512. <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532007000300002>.

Pathak, A. K.; Kumar, R.; Singh, V. K.; et al. (2012): Assessment of LIBS for Spectrochemical Analysis: A Review. *Applied Spectroscopy Reviews* 47, 1, 14-40. <http://dx.doi.org/10.1080/05704928.2011.622327>.

- Payling, R.; Aeberhard, M.; Delfosse, D. (2001): Improved quantitative analysis of hard coatings by radiofrequency glow discharge optical emission spectrometry (rf-GD-OES). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 16, 1, 50-55. <http://dx.doi.org/10.1039/b007543o>.
- Peng, J. Y.; Liu, F.; Zhou, F.; et al. (2016): Challenging applications for multi-element analysis by laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: A review. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 85, 260-272. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2016.08.015>.
- Pinon, V.; Mateo, M. P.; Nicolas, G. (2013): Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Chemical Mapping of Materials. *Applied Spectroscopy Reviews* 48, 5, 357-383. <http://dx.doi.org/10.1080/05704928.2012.717569>.
- Porizka, P.; Demidov, A.; Kaiser, J.; et al. (2014): Laser-induced breakdown spectroscopy for in situ qualitative and quantitative analysis of mineral ores. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 101, 155-163. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2014.08.027>.
- Pouzar, M.; Kratochvil, T.; Capek, L.; et al. (2011): Quantitative LIBS analysis of vanadium in samples of hexagonal mesoporous silica catalysts. *Talanta* 83, 5, 1659-1664. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.047>.
- Procházka, D. (2014): Detekce brzdých stop pomocí spektrometrie laserem indukovaného plazmatu (LIBS) a spektrometrie laserem indukované fluorescence (LIBS + LIFS) Vysoké učení technické v Brně, Brno.
- Průcha, L. (2016): Hloubkové profilování metodou spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu. Vysoké učení technické v Brně, Brno.
- Russo, R. E. (1995): LASER-ABLATION. *Applied Spectroscopy* 49, 9, A14-A28.
- Russo, R. E.; Mao, X. L.; Gonzalez, J. J.; et al. (2013): Laser Ablation in Analytical Chemistry. *Analytical Chemistry* 85, 13, 6162-6177. <http://dx.doi.org/10.1021/ac4005327>.
- Russo, R. E.; Mao, X. L.; Mao, S. S. (2002): The physics of laser ablation in microchemical analysis. *Analytical Chemistry* 74, 3, 70A-77A. <http://dx.doi.org/10.1021/ac0219445>.
- Sarkar, A.; Mishra, R. K.; Kaushik, C. P.; et al. (2014): Analysis of barium borosilicate glass matrix for uranium determination by using ns-IR-LIBS in air and Ar atmosphere. *Radiochimica Acta* 102, 9, 805-812. <http://dx.doi.org/10.1515/ract-2014-2243>.
- Senesi, G. S.; Senesi, N. (2016): Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) to measure quantitatively soil carbon with emphasis on soil organic carbon. A review. *Analytica Chimica Acta* 938, 7-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.039>.
- Shard, A. G.; Brewer, P. J.; Green, F. M.; et al. (2007): Measurement of sputtering yields and damage in C60SIMS depth profiling of model organic materials. *Surface and Interface Analysis* 39, 4, 294-298. <http://dx.doi.org/10.1002/sia.2525>.
- Shimizu, K.; Brown, G. M.; Habazaki, H.; et al. (1999): Glow discharge optical emission spectrometry (GDOES) depth profiling analysis of anodic alumina film - a depth resolution study. *Surface and Interface Analysis* 27, 1, 24-28. [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9918\(199901\)27:1<24::aid-sia457>3.0.co;2-n](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1096-9918(199901)27:1<24::aid-sia457>3.0.co;2-n).
- Spizzichino, V.; Fantoni, R. (2014): Laser Induced Breakdown Spectroscopy in archeometry: A review of its, application and future perspectives. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 99, 201-209. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2014.07.003>.

Suyanto, H. (2014): Qualitative Analysis of Black Stone and Its Application for Detecting Ag and Pb in Liquid Sample by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). In 4th International Conference on Theoretical and Applied Physics (ICTAP). (Bali, INDONESIA, Amer Inst Physics).

Suyanto, H.; Lie, Z. S.; Niki, H.; et al. (2012): Quantitative Analysis of Deuterium in Zircaloy Using Double-Pulse Laser-Induced Breakdown Spectrometry (LIBS) and Helium Gas Plasma without a Sample Chamber. *Analytical Chemistry* 84, 5, 2224-2231. <http://dx.doi.org/10.1021/ac202744r>.

Thomsen, V.; Schatzlein, D.; Mercurio, D. (2003): Limits of detection in spectroscopy. *Spectroscopy* 18, 12, 112-114.

Tognoni, E.; Cristoforetti, G.; Legnaioli, S.; et al. (2010): Calibration-Free Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: State of the art. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 65, 1, 1-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2009.11.006>.

Trejos, T.; Flores, A.; Almirall, J. R. (2010): Micro-spectrochemical analysis of document paper and gel inks by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and laser induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 65, 11, 884-895. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2010.08.004>.

Ubide, T.; McKenna, C. A.; Chew, D. M.; et al. (2015): High-resolution LA-ICP-MS trace element mapping of igneous minerals: In search of magma histories. *Chemical Geology* 409, 157-168. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2015.05.020>.

Unnikrishnan, V. K.; Mridul, K.; Nayak, R.; et al. (2012): Calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy for quantitative elemental analysis of materials. *Pramana-Journal of Physics* 79, 2, 299-310. <http://dx.doi.org/10.1007/s12043-012-0298-1>.

Vadillo, J. M.; Laserna, J. J. (2004): Laser-induced plasma spectrometry: truly a surface analytical tool. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 59, 2, 147-161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2003.11.006>.

Vítková, G. (2015): Spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS) vzdálených objektů. Masarykova Univerzita, Brno.

Webster, J. G.; Halit, E. (2014): *Measurement, Instrumentation and Sensors Handbook*, (Boca Raton, Florida: CRC Press).

Wester, R. C.; Maibach, H. I.; Sedik, L.; et al. (1992): In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fundamental and applied toxicology* 19, 1, 1-5. [http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590\(92\)90021-9](http://dx.doi.org/10.1016/0272-0590(92)90021-9).

Winefordner, J. D.; Gornushkin, I. B.; Correll, T.; et al. (2004): Comparing several atomic spectrometric methods to the super stars: special emphasis on laser induced breakdown spectrometry, LIBS, a future super star. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19, 9, 1061-1083. <http://dx.doi.org/10.1039/b400355c>.

Xiu, J. S.; Bai, X. S.; Negre, E.; et al. (2013): Indirect laser-induced breakdown of transparent thin gel layer for sensitive trace element detection. *Applied Physics Letters* 102, 24, 5. <http://dx.doi.org/10.1063/1.4811245>.

Xiu, J. S.; Dong, L. L.; Qin, H.; et al. (2016): Investigation of the Matrix Effect on the Accuracy of Quantitative Analysis of Trace Metals in Liquids Using Laser-Induced Breakdown

Spectroscopy with Solid Substrates. *Applied Spectroscopy* 70, 12, 2016-2024. <http://dx.doi.org/10.1177/0003702816651889>.

Yip, W. L.; Cheung, N. H. (2009): Analysis of aluminum alloys by resonance-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy: How the beam profile of the ablation laser and the energy of the dye laser affect analytical performance. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy* 64, 4, 315-322. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sab.2009.03.020>.

Yu, Y.; Guo, L. B.; Hao, Z. Q.; et al. (2014): Accuracy improvement on polymer identification using laser-induced breakdown spectroscopy with adjusting spectral weightings. *Optics Express* 22, 4, 3895-3901. <http://dx.doi.org/10.1364/oe.22.003895>.

Zalm, P. C.; Bailey, P.; Reading, M. A.; et al. (2016): Quantitative considerations in medium energy ion scattering depth profiling analysis of nanolayers. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B-Beam Interactions with Materials and Atoms* 387, 77-85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2016.10.004>.

Zhang, J.; Hu, X. S.; Xi, J. H.; et al. (2013): Depth profiling of Al diffusion in silicon wafers by laser-induced breakdown spectroscopy. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28, 9, 1430-1435. <http://dx.doi.org/10.1039/c3ja50115a>.

Zhang, X.; Zhang, X. F.; Li, H. P.; et al. (2014): Atmospheric and room temperature plasma (ARTP) as a new powerful mutagenesis tool. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98, 12, 5387-5396. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-014-5755-y>.

Zhu, X. G.; Lee, H. D.; Feng, T. A.; et al. (2010): Structure and stoichiometry of (0001) 4H-SiC/oxide interface. *Applied Physics Letters* 97, 7, 3. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3481672>.

Zvěřina, Z. (2011): Analýza tavenin pomocí spektrometrie indukovaného plazmatu. Masarykova Univerzita, Brno.

ČSN, -. (1997): Přesnost metod a výsledků měření - Část 2: Základní metoda pro stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti normalizované metody měření Institut, Č. N., ed. (Česká republika.

Determination of Fluorine in Organic Pigments with the Use of Laser Induced Breakdown Spectroscopy

M. Zvolška¹, T. Cernohorsky¹, M. Pouzar¹, T. Kratochvil¹, R. Holusa²

¹Institute of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Chemical Technology,
University of Pardubice, Studentska 573, Pardubice

²Heubach Research Centre Ltd., SK Neumannova 1316, Zelené Předměstí, 530 02 Pardubice

Received 25 August 2014, accepted 7 September 2014

ABSTRACT

The aim of this work was to develop a methodology for the determination of fluorine in real samples of organic Pigment Yellow 154. Although several methods are successfully used for determining of fluorine, most of the methods require digestion of the sample. Unfortunately, transferring of fluorine into the solution is frequently not quantitative. It is therefore appropriate to use a method for the analysis of solid samples. A suitable method is laser-induced breakdown spectrometry (LIBS). Samples were measured in air, helium and argon atmosphere in the form of pellets and with a thin layer on the tape. Suitable modification appears as compressed samples to form of pellets, and the ablation chamber filled with helium. The limit of detection was determined as F 0.538% (w / w). The proposed method was successfully applied to the determination of F concentration in a real sample of organic pigment.

1. INTRODUCTION

Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) is an instrumental analytical method which can be used for qualitative and quantitative elemental analysis. It has achieved great popularity primarily due to the speed of analysis, easy direct analysis of solid samples and good detection limits for a wide range of elements, including light ones. Another advantage is the possibility of quasi-non-destructive, multi-analyte analysis without the necessity of exacting a sample preparation step. The LIBS technique is one of the methods in the optical atomic emission spectrometry. The principle of the LIBS spectroscopy is generating microplasma above the sample surface with a laser pulse. This process is known as laser ablation. Laser ablation is a summary of the processes, which lead to heating, fusion and evaporation of the material sample to be analysed due to interaction with the laser pulse. Interaction of the laser beam with the surface of the sample leads to excitation of microplasma, formation of free atoms and subsequent emission of the characteristic radiation of the resulting plasma [1].

The difficulty of F determination follows from its ability to form complexes which are rarely decomposable. The most commonly used methods for the determination of F are ion selective

electrode, ion chromatography or isotachopheresis [2,3,4]. The afore-mentioned methods require converting of the solid sample into a solution, where F is present in an ionic form. The transfer of the sample into the solution is often extremely difficult and tedious. Molecular absorption spectrometry with a continuous source is another suitable method for an analysis of F. This method unfortunately requires a high homogeneity in the sample. Gleisner et al. [5] determined the total and soluble F in toothpaste. The method is based on the molecular absorption of gallium mono-fluoride (GaF), with the use of a commercially available high-resolution continuum source atomic absorption spectrometer (HR-CS MAS). The limit of detection was 30 µg g⁻¹. The results for the total fluorine were compared with a modified conventional headspace gas chromatographic procedure. The accuracy and precision of the two procedures were comparable, but the proposed procedure was much less labour-intensive and faster than the chromatography. Another possibility for direct analysis of F in solid samples is the use of X-ray fluorescence spectrometry (XRF) and LIBS. Expensive wavelength-dispersive systems are usually needed to analyse F with the use of XRF. A suitable preparation of the sample is

Corresponding author: Tomas Cernohorsky, e-mail: Tomas.Cernohorsky@upce.cz
 Keywords: Laser-induced breakdown spectroscopy, Fluorine, Organic pigments.

necessary for a quantitative analysis of F with XRF. A study of An et al. [6] was carried out to assess the applicability of WD-XRF in the determination of soil fluorine. This method worked well and was able to determine the extent of contamination of F in soil without previous extraction steps. The limits of detection and quantification were calculated as 1.62 and 5.39 mg F in the absolute mass term. An interesting alternative to the afore-mentioned methods is LIBS. This technique allows for a rapid qualitative and quantitative analysis with minimal sample preparation.

There is a need during the analysis of F to watch the atmosphere in the ablation chamber. The influence of the helium and argon atmosphere for the sensitivity of analysis is described below. It is generally believed that in determining F, the helium atmosphere in the ablation chamber has the effect of increasing in signal intensity while lowering the spectral background. This is confirmed by several studies. The issue of determination of fluorine in pharmaceutical pellets is the subject of the works of the authors St-Onge et al. [7]. When the analysis is performed in a helium atmosphere, the increase in the signal intensity of the analyte is possible up to eight times. An analysis of F in a helium atmosphere allows for detecting lines of F which are not detectable in the air. The limit of detection of F was 0.264 % F (w/w). Similarly, pellets containing F and Cl were analysed in the work of Asimellis et al. [8]. The pellets were placed in an evacuated ablation chamber and helium was supplied. Reproducible results have been obtained for a concentration down to 0.03% F (w/w). A similar effect has been described for argon atmosphere in the work of the authors Williamson et al. [9], which is devoted to an analysis of halons. The analytical line of F is typically located at a wavelength of 685.6 nm, but after filling the chamber with argon, F was also measured at a wavelength of 811.4, 840.8 and 842.5 nm.

The goal of our work was to evaluate the influence of sample preparation and the influence of the atmosphere in the ablation chamber for analysis of samples of organic pigments (pigment yellow 154). Two methods of sample preparation were used for the actual analysis, pressed into pellets and the preparation of a thin layer was deposited on the tape. The influence of the atmosphere of air and helium and argon in the ablation chamber was also observed at the same time.

2. EXPERIMENTAL

2.1 Sample preparation

Samples of organic pigments from Heubach Research Centre Ltd. were analysed. Pigments were prepared by a diazotization of the individual

active components: aniline and trifluoromethylaniline. Particular samples of pigments were milled in a rotary grinder to achieve optimum particle size distribution. A set of 8 real samples was used to optimize the conditions and calibration of the spectrometer. The concentration range of F in these samples declared by the pigment producer was 0–14% F (w/w). The optimized method was used for the analysis of two real samples of unknown F concentration. Theoretical concentrations of F in these samples were calculated from the stoichiometry of the chemical reaction describing the pigment production process. The reaction is shown in Fig. 1.

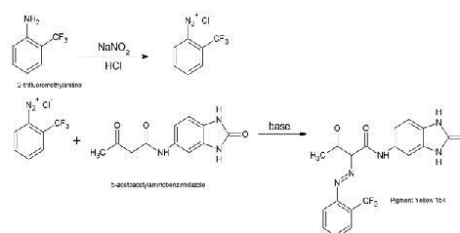


Figure 1: Reaction of production Pigment Yellow 154

Samples were prepared for LIBS analysis in two directly analysable forms. For preparing pellets, samples were dispensed into the crimping head using a manual hydraulic press (diameter 15 mm, height 5 mm). The pressure used was 195 bar. The second applied sample preparation method was the deposition of the thin layer of pigment on the surface of adhesive tape. This sample preparation minimizes clogging of the optical system of the spectrometer during the analysis. The sample was transferred by plastic spoon on the surface of commercially available single-sided adhesive tape and spread over the entire surface with a metal spatula and a soft brush. This procedure has proven itself already in previously published work [10, 11].

3. INSTRUMENTATION

We used a commercially available, fully automated LIBS spectrometer LEA-S500, for the analysis. This spectrometer uses a two-pulse nanosecond Nd:YAG laser operating in a co-linear arrangement. The energy pulse may be optimized in the range of 80–150 mJ. The delay between two consecutive pulses can be adjusted from 0 to 20 microseconds. The scanned wavelength range of the spectrometer is from 170 to 800 nm. Detailed technical parameters of the device were described in our previous work [10, 11]. For analysing the measured data, we used the statistical program ADSTAT version 2.0.

4. METHOD DEVELOPMENT

The intense fluorine spectral lines are located at wavelengths of 683.4; 685.6; 687.02 and 690.2 nm. Primarily due to the high sensitivity and applicability for analytical purposes throughout the calibration range, a line lying at a wavelength of 685.6 nm was evaluated as the best one.

Optimisation of analytical conditions was performed with regard to the signal-to-background ratio (SBR) and the relative standard deviation (RSD) of the analytical line intensity. An evaluation was made of the effect of the laser pulse energy, the delay between pulses (delay), spot size and the flow of inert gas. Optimization of the parameters was performed for the sample with the highest concentration of fluorine, in order to record the possible saturation of the detector signal of the analyte. The width of the entrance slit, the number of laser pulses at one point and the analytic number of the analytical points, or the number of analysed locations on the sample were selected as fixed parameters for which optimal values were chosen based on the authors' experience. The average spectrum of the points obtained from a single measurement was used for the evaluation. To optimize the measurement parameters, we initially selected the initial conditions and subsequently optimized each parameter one by one. The other parameters remained unchanged.

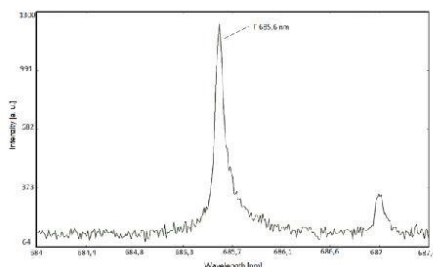


Figure 2: Line of F measured at a wavelength of 685.6 nm in the helium atmosphere

5. RESULTS AND DISCUSSION

5.1 Optimization of the parameters

Table I shows the parameters optimized for the analysis of the tape and pellets. The fixed parameters were as follows for the analysis of the tape: the width of the entrance slit 20 μm , the number of laser pulses 1, the analytical values of the fixed points 9. The fixed parameters for the analysis pellets were as follows: the width of the entrance slit 20 μm , the number of laser pulses 4, the number of analysis points 4. The parameters of the delay and the width of the spot were optimized for measurement in air. The measurement in helium and argon atmosphere remained the same.

OPTIMIZED CONDITION	Thin layer on the tape					
	Air	SBR	Helium	SBR	Argon	SBR
ENERGY [MJ]	130	4.06	140	8.89	120	2.70
SPOT [μm]	400	6.21	400	6.21	400	6.21
DELAY [μs]	6	4.03	6	4.03	6	4.03
FLOW OF GAS [L/MIN]	-		3.7	6.17	1.8	2.56
	Pellets					
	Air	SBR	Helium	SBR	Argon	SBR
ENERGY [MJ]	140	2.04	135	7.98	120	2.14
SPOT [μm]	300	2.23	300	2.23	300	2.23
DELAY [μs]	6	7.75	6	7.75	6	7.75
FLOW OF GAS [L/MIN]	-		5.3	7.42	1.5	1.84

Table 1: Optimized conditions of measurement

5.2 Calibration

During the process of the calibration curves construction, each sample with a declared concentration of F was measured three times. These samples were analysed in the form of pellets and as a thin layer on the tape. The evaluation was carried out by integrating the peak area and peak height. The obtained dependencies are listed for both types of sample preparation on the following charts (Fig. 3-6). The obtained coefficients of determination, equations of regression, LOD and statistical parameters are given in Table II. The LOD and statistical characteristics were calculated with the use of the statistical program ADSTAT 2.0, module Calibration - Linear Spine.

As can be seen from the graphs and table, the sample form has the greatest influence on the analysis. Regression parameters were significantly worse for the measurement of thin layers on tape. The results indicate that the pellets are a more suitable form of sample than the thin layers on the tape.

Another important factor is the selected atmosphere in the ablation chamber. It is evident that the changing of the atmosphere in the ablation chamber significantly affected the quality of the calibration. The helium atmosphere was evaluated as advantageous for analysing these samples of organic pigments. The slope of curve and linearity were higher than for the other examined atmospheres. The effect of the argon atmosphere is comparable with the measurement of the air. The means of evaluation of the measured lines of F has a certain effect on the result of the analysis. Higher linearity is obtained with the use of the peak height. The peak area integration is less accurate for small inequality on the plot of the peak.

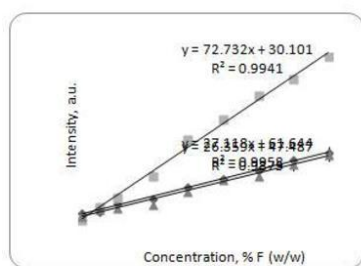


Figure 3: Calibration curve - pellets (peak height)
▲ - Argon, ♦ - Air, ■ - Helium

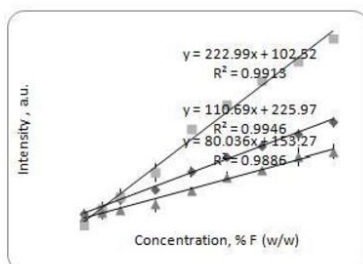


Figure 4: Calibration curve - pellets (peak area)
▲ - Argon, ♦ - Air, ■ - Helium

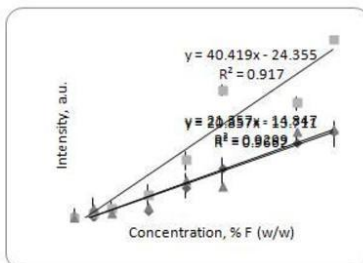


Figure 5: Calibration curve - tapes (peak height)
▲ - Argon, ♦ - Air, ■ - Helium

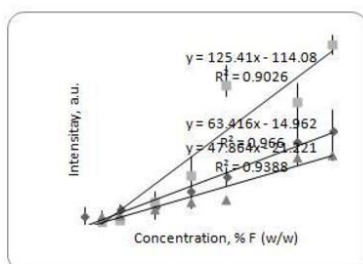


Figure 6: Calibration curve - tapes (peak area)
▲ - Argon, ♦ - Air, ■ - Helium

LOD [% F (w/w)]		Basic characteristics of the linear regression				
Form of samples	Atmosphere in ablation chamber	LOD	MEP	AIC	R²	Regression equation
Pellets - peak height	Air	1,389	579,6	170,8	0,9714	$27,118x + 61,644$
	Helium	0,538	952,3	185,6	0,9961	$72,732x + 30,101$
	Argon	1,749	698,2	176,2	0,9633	$26,339x + 47,487$
Pellets - peak area	Air	1,114	7705	241,1	0,9767	$110,69x + 225,97$
	Helium	0,6083	15460	260,7	0,9953	$222,99x + 102,52$
	Argon	2,001	7674	231,9	0,9575	$80,036x + 153,27$
Tapes - peak height	Air	- *	1023	166,3	0,9209	$20,857x - 13,711$
	Helium	4,829	4551	202,5	0,9063	$40,419x - 24,355$
	Argon	4,861	1226	170,8	0,9099	$21,357x - 14,847$
Tapes - peak area	Air	5,231	15459	230,3	0,8819	$63,416x - 14,962$
	Helium	- *	6571	266,9	0,8638	$125,41x - 114,08$
	Argon	3,259	5912	208,7	0,9125	$47,864x - 21,221$

* The value was not calculated by the program ADSTAT

Table 2: Limits of detection and linear regression parameters for each calibration curve

5.3 Determination of F in unknown samples

Samples of an unknown concentration of F were measured as well as the samples for calibration. The samples were measured three times under optimum conditions in the form of pellets in a helium atmosphere. The measured values are listed in Table III. The measured values of F concentrations were in good agreement with the theoretical concentrations calculated with the use of the reaction scheme depicted in Fig 1.

	Theoretical conc. (% F)	Measured conc. (%F)	Ratio
Sample A	3.37	3.26 ± 0.3421	0.9674
Sample B	11.30	11.14 ± 0.3073	0.9858

Table 3: Theoretical and measured concentration of F in unknown samples

The results obtained by analysing thin films were not reproducible, based on the small thickness of the layer applied on the tape and due to the lack of homogeneity. The obtained intensity did not correspond with the F concentration in the sample, the different amounts of the sample were ablated. This problem is usually solved with the use of the compare line. This was not possible in our case since the scanned window has a size of 30 nm and this window cannot find any suitable comparative line.

CONCLUSION

The described method allows for the determination of fluorine in samples of Yellow 154 organic pigment with use of a laser-induced breakdown spectroscopy. The best results were obtained for analysing samples in the pellet form and in an atmosphere of helium. The helium atmosphere in the ablation chamber reduces the spectral background and increases the analyte signal intensity. Compression of organic pigments into pellets seems a more appropriate form. The samples analysed in the form of a thin layer on the tape were not suitable for analysis of this type of pigments. The RSD and LOD values in this case are significantly higher than for the samples prepared as pellets. The advantage of the developed method determination of F with the use of the LIBS spectroscopy is its simplicity, speed and accuracy. The knowledge acquired could be used for creating a routine procedure for an analysis of fluorine in solid samples.

REFERENCES AND NOTES

- [1] Pasquini C., Cortez J., Silva M. C., Gonzaga F. B., Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2007**, *18*, 3, 463-512. 0103-5053.
- [2] Attin T., Lennon A. M., Yakin M., Becker K., Buchalla W., Attin R., Wiegand A., Deposition of fluoride on enamel surfaces released from varnishes is limited to vicinity of fluoridation site, *Clin. Oral. Investig.*, **2007**, *11*, 83-88, 1435-6981.
- [3] Wang Q., Makishima A., Nakamura E., Determination of fluorine and chlorine by pyrohydrolysis and ion chromatography: comparison with alkaline fusion digestion and ion chromatography, *Geostand. Geoanal. Res.*, **2010**, *34*, 175-183, 1639-4488.
- [4] Blatny P., Kvasnicka F., Determination of fluoride in feed mixtures by capillary isotachopheresis, *J. Chromatogr. A*, **1994**, *670*, 223-228, 0021-9673.
- [5] Gleisner, H., Welz, B., Morés, S. Einax, J. W., Carasek E., A fast and accurate method for the determination of total and soluble fluorine in toothpaste using high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry and its comparison with established techniques, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2011**, *54*, 1040-1046, 0731-7085.
- [6] An, J., Kim, K., Yoon, H., Seo, J., Application of the wavelength dispersive X-ray fluorescence technique to determine soil fluorine with consideration of iron content in the matrix, *Spectrochim. Acta B*, **2012**, *69*, 38-43, 0584-8547.
- [7] St-Onge, L., Kwong E., Sabsabi M., Vadas E. B., Quantitative analysis of pharmaceutical products by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, **2002**, *57*, 7, 1131-1140. 0584-8547.
- [8] Assimellis G., Hamilton S., Giannoudakos A., Kompitsas M., Controlled inert gas environment for enhanced chlorine and fluorine detection in the visible and near-infrared by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, **2005**, *60*, 7-8, 1132-1139, 0584-8547.
- [9] Williamson C. K., Daniel R. G., Mcnesby K. L., Miziolek A. W.: Laser-induced Breakdown Spectroscopy for Real-Time Detection of Halon Alternative Agents. *Anal. Chem.*, **1998**, *70*(6), 1186-1191. 0003-2700.
- [10] Pouzar M., Kratochvíl T., Čapek L., Smoláková L., Černohorský T., Krejčová A., Hromádka L.: Quantitative LIBS analysis of vanadium in samples of hexagonal mesoporous silica catalysts. *Talanta*, **2011**, *83*(5), 1659-1664. 0039-9140
- [11] Kratochvíl T., Pouzar M., Novotný K., Havránek V., Černohorský T., Zvolská M.: The use of laser-induced breakdown spectroscopy for the determination of fluorine concentration in glass ionomer cement. *Spectrochim. Acta B*, **2013**, *88*, 26-31. 0584-8547.



Article

The Health Risk of Cd Released from Low-Cost Jewelry

Miloslav Pouzar ^{1,2}, Magdalena Zvolská ^{1,*}, Oldřich Jarolím ³ and Lenka Audrlická Vavrušová ¹

¹ Institute of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentska 573, 532 10 Pardubice, Czech Republic; Miloslav.Pouzar@upce.cz (M.P.); Lenka.AudrlickaVavrusova@upce.cz (L.A.V.)

² Center of Materials and Nanotechnologies (CEMNAT), Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Nam. Cs. Legii 565, 530 02 Pardubice, Czech Republic

³ Department of Waste Management, Czech Environmental Inspectorate, Na Břehu 267, 190 00 Praha 9, Czech Republic; Oldrich.Jarolim@cizp.cz

* Correspondence: ZvolaskaMagdalena@seznam.cz; Tel.: +420-466-037-196

Academic Editor: Helena Solo-Gabriele

Received: 14 March 2017; Accepted: 9 May 2017; Published: 12 May 2017

Abstract: The composition of the surface layer of 13 low-cost jewelry samples with a high Cd content was analyzed using an energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometer (ED XRF). The analyzed jewels were obtained in cooperation with the Czech Environmental Inspectorate. The jewels were leached in two types of artificial sweat (acidic and alkaline) for 7 days. Twenty microliters of the resulting solution was subsequently placed on a paper carrier and analyzed by an LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectrometry) spectrometer after drying. The Cd content in the jewelry surface layer detected by using ED XRF ranged from 13.4% to 44.6% (weight per weight—w/w). The samples were subsequently leached in artificial alkaline, and the acidic sweat and leachates were analyzed using laser-induced breakdown spectrometry (LIBS). The amount of released Cd into alkaline sweat ranged from 24.0 to 370 µg Cd per week, respectively 3.23–61.7 µg/cm²/week. The amount of released Cd into acidic sweat ranged from 16.4 to 1517 µg Cd per week, respectively 3.53–253 µg/cm²/week. The limit of Cd for dermal exposure is not unequivocally determined in the countries of the EU (European Union) or in the U.S. Based on the USEPA (United States Environmental Protection Agency) approach used to establish the reference dose (RfD) for Cd contained in food and information about the bioavailability of Cd after dermal exposure, we assessed our own value of dermal RfD. The value was compared with the theoretical amount of Cd, which can be absorbed into the organism from jewelry in contact with the skin. The calculation was based on the amount of Cd that was released into acidic and alkaline sweat. The highest amount of Cd was released into acidic sweat, which represents 0.1% of dermal RfD and into alkaline sweat, 0.5% of dermal RfD. These results indicate that the analyzed jewelry contains Cd over the limit for composition of jewelry available within the territory of the EU. The determined amount of Cd in analyzed jewelry does not, however, pose a threat in terms of non-carcinogenic toxic effects.

Keywords: health risk; low-cost jewelry; artificial sweat; cadmium; laser-induced breakdown spectrometry

1. Introduction

Cadmium is a toxic metal that is easily accumulated in the human body. Even low exposure levels can cause accumulation in human tissues, especially in the kidneys [1]. Chronic cadmium poisoning can inflict renal dysfunction or emphysema, among other afflictions [2]. A number of epidemiological studies have suggested that cadmium is a human carcinogen. According to the EU (European Union)

regulation (No. 1272/2008) on classification, labeling, and packaging of substances and mixtures, cadmium is classified as carcinogenic (cat. 1B), mutagenic (cat. 2), toxic for reproduction (cat. 2), acutely toxic (cat. 2), and toxic for the aquatic environment.

The European Commission issued a document on the results of a risk evaluation and on risk reduction strategies for cadmium and cadmium oxide (2008/C 149/03) in 2008. The commission concluded that risk management measures were needed for the protection of consumers because of concerns for genotoxicity and carcinogenicity irrespective of the route of exposure, as the substance was considered a non-threshold carcinogen, arising from wearing (imported) jewelry. As of 2011, cadmium has been restricted in jewelry in EU/EEA (European Union/European Economic Area) countries by the REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) regulation (No. 1907/2008), Annex XVII, entry 23(10). This restriction was implemented by Commission Regulation No. 494/2011 and limits the concentration of cadmium in the metal parts of jewelry and imitation jewelry articles and hair accessories to a maximum of 0.01% by weight. Jewelry and jewelry-like articles containing cadmium over the limit cannot be placed on the market in EU/EEA countries as of January 2012.

The number of non-compliant jewelry articles on the market is deemed to be extremely high. The Czech Environmental Inspectorate tested, for example, 105 random pieces of jewelry placed on the market in the Czech Republic in 2015. Twenty-three articles contained cadmium levels over the limit. The average cadmium content of those non-compliant articles was 35% w/w (weight per weight). Non-compliant articles were found in 2016 as well, the maximum amount of cadmium found in an article was 91% w/w. It can be concluded that cadmium in jewelry is not present as an unwanted contaminant but is rather deliberately used during the production of jewelry articles. Cadmium is used in all probability in the production of such articles due to its favorable properties. It is easy to utilize, resistant to rust, and relatively cheap. Jewelry articles with cadmium are also abundant in other EU/EEA states. The database of the Rapid Exchange of Information System RAPEX (The Rapid Alert System for non-food dangerous products); EU alert system for unsafe consumer products) listed, for example, 157 notifications from member states regarding cadmium jewelry over the 2012–2016 period [3]. Notifications involving cadmium jewelry amounted to 6.5% of all RAPEX notifications concerning chemical risk in 2016.

Cd content is not only limited in jewelry, but also in other objects of human daily use, such as cosmetics, [4] articles for contact with food [5,6], or children's toys [7]. Cd content is monitored in textile or plastic in EU countries [8], with the Cd limit for both types of articles being 0.01 wt %.

In case of skin contact with objects containing Cd, the possibility of dermal exposure and the emergence of various types of irritation have been discussed. Assays for assessing the dermal toxicity of Cd have been described in several publications [9–11]. The test of percutaneous absorption of Cd was also performed on human skin samples [12]. The aim was to determine the absorption of Cd as a chloride salt from the aqueous solution through human skin into the plasma. Only 0.5 or 0.6% of the total amount of Cd, which was contained in the aqueous solution, was then absorbed through the skin into the blood plasma. According to the authors, the surface Cd concentration has an influence on the amount of Cd diffused into the skin, but Cd transfer into the plasma is independent from the concentration of Cd applied to the skin.

To determine the amount of released analyte from a solid sample, it is advisable to perform a leaching test. An artificial human sweat was used as a leaching agent for objects that may come into contact with the skin. A number of model solutions with defined content elements, organic compounds, pH, etc. were discussed. Artificial human sweat has been used to dissolve the chemical components of jewelry, textiles, cosmetics, pharmaceuticals, industrial chemicals, and others [13]. Tests of leaching are often used for determining the amount of released Ni from objects that are in contact with the skin. Ni is a significant allergen, which can cause dermatitis and other allergic reactions amongst sensitive individuals. Determination of Ni in sweat extracts of the analyzed objects has been described in several publications [14–19].

Non-destructive methods such as X-ray fluorescence spectrometry (XRF) can be used for analysis of the surface composition of the jewelry [20]. In order to assess the amount of Cd released from jewelry into human perspiration and for the assessment of dermal exposure, a leaching test with simulated human sweat can be performed. The most commonly used methods for water solution analysis are AAS (Atomic Absorption Spectrometry), ICP OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry), and ICP MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Here, we provide a new perspective on the possibility of leachate analysis and the determination of toxic elements in said leachates using Laser-Induced Breakdown Spectrometry (LIBS). Depositing a small solution volume on a solid support can be a suitable alternative method of analysis of leachates and a new option for the assessment of non-compliant subjects. This method could bring several advantages, such as speed of analysis, the minimization of the consumption of the sample, and the possibility of storing the dried samples and adequate detection limits.

2. Materials and Methods

2.1. Samples

Samples of cheap Cd containing jewelry were obtained from the Czech Environmental Inspectorate. The subject of our interest was a total of 13 pieces of jewelry (3 sets of earrings, 6 pendants, and 1 ring) originating from inspections of three e-shops trading in cheap Chinese goods. Illustrative photos of the analyzed jewelry are shown in Table 1.

Table 1. Surface composition of jewelry from an Energy-Dispersive X-ray Fluorescence Spectrometer (ED-XRF) and parameters of the analyzed samples.











Sample	ED XRF [%, w/w]						Area (cm ²)	Weight (g)	Picture
	Cd	Cu	Zn	Sn	Ni	Ag			
1B	44.64	35.82	5.55	0.00	13.76	0.23	6.00	5.676	
2B	34.52	25.78	39.71	0.00	0.00	0.00	9.00	10.24	
3B	26.59	46.00	25.31	0.20	0.35	1.55	4.00	2.58	
4A	24.96	64.73	8.20	0.21	0.47	1.42	3.00	4.21	
6A	29.13	57.07	7.18	0.00	0.00	6.63	1.00	3.59	
7A	13.69	65.01	20.00	0.00	0.93	0.37	6.25	4.07	
9A	29.11	38.06	32.00	0.00	0.58	0.25	9.00	4.63	
5A	25.73	64.30	9.20	0.00	0.54	0.24	12.50	4.80	

Table 1. Cont.

Sample	ED XRF [%, w/w]						Area (cm ²)	Weight (g)	Picture
	Cd	Cu	Zn	Sn	Ni	Ag			
10A	19.50	52.49	26.63	0.39	0.34	0.65	4.00	2.88	
Ring	13.40	85.41	0.54	0.15	0.49	0.00	3.00	7.09	

2.2. Analysis of Surface Composition

The surface composition of the samples was analyzed using an Elva X energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometer (Elvatech Ltd., Kiev, Ukraine) equipped with a Pd X-ray tube and a thermoelectrically cooled Si-pin detector, PF 550 (MOXTEC, Orem, UT, USA). The power supply of the X-ray tube was operated at 40 kV, and the current was set via the auto-optimization procedure taking into account the optimal loading of the detector in a range of 6000–6500 counts per second (cps). The spectra were integrated for 90 s. Each sample was analyzed at five measuring points evenly spaced on that part of the sample that was supposed to be in contact with the skin. Parts of the sample that usually do not come in direct long-term contact with the skin, such as the solder holding the stone, were omitted from the analysis. Concentrations of elements detected in the samples were calculated by the standard-less module based on the fundamental parameters method.

2.3. Leaching the Samples in an Artificial Sweat

The leaching of jewelry samples was performed with two types of artificial sweat—acidic and alkaline [21]. Acidic sweat was prepared dissolving 0.5 g of L-histidine mono-chloride monohydrate ($C_6H_9O_2N_3 \cdot HCl \cdot H_2O$), 5 g of NaCl, and 2.2 g of $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ in 1 L of demineralized water. The pH value was adjusted by $0.1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ NaOH to 5.5. To prepare 1 L of alkaline sweat, 0.5 g of $C_6H_9O_2N_3 \cdot HCl \cdot H_2O$, 5 g of NaCl and 5 g of $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ was diluted in demineralized water. A solution of NaOH of a concentration of $0.1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$ was added for a pH adjustment to 8. The volume of artificial sweat for the leaching of the particular jewelry piece was chosen based on the sample surface area, so that 1 mL of the reagent was used for each 1 cm^2 of the surface. The sample parts, which were not supposed to come into direct contact with the skin (e.g., stones), were not included into the calculated surface. These parts were covered by resistant adhesive tape during leaching to prevent the release of Cd. The leaching procedure lasted 7 days and was performed at 37°C . The pieces of jewelry were then removed from the leachate, and $20 \mu\text{L}$ of the solution was spotted onto a circular piece of paper with a diameter of 17 mm and dried under an infrared lamp.

Leachate samples deposited on the paper carrier were analyzed using the commercially available compact LIBS spectrometer (LEA S500, Solar TII Ltd., Minsk, Belarus). The system consists of a dual pulse Q-switched Nd:YAG (Neodymium-doped Yttrium Aluminum Garnet) laser operating at 1064 nm. A nanosecond laser emitting two collinear pulses of 12 ns was operated at double-pulse mode with an inter-pulse delay of $7 \mu\text{s}$. A laser beam with an energy of 110 mJ was focused on the sample surface, where the analytical point with a diameter of $200 \mu\text{m}$ was ablated. Each sample was analyzed at nine independent analytical points, while every point was ablated by one laser shot. Radiation emitted by arising plasma was led through the entrance slit of $25 \mu\text{m}$ into a Czerny-Turner monochromator and the spectral window in a range from 205 to 235 nm was recorded by a back-thinned and front-illuminated CCD (Charge-Coupled Device) camera (2048×14 pixels). Quantitative analysis of Cd was carried out on an analytical line of 214.441 nm. Separate calibration curves were constructed for acidic and alkaline sweat samples in a range from 0 to $40 \text{ mg} \cdot L^{-1}$. Solutions of artificial sweat, spiked with Cd,

were used as calibration standards. The precision and accuracy of the LIBS methods was validated comparing LIBS and ICP OES for a set of 5 samples of each sweat type. The mean concentration values measured by both methods were equal, although the LIBS results suffered from a higher standard deviation. The sample volume needed for the analysis was substantially lower, by contrast, in the case of LIBS, and this method also offered the possibility of the long-term storage of liquid samples deposited on the solid carrier.

3. Results and Discussion

3.1. Surface Analysis

The analyzed jewelry samples revealed a truly variable surface composition. As can be seen in Table 1, the surface layer of all the samples contained Cd (13.4–44.6%), Zn (0.5–39.7%), and Cu (25.8–85.4%). A measurable content of Ag was contained in 11 out of the 12 samples (0.2–1.6%); Sn was detected in 4 samples (0.2–0.4%), and Ni was detected in 8 samples (0.3–13.8%). The Cd concentrations detected in the jewelry samples using ED XRF significantly exceeded the appropriate limits valid in the EU (0.01%), the USA (0.03%), and Canada (0.013%).

3.2. Leaching in Artificial Sweat

After measuring calibration standards, the limit of detection (LOD) for both acid and alkaline artificial sweat solutions was determined. The LOD was determined according to definition $3\sigma/s$, where σ is the standard deviation of intensity calculated from 36 repeated measurements of the lowest calibration standard (blank) performed under optimal conditions, and s is the slope of the calibration curve. The calculated LOD has a value of $0.08 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $0.06 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for acidic and alkaline artificial sweat, respectively. The relative standard deviation (RSD; %) calculated for measuring data of jewelry leachates was in a range from 4.79% to 22.6%.

One piece of each pair of earrings (1B, 2B, and 3B) was leached in acidic and one piece in alkaline artificial sweat. Data presented in Table 2 reveal that the total amount of cadmium, which was released into the alkaline sweat, constitutes in all cases about 20% of the amount released into the acidic sweat. Apart from the earrings, four pieces of pendants (4A, 6A, 7A, and 9A) were leached in alkaline sweat and two pieces of pendants (5A and 10A) together with one piece of ring in acidic sweat. The total amounts of Cd released into the particular types of artificial sweat are not clearly correlated with the Cd content in the sample surface layer. The correlation coefficients calculated for Cd content in jewelry and in alkaline ($r = 0.786$, $p = 0.04$) or in acidic sweat ($r = 0.830$, $p = 0.04$) were quite high, but these results were strongly biased by the influential point of 1B. After exclusion of the influential 1B point, the correlation coefficients significantly decreased (alkaline sweat $r = 0.614$, $p = 0.19$; acidic sweat $r = 0.607$, $p = 0.28$). The same relations were observed when the correlation coefficients were calculated for Cd content measured by ED XRF and for Cd released from one square centimeter of sample over one week (% Cd w/w vs. $\mu\text{g Cd}/\text{cm}^2/\text{week}$). The correlation coefficients for alkaline ($r = 0.763$, $p = 0.05$) and acidic ($r = 0.741$, $p = 0.09$) sweat were also quite high and similar, but these results were also biased by the influential point of 1B. In this case, the sharp decline in the correlation coefficient was also observed after exclusion of the influential 1B point (alkaline sweat $r = 0.312$, $p = 0.55$; acidic sweat $r = 0.56$, $p = 0.33$). It is apparent that the available set of samples is too small in number to be able to clearly describe the relationship between the surface composition of the sample and the amount of leached cadmium. Streicher et al. in their work from 2008 analyzed 21 samples of low cost jewelry containing 1.4–43.9% of Cd on the surface layer. Migration of the toxic metals was tested after sample submersion in 0.07 M HCl (Hydrochloric acid-simulation of gastric acid) for 7 days at 30 °C [20]. The observed correlation between the released Cd in $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{week}$ was low ($r = 0.49$), which is in agreement with our results, if we evaluate the correlation after exclusion of the influential points.

The obtained sample set contained 3 pairs of earrings. One earring out of the pair was leached in acidic and the other in alkaline artificial sweat. When comparing the results from leachate extracts for

pairs of earrings, alkaline artificial sweat provided higher results for dissolved Cd. This is surprising because it is generally assumed that metals are better dissolved in an acidic environment.

Table 2. The total amount of cadmium that was released into the artificial sweat, and calculated values for MADD and RCR.

Sample	Sweat Type	TRA Cd ($\mu\text{g}/\text{Week}$)	TRA Cd * ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{Week}$)	MADD ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{Day}$)	RCR (%)
1B	Alkaline	370.4	61.73	4.54×10^{-3}	1.13×10^{-1}
2B	Alkaline	72.70	8.078	8.90×10^{-3}	2.23×10^{-2}
3B	Alkaline	49.01	12.25	6.00×10^{-4}	1.50×10^{-2}
4A	Alkaline	29.37	9.789	3.60×10^{-4}	8.99×10^{-3}
6A	Alkaline	24.55	24.55	3.01×10^{-4}	7.52×10^{-3}
7A	Alkaline	24.00	3.840	2.94×10^{-4}	7.35×10^{-3}
9A	Alkaline	29.09	3.232	3.56×10^{-4}	8.90×10^{-3}
1B	Acidic	1517	252.9	1.86×10^{-2}	4.64×10^{-1}
2B	Acidic	340.5	37.83	4.17×10^{-3}	1.04×10^{-1}
3B	Acidic	222.3	55.585	2.72×10^{-3}	6.81×10^{-2}
5A	Acidic	44.14	3.532	5.41×10^{-4}	1.35×10^{-2}
10A	Acidic	16.36	4.089	2.00×10^{-4}	5.01×10^{-3}
Ring	Acidic	154.6	51.53	1.89×10^{-3}	4.73×10^{-2}

TRA Cd—total released amount of Cd per 1 week; TRA Cd *—total released amount of Cd per 1 week from 1 cm^2 of jewelry; MADD—maximum absorbable daily dose; RCR—risk characterization ratio.

3.3. Systemic Non-Carcinogenic Health Risk of Released Cd

A reference dose (RfD) is the regulatory limit established by the United States Environmental Protection Agency (US EPA) representing the maximum oral dose of a toxic substance, below which no adverse non-carcinogenic health effects should result from a lifetime of exposure. According to the Integrated Risk Information System [22], the calculation of RfD for chronic oral exposure was based on the assumption of increased proteinuria occurring when the Cd content in the renal cortex exceeds the value of $200\text{ }\mu\text{g Cd/g wet tissue}$. Cd daily intake of 0.352 mg (or 0.005 mg/kg/day for 70-kg adult), which is necessary in order for the concentration of this element in the renal cortex to reach the critical value, was estimated based on the work of Friberg et al. [23]. This work assumed a Cd biological half-life ($t_{1/2}$) of 19 years, an exposure duration of 50 years, and an absorption of 4.5% of Cd contained in the food. US EPA postulated only 2.5% absorption of Cd from the food and consequently established the NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect Level) value of $0.01\text{ mg of Cd/kg/day}$. RfD of 0.001 Cd/kg/day was then obtained dividing NOAEL by the uncertainty factor (UF) of 10. The US EPA document shared at the IRIS (Integrated Risk Information System) database unfortunately does not provide any further information regarding the used toxicokinetic model. When the one-compartment standard first-order elimination model with bolus administration described by Amzal et al. [24] was used, the same value of NOAEL (0.01 mg Cd/kg/day) was obtained for the subsequent set of parameters: a Cd gastrointestinal absorption index equal to 2.5%; a fraction of absorbed Cd transported to the kidney equal to 33%; a ratio of Cd content in the entire kidney and renal cortex of 1.25; a kidney weight of equal to 300 g ; and a Cd biological half-life $t_{1/2}$ of 18.3 years.

The EPA did not establish a limit of a similar meaning as the RfD for dermal exposure. To be able to assess the health risk of Cd released from low-cost jewelry, we performed our own approximation of dermal RfD based on the same toxicokinetic model. The parameters mentioned above were used except for the absorption index, which was set to 0.6%. The calculated value of NOAEL for dermal exposure was 0.042 mg/kg/day . The resulting dermal RfD in this case was also obtained dividing NOAEL by the uncertainty factor $\text{UF} = 10$ with a value of 0.004 mg/kg/day . The dermal RfD estimated in such a way represents a kind of worst-case scenario, in as much as the Cd absorption into the plasma could be lower than the absorption into the renal cortex with published data for absorption into the plasma varying between 0.1% and 0.6% [11].

The total amounts of Cd in µg released from a particular piece of jewelry (TRA—Total Released Amount) into acidic or alkaline artificial sweats over one week of leaching are summarized in Table 1. The maximum absorbable daily dose (MADD) of Cd from a particular piece of jewelry was calculated based on the assumed Cd bioavailability of 0.6% and an average human body weight of 70 kg according to the following equation: $MADD = 0.006 \times TRA / (70 \times 7)$. A factor of 7 in the denominator was used to convert the amount of Cd released over one week of leaching to the daily exposure. The risk characterization ratio (RCR) was then calculated as the hundredfold ratio of MADD and RfD. This factor serves as an estimate as to what percentage of the safe daily dose can be covered by Cd released from the jewelry. The amount of Cd leached into alkaline artificial sweat typically represents about 0.01–0.02% of the safe daily dose, while the maximal RCR for Sample 1B was 0.1%. In the case of acidic artificial sweat, RCR values are higher and more variable (ranging from 0.05% to 0.46%). Although the process of health risk estimation used is extremely simplified, it can be concluded that the evaluated set of Cd containing jewelry do not pose any serious health risk in terms of systemic non-carcinogenic effects.

4. Conclusions

A composition of a surface layer of 13 low cost jewelry samples with a high content of Cd was analyzed by ED XRF. These samples were subsequently leached in artificial acidic and alkaline sweat, and the resulting digests were applied onto solid carriers and analyzed by LIBS. The content of Cd in the jewelry surface layer ranged from 13.40% to 44.64% (w/w) with the measured values significantly exceeding permissible limits in the EU or U.S. The results of the analysis suggest that this jewelry should not be available in the countries of the EU. The analysis of the leachates indicates that acidic artificial sweat released an amount of Cd roughly 5-fold higher than that of artificial alkaline sweat. The relationship between the surface composition of the samples and the amount of Cd released into artificial sweat was not clearly demonstrated. The low bioavailability of Cd for dermal exposure, along with the small amounts of Cd released from the surface layer of the jewelry, leads to the conclusion that even the long-term use of these jewels does not constitute major health risks in terms of the biological and toxic effect of Cd. The maximum amount of released Cd from the analyzed jewelry makes up about 0.5% of a safe dose.

Acknowledgments: We thank Pavel Čičmanec (University of Pardubice, Department of Physical Chemistry) for valuable advice.

Author Contributions: Miloslav Pouzar analyzed samples by ED XRF and designed the calculation of Health Risk Assessment. Magdalena Zvolská prepared samples and leachates for analysis and analyzed samples by LIBS. Oldřich Jarolím provided samples of jewelry and designed the calculation of Health Risk Assessment. Lenka Audrlická Vavrušová designed the calculation of Health Risk Assessment. Miloslav Pouzar and Magdalena Zvolská wrote the paper and Oldřich Jarolím revised the document.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Satarug, S.; Baker, J.R.; Reilly, P.E.; Moore, M.R.; Williams, J.D. Cadmium levels in the lung, liver, kidney cortex, and urine samples from Australians without occupational exposure to metals. *Arch. Environ. Health Int. J.* **2002**, *57*, 69–77. [CrossRef] [PubMed]
2. Friberg, L.; Elinder, C.G.; Kjellstrom, T. *International Programme on Chemical Safety; Environmental Health Criteria-Cadmium*; Geneva, Switzerland, 1992.
3. RAPEX. Rapid Alert System for dangerous non-food products. In *European Commission's Directorate General for Justice and Consumers*; European Commission: Brussel, Belgium, 2017.
4. Regulation No. 1223/2009, Regulation (EC) No. 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on Cosmetic Products, in EUR-Lex, EUR-Lex Access to European Union Law. Available online: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32009R1223> (accessed on 10 March 2017).

5. International Organization for Standardization. *International Standard ISO 6486-2, Ceramic Ware, Glass-Ceramic Ware and Glass Dinnerware in Contact with Food—Release of Lead and Cadmium—Part 2: Permissible Limits*; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 1999.
6. International Organization for Standardization. *International Standard ISO 7086-2, Glass Hollowware in Contact with Food—Release of Lead and Cadmium—Part 2: Permissible Limits*; International Organization for Standardization: Geneva, Switzerland, 2000.
7. Guney, M.; Zagury, G.J. Heavy metals in toys and low-cost jewelry: Critical review of U.S. and Canadian legislations and recommendations for testing. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 4265–4274. [CrossRef] [PubMed]
8. Commission Regulation (EU). No. 835/2012, in Official Journal of the European Union. Available online: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A32012R0835> (accessed on 10 March 2017).
9. Fasanya-Odeyemi, C.; Latinwo, L.M.; Ikediobi, C.O.; Gilliard, L.; Sponholtz, G.; Nwoga, J.; Stino, F.; Hamilton, N.; Erdos, G.W. The genotoxicity and cytotoxicity of dermally-administered cadmium: Effects of dermal cadmium administration. *Int. J. Mol. Med.* **1998**, *1*, 1001–1006. [CrossRef] [PubMed]
10. Lansdown, A.B.G.; Sampson, B. Dermal toxicity and percutaneous absorption of cadmium in rats and mice. *Lab. Anim. Sci.* **1996**, *46*, 549–554. [PubMed]
11. Strandesen, M.; Poulsen, P.B. *Survey of Chemical Substances in Consumer Products, No. 94—Survey and Health Assessment of Chemical Substances in Jewellery*; Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency: Copenhagen, Denmark, 2008.
12. Wester, R.C.; Maibach, H.I.; Sedik, L.; Melendres, J.; DiZio, S.; Wade, M. In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fundam. Appl. Toxic.* **1992**, *19*, 1–5. [CrossRef]
13. Stefaniak, A.B.; Harvey, C.J. Dissolution of materials in artificial skin surface film liquids. *Toxicol. In Vitro* **2006**, *20*, 1265–1283. [CrossRef] [PubMed]
14. Milosev, I.; Kosec, T. Metal ion release and surface composition of the Cu-18Ni-20Zn nickel-silver during 30 days immersion in artificial sweat. *Appl. Surf. Sci.* **2007**, *254*, 644–652. [CrossRef]
15. Pouzar, M.; Schmidt, M.; Krejčová, A.; Černohorský, T. Nickel release from piercing jewellery. *SRX Chem.* **2010**, *2010*, 769070. [CrossRef]
16. Rezić, I.; Zeiner, M.; Steffan, I. Determination of allergy-causing metals from coins. *Monatshefte Chem.* **2009**, *140*, 147–151. [CrossRef]
17. Rezić, I.; Curkovic, L.; Ujevic, M. Metal ion release from electric guitar strings in artificial sweat. *Corros. Sci.* **2009**, *51*, 1985–1989. [CrossRef]
18. Midander, K.; Pan, J.; Wallinder, I.O.; Heim, K.; Leygraf, C. Nickel release from nickel particles in artificial sweat. *Contact Dermat.* **2007**, *56*, 325–330. [CrossRef] [PubMed]
19. Hamann, D.; Thyssen, J.P.; Hamann, C.R.; Hamann, C.; Menné, T.; Johansen, J.D.; Spiewak, R.; Maibach, H.; Lundgren, L.; Lidén, C. Jewellery: Alloy composition and release of nickel, cobalt and lead assessed with the EU synthetic sweat method. *Contact Dermat.* **2015**, *73*, 231–238. [CrossRef] [PubMed]
20. Streicher-Porte, M.; Buckenmayer, A.; Pfenninger, S. What goes around comes around? High levels of cadmium in low cost jewelry. In Proceedings of the IEEE International Symposium on Electronics and the Environment (ISEE 2008), San Francisco, CA, USA, 19–22 May 2008; IEEE: San Francisco, CA, USA, 2008; pp. 1–5.
21. Randin, J.P. Corrosion behavior of nickel-containing alloys in artificial sweat. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* **1988**, *22*, 649–666. [CrossRef] [PubMed]
22. Integrated Risk Information System (IRIS): U.S. Environmental Protection Agency; National Center for Environmental Assessment. *Chemical Assessment Summary*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2017.
23. Friberg, L.; Piscator, M.; Nordberg, G.F.; Kjellström, T. *Cadmium in the Environment*; CRC Press: Ithaca, NY, USA, 1974.
24. Amzal, B.; Julin, B.; Vahter, M.; Wolk, A.; Johanson, G.; Akesson, A. Population toxicokinetic modeling of cadmium for health risk assessment. *Environ. Health Perspect.* **2009**, *117*, 1293–1301. [CrossRef] [PubMed]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

SCIENTIFIC PAPERS
OF THE UNIVERSITY OF PARDUBICE
Series A
Faculty of Chemical Technology
23 (2017)

**LASER INDUCED BREAKDOWN SPECTROMETRY
FOR QUANTITATIVE ANALYSIS OF Cd IN
ARTIFICIAL SWEAT LEACHATE OF JEWELLERY**

Magdalena ZVOLSKÁ^{1a}, Miloslav POUZAR^{a,b}, Tomáš ČERNOHORSKÝ^a,
and Oldřich JAROLÍM^c

^aInstitute of Environmental and Chemical Engineering,

^bCentre of Materials and Nanotechnologies (CEMNAT),
The University of Pardubice, CZ-532 10 Pardubice,

^cCzech Environmental Inspectorate, Department of Waste Management,
CZ-190 00 Prague

Received February 6, 2017

A new method has been developed for the determination of cadmium in artificial sweat leachate using laser induced breakdown spectrometry (LIBS). Small volume of liquid samples could be applied onto the solid carrier, dried under the IR lamp, and subsequently analysed by the LIBS device. For calibration, two series of standard solutions of artificial sweat were prepared: alkaline (pH 8) and acidic (pH 5.5). The known volumes of the Cd standard (with concentration of $1 \pm 0.001 \text{ g l}^{-1}$) were added into the samples of artificial sweat; calibration standards prepared ranging from 0-40 mg l⁻¹ for acidic and 0-30 mg l⁻¹ for alkaline sweat. To optimize the LIBS measurements, the regression parameters (R^2 , AIC, MEP)

¹ To whom correspondence should be addressed.

were the criteria of choice. For our purposes, three cadmium lines at wavelengths 214.44 nm, 226.50 nm, and 228.80 nm were monitored. In model solutions, the method developed has provided the limits of detection (LODs) of 0.08 mg l⁻¹ for acidic and of 0.06 mg l⁻¹ for alkaline sweat.

The optimized method could then be used for the determination of Cd in artificial sweat leachates of jewellery samples, when the values obtained were in good agreement with the results from the reference analysis by ICP-OES. The proposed method is fast, simple, and requiring only minimal volume of samples. For analysis of leachate of jewellery, fabrics or products of daily consumption, this approach employing LIBS can be an interesting alternative to commonly used techniques, such as ICP OES or AAS.

Introduction

Quantitative analysis of toxic elements in leachates of simulated sweat may be crucial to distinguish between harmful and harmless objects potentially coming into contact with human skin. Such types of analyses can involve an idea about the transport of harmful and toxic components (e.g. Cd, Co, Ni, Pb and others) into the human sweat and about their effects in direct contact with the body. Similar analyses can concern not only jewellery, but also toys, coins, textile, and other items of everyday consumption [1-3]. The elements observed can cause various allergies and irritation or dermatitis. In several publications, similar experiment was conducted with the opposite purpose — to demonstrate how much sweat is harmful for metallic materials and what damage may cause. A view from the other side, when human sweat can damage the metal parts of tools and devices, was also described [4]. For analogous experiments, a simulated human sweat is being used. The experiments with leachate should be performed in unambiguously defined solutions that are usually controlled by the national or international regulations [5-8].

For analysis of artificial sweat, the most frequently used techniques are ICP-OES, ICP-MS, and AAS [9-12]. Not so common method is e.g. potentiodynamic polarization applicable to determine the degree of damage of tools caused by sweat [13].

Advantages of these approaches to the solution analysis are low detection limits and speed of analysis. The disadvantage may then be the investment into the equipment and rather high operational / running costs.

Laser Induced Breakdown Spectrometry (LIBS) offers advantages for analysis of sweat leachates and similar liquid samples. Many commercially available spectrometers for LIBS are not suitable for direct analysis of such liquids. Solutions can be applied on the surface of a solid substrate, e.g. paper, metal or plastic carrier and, after drying, carriers can be analysed directly by LIBS

as described in several publications [14,15], but the analysis of sweat samples by this technique has not yet been described. Proposed procedures for sample preparation minimise the matrix effect of samples and improve the limits of detections. Other advantage is a reduction of the sample volume for analysis; the respective measurements being fast and simple. In our opinion, LIBS is an interesting alternative to the analytical methods mentioned above and employing ICP-MS or AAS.

In the method proposed herein, LIBS was used for determination of Cd in two types of artificial sweat applied onto solid carrier. For leaching of jewellery two types of solutions were used differing in conditions simulating the pH of human sweat. When using commercially available spectrometers, the samples of solutions cannot be analysed directly, but a small volume (several tens of microliters) is applied onto the solid carrier that is dried and then analysed by LIBS. After drying, the samples may be stored for some time in closed bags. Similar procedure for this type of analysis is not used often; nevertheless, the resulting speed, ease of use, ability to analyse very small volumes, and the possibility to store samples seem to find some application.

Experimental

Reagents and Standards

First, two different types of artificial human sweat were prepared according to Decree of the Ministry of Health on hygiene requirements for toys and products for children up to 3 years (No. 84/2001 Coll.). Acid sweat was prepared from 0.5 g $C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl \cdot H_2O$ (L-histidine monohydrochloride; Sigma-Aldrich, purity 98 %), 5 g NaCl + 2.2 g $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (both p.a. and purchased from Lach-Ner,). Acidity was adjusted with the aid of 0.1 mol l⁻¹ NaOH (Penta, p.a.) to pH 5.5 and made up to a total volume of 1 l. Alkaline sweat was prepared from 0.5 g $C_6H_9O_2N_3 \cdot HCl \cdot H_2O$ (as above), 5 g NaCl + 5 g $Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$ (both as above) and made alkaline with pH 8 by adding the appropriate amount of 0.1 mol l⁻¹ NaOH (as above) in the total volume of 1 l. Subsequently, two series of calibration standards of Cd were prepared in the concentration range of 0-40 mg l⁻¹ (acid sweat) and 0-30 mg l⁻¹ (alkaline sweat). Each standard was applied in a volume of 20 µl onto the solid paper carrier. Carriers were dried under IR-lamp and analysed by LIBS. Carriers for liquid samples were prepared from an ordinary plain paper using a metal die with a diameter of 17 mm.

Samples

Samples of jewellery were provided by Czech Environmental Inspectorate (CEI). The respective specimens came from three inspections of suppliers who had served on internet shops or stores with a low cost jewellery from China. Leachates of samples were prepared based on the area of jewellery (size in cm²), calculated and for leachates as a two-fold amount of the artificial sweat used (in ml). Area sizes and volumes of solutions are shown in Table I. Samples were plunged into the solution in plastic container and stored at 30 °C for 168 hours according to the EN 1811 and No. 84/2001 Coll.

Afterwards, the samples were removed and the leachates prepared for measurements by LIBS, similarly as the calibration standards. Leachates were analysed by ICP-OES directly.

Table I Area size of jewellery and volume of artificial sweat used

Sample	Area size, cm ²	Sweat volume, ml	Type of sweat
9-A	9	18	Alkaline
7-A	6.25	12.5	Alkaline
2-B	9	18	Acid
Bangle	15	30	Alkaline
Ring	3	6	Acid

Laser Induced Breakdown Spectrometry (LIBS)

Instrumentation

In this work, a commercially available compact spectrometer for LIBS (model “LEA S500”; Solar TII Ltd., Belarus) was used. The system consists of a dual pulse Q-switched Nd: YAG laser operating at 1064 nm. The laser emits two co-linear pulses with duration of about 12 ns and with energy per pulse varying typically between 80 and 150 mJ at a maximum repetition rate of 20 Hz; the inter-pulse delay setting being from 0 to 20 ms. The spectrometer is equipped with Czerny–Turner spectrograph offering a focal length of 500 mm and grating of 1800 lines mm⁻¹, when providing a linear reciprocal dispersion of 1 nm mm⁻¹. The wavelength range of the spectrograph is from 170 to 800 nm, while particular measurements are carried out in 30 nm wide spectral regions. Spectra are recorded with the aid of a back-thinned and front-illuminated CCD camera (2048×14 pixels) having a fixed integration time (gate width) of 1 ms; the optical spectral resolution being better than 0.03 nm for the whole spectral range. Samples are

placed inside the ablation chamber on motorized sliding table and if necessary, the ablation chamber can be flushed with an inert gas (He, Ar) or even evacuated.

Optimization of LIBS Parameters

On LEA S500 spectrometer, spectra were recorded in a 30 nm-wide spectral window. For this reason, more Cd-lines were sought so that they could be monitored in one spectral window. The most suitable region was evaluated to be from 205 to 235 nm. This area contained strong Cd-lines lying at wavelengths of 214.44 nm, 226.50 nm, and 228.80 nm (see Fig. 1). Subsequently, measuring conditions were optimized for the artificial sweat with the Cd concentration of 10 mg l⁻¹. Optimisation of the respective parameters for LIBS was being done with respect to the given SBR (signal-to-background ratio). The value of each optimised parameter providing the highest value of SBR was then selected as an optimum. The parameters with the greater effect on the analytical signal were optimised first: focal spot diameter and the energy of laser pulse. Spot size was varied from 200 to 500 µm in the step increments of 100 µm. The small width of the spot was advantageous because of feasibility to analyse the sample area at more analytical points that do not overlap. The effect of the laser pulse energy was tested in the range from 80 to 120 mJ.

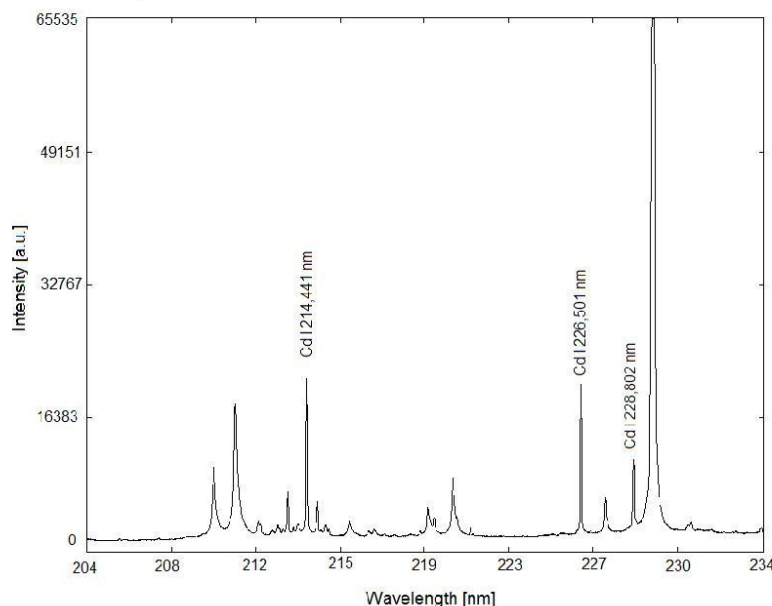


Fig. 1 Spectrum of Cd lines used for analytical purpose (Cd concentration 40 mg l⁻¹ in artificial acidic sweat)

Subsequently, the width of the entrance slit, interpulse delay, the number of analytical points, and the number of pulses per point were optimised, too. The width of the entrance slit was changed from 10 to 30 μm , which was important for good spectral resolution and the ability to separate close wavelengths. It determined the amount of radiation reaching the detector. Furthermore, the interpulse delay was a parameter used in the double pulse (DP) mode of LIBS and indicating the time when the plasma had admitted the second laser pulse. The respective delay has been optimized in an interval from 0 to 10 μs ; a number of analytical points (4-25) being selected to cover the maximal area of the carrier and to prevent replicate ablation at the same site. A number of pulses per one analytical point (1-3) was chosen so as to avoid breakdown of the carrier material. Experimental parameters were adjusted to obtain maximal intensity of the monitored lines and good reproducibility of the measurement. During each measurement, the paper carrier was dried under IR-lamp and placed in between two plastic plates with opening. These plates were encumbered by a steel block on the sliding table in the ablation chamber.

ICP-OES Analysis

ICP-OES technique was employed as a reference method for validation of the results obtained with LIBS. An ICP-OES spectrometer Integra XL (GBC, Scientific Equipment, Braeside, Australia) was equipped with a standard conical nebulizer (with sample flow rate of 2 ml min^{-1}) and cyclonic spray chamber (both glass Expansion, West Melbourne, Australia). Two spectral lines (228.80 and 226.50 nm) were selected; the results of both lines being averaged. The working conditions for ICP-OES analysis, when a calibration up to 1 mg l^{-1} Cd has been used, are summarized in Table II.

Table II Conditions set up for analysis by ICP-OES

Sample flow rate	1.5 ml l^{-1}	Photomultiplier voltage	600 V
Plasma power	1000 W	Viewing height	6.5 mm
Plasma gas	10 l min^{-1}	Number of replicates	3
Auxiliary gas	0.6 l min^{-1}	On peak integration time	1 s
Sample gas	0.65 l min^{-1}	Off peak background correction	Two points

Results and Discussion

Optimisation of LIBS Parameters

Based on our previous experiences with optimization of LIBS parameters, the focal spot diameter was expected to be a parameter with the strongest effect on the shape of the calibration curve and hence, it was optimised first. The highest value of SBR was obtained for a focal spot diameter of 200 μm . This value was used as fixed for further optimisation.

The second most important parameter was the energy of laser beam; its evaluation being performed based on the SBR graph depicted in Fig. 2. The highest value of SBR for this parameter corresponded to an energy of 110 mJ. For this set of conditions, we could obtain the spectrum without saturation and with sufficiently high intensity of all analytical lines monitored. Other parameters for optimisation were the width of entrance slit and interpulse delay. Regarding the former, the highest SBR value obtained was for 25 μm . The best value of the latter for our compact LIBS instrument was ascertained to be 7 μs , as documented by the graph of SBR in Fig. 3.

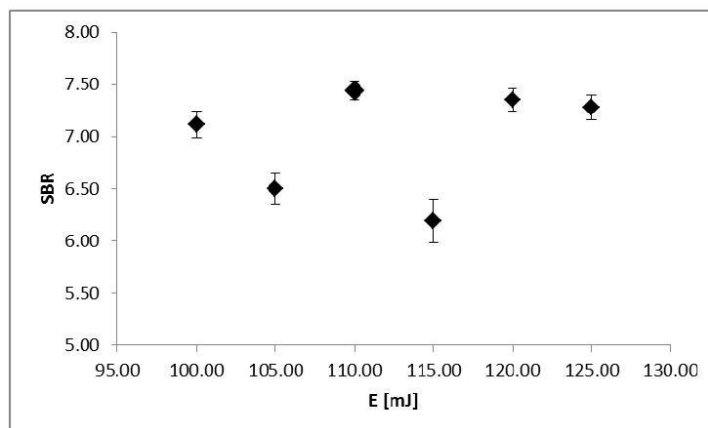


Fig. 2 Optimisation of the laser energy based on the highest value of SBR (signal-to-background ratio). Optimised for Cd concentration of 10 mg l^{-1} at wavelength of 214.441 nm

Another parameter, the number of pulses for analytical point was limited by the material acting as solid carrier. In our experiments, we had used an ordinary plain paper, and more than one pulse per analytical point already caused a rupture and destruction of carrier. The number of analytical points was then limited by dimensions of the ablation chamber and by the size of analysed samples. The focal spot diameter was set as the smallest possible; therefore, it was possible to use 9

analytical points for one analysis.

Thus, the final conditions for LIBS measurements were set as follows: (i) the focal spot diameter, 200 μm ; (ii) energy of laser beam, 110 mJ; (iii) width of entrance slit, 25 μm ; (iv) interpulse delay 7 μs , (v) one pulse per analytical point, and (vi) 9 analytical points for one analysis.

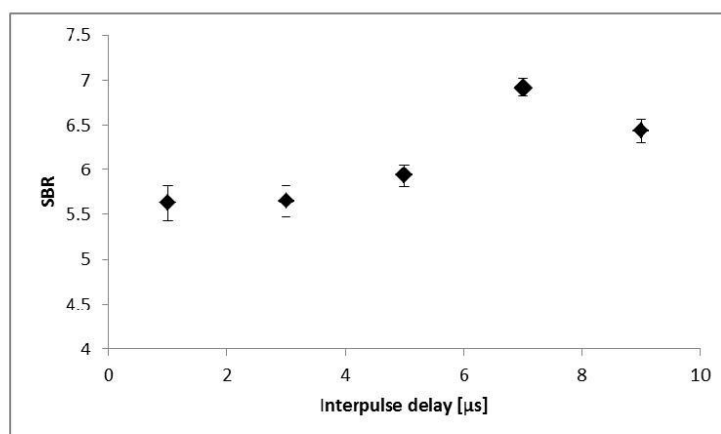


Fig. 3 Optimisation of interpulse delay based on the highest value of SBR (signal-to-background ratio). Optimised for Cd concentration of 10 mg l^{-1} at wavelength 214.441 nm

Under optimised conditions, we measured the calibration standards for Cd within the concentration ranges of $0\text{--}30 \text{ mg l}^{-1}$ and $0\text{--}40 \text{ mg l}^{-1}$ for alkaline and acidic sweat, respectively; the respective calibrations being shown in Figs 4 and 5. Statistical parameters (coefficient of determination R^2 , regression equation and the value of Akaike Information Criterion – AIC ; Mean Quadratic Error of Prediction – MEP ; and the result from Fisher–Snedecor test – p value) are then listed in Table III. As seen, statistical parameters monitored for each calibration curve are not very different. For evaluation of the concentration of Cd in sweat leachates of jewellery, we choose the analytical lines with wavelengths of 214.44 and 226.501 nm, providing almost identical results, which could also be confirmed by statistical parameters AIC and MEP . Analytical line for Cd at 228.80 nm was not so sensitive, which might be affected by the highest peak in the spectrum. Slope of the calibration curve in this case was a half compared to the other lines being evaluated as insensitive again for our purposes. To assess the quality regressions, the p values were calculated for each model. In all cases, the calculated value was lower than that for a significance level of $\alpha = 0.05$, and the corresponding models could be specified as suitable.

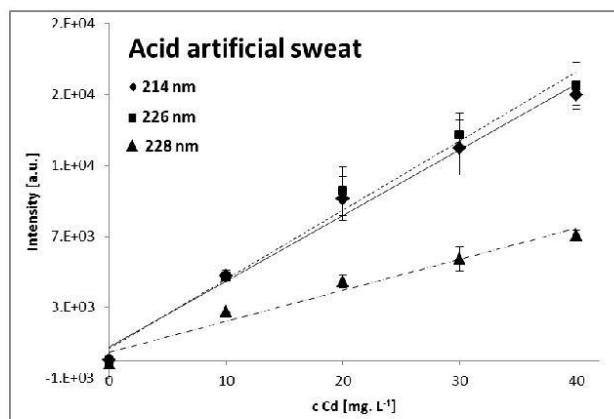


Fig. 4 Calibration curves of artificial acidic sweat measured under optimal conditions at wavelengths of 214.441, 226.501, and 228.802 nm

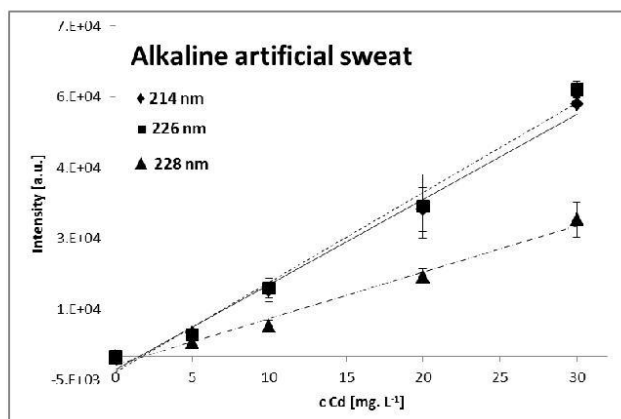


Fig. 5 Calibration curves of artificial alkaline sweat measured under optimal conditions at wavelengths of 214.441, 226.501, and 228.802 nm

The limit of detection (LOD) was determined according to the $3\sigma/s$ criterion, where σ is standard deviation of intensity calculated from 36 replicates measured for the lowest calibration standard (i.e. blank) under optimal conditions; s being the slope of the calibration curve. The LOD estimated for the the content of Cd was 0.08 mg l^{-1} for acidic and 0.06 mg l^{-1} for alkaline artificial sweats, respectively.

Table III Statistical parameters calculated for each calibration model of the artificial sweat

Sweat type	Wavelength	β_1	<i>Intr</i>	R^2	<i>MEP</i>	<i>AIC</i>	<i>p value</i>
Acid	214 nm	370	767	0.9862	2.32×10^6	70.3	6.8×10^{-4}
	226 nm	389	710	0.9851	1.81×10^6	69.3	7.3×10^{-4}
	228 nm	174	469	0.9641	9.35×10^5	65.6	2.9×10^{-3}
Alkaline	214 nm	1 802	−2 729	0.9892	1.91×10^7	80.1	4.8×10^{-4}
	226 nm	1 901	−3 204	0.9854	2.92×10^7	82.2	7.5×10^{-4}
	228 nm	983	−1 730	0.9873	6.11×10^6	74.9	6.1×10^{-4}

β_1 – slope of the curve, *Intr* – intercept of the curve, R^2 – coefficient of determination, *MEP* – Mean Quadratic Error of Prediction, *AIC* – Akaike Information Criterion, *p value* – result from Fisher–Snedecor test

Verification of the Proposed Method Employing LIBS

In order to verify functioning of the developed LIBS method, five samples of inexpensive jewellery were measured. Three samples of this selection were leached in the artificial alkaline sweat and the remaining two leached in artificial acidic sweat. The resulting sweat leachates were then analysed by LIBS as a dried drop on the solid paper carrier. In the case of ICP-OES measurements, leachates could be analysed directly.

Table IV Results of LIBS and ICP OES analysis of unknown jewellery samples

Sample	LIBS $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ week}^{-1}$	ICP OES $\mu\text{g cm}^{-2} \text{ week}^{-1}$	Recovery %	Sweat type
9-A	193 ± 10	200 ± 6.2	96.5	Alkaline
7-A	299 ± 20	277 ± 8.2	108.0	Alkaline
2-B	733 ± 53	733 ± 8.7	100.0	Acid
Bangle	351 ± 16	339 ± 2.5	103.0	Alkaline
Ring	7766 ± 312	7400 ± 27	104.0	Acid

The results for both methods are shown in Table IV, where the respective values are the arithmetic mean and standard deviations calculated from three (ICP OES) and four (LIBS) replicate measurements of particular samples; the proper LIBS analysis having been performed under optimized conditions as described

above. As seen, the recovery rate values were within the range of 96-108 %, which confirms good agreement between the two methods (Note: The results are recalculated for the content of Cd in the unified area of samples and expressed per week.)

Conclusion

A method for the determination of Cd in samples of artificial sweat leachates from jewellery has been proposed based on the use of commercially available compact LIBS instrument. The method developed can be characterised as rapid, simple, requiring minimal amount of samples and providing sufficiently low limits of detection, when the value of 0.08 mg l⁻¹ Cd for acidic and 0.06 mg l⁻¹ Cd for alkaline artificial sweat could be determined. The corresponding *LODs* recalculated for the content of Cd in the given sample volume(s) were 0.0016 µg.20 µl⁻¹ for acidic and 0.0012 µg.20 µl⁻¹ for alkaline artificial sweat, respectively. In our opinion, such *LODs* are low enough to allow one to use LIBS directly in practical analysis of real samples.

Acknowledgement

This research was supported by SGS_2017_002.

References

- [1] Kulthong K., Srisung S., Boonpavanitchakul K., Kangwansupamonkon W., Maniratanachote R.: Part. Fibre Toxicol. **7**, 9 (2010).
- [2] von Goetz N., Lorenz C., Windler L., Nowack B., Heuberger M., Hungerbuhler K.: Environ. Sci. Technol. Lett. **47**, 9979 (2013).
- [3] Pielesz A.: J. Mol. Struct. **511**, 337 (1999).
- [4] Randin J.P.: J. Biomed. Mater. Res. Part A **22**, 649 (1988).
- [5] No.84/2001, Decree of Ministry of Health of the Czech Republic No 84/2001 Col., in, Prague, Czech Republic.
- [6] ISO, ISO 3160-2:2003 Watch-cases and accessories - Gold alloy coverings - Part 2: Determination of fineness, thickness, corrosion resistance and adhesion, in, 2003.
- [7] ESOs, UNI EN 1811:2011 Reference Test Method For Release Of Nickel From All Post Assemblies Which Are Inserted Into Pierced Parts Of The Human Body And Articles Intended To Come Into Direct And Prolonged Contact With The Skin, in, 2011.

- [8] AATCC, Colorfastness to Perspiration, in, Standard by American Association of Textile Chemists and Colorists, 2013.
- [9] Liden C., Carter S.: Contact Dermatitis **44**, 160 (2001).
- [10] Pouzar M., Schmidt M., Krejčová A., Černohorský T.: SRX Chemistry, **2010** (2010).
- [11] Liden C., Rondell E., Skare L., Nalbanti A.: Contact Dermatitis **39**, 127 (1998).
- [12] Midander K., Pan J., Wallinder I.O., Heim K., Leygraf C.: Contact dermatitis **56**, 325 (2007).
- [13] Rathish R., Rajendran S., Christy J., Devi B., Johnmary S., Manivannan M., Rajam K., Rengan P.: Open Corr. J. **3**, 38 (2010).
- [14] Xiu J.S., Dong L.L., Qin H., Liu Y.Y., Yu J.: Appl. Spectrosc. **70**, 2016 (2016).
- [15] Wen X., Lin Q.Y., Niu G.H., Shi Q., Duan Y.X.: Appl. Optics **55**, 6706 (2016).

Determination of chromium in the surface nano-layer covering the Zn-based anti corrosion coating of steel sheets using a laser-induced breakdown spectrometry

Magdalena Zvolská¹ · Miloslav Pouzar^{1,2} · Petr Knotek³ · Tomáš Černohorský¹

Received: 29 March 2017 / Accepted: 10 May 2017
© Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences 2017

Abstract A method was proposed for the determination of Cr in a thin surface nanolayer deposited on top of a micrometrical Zn-based anticorrosive coating of steel sheets using laser-induced breakdown spectrometry (LIBS). Optimization of the LIBS parameters was performed with respect to the statistical parameters of regression, these being the coefficient of determination (R^2), akaike information criterion and mean-squared prediction error. These were calculated for curves describing the relationship between the Cr surface concentration and the intensity of LIBS signal. The most critical parameter of analysis appears to be the focal spot diameter. When its value was 200 μm and corresponding energy density (fluence) had value of 413.8 J/cm^2 , the intensity–concentration relationship revealed a negative slope. This phenomenon was caused by the difference in total ablated volume for samples with a different content of Cr in the surface layer. This phenomenon was not observed for higher values of the focal spot diameter (400 and 500 μm) and lower values of fluence (103.5 and 66.2 J/cm^2). A range of calibration obtained under optimal conditions (focal spot diameter of 400 μm ; single pulse mode, laser pulse energy of 130 mJ) was 11–21 mg/m^2 and the limit of detection was 0.7 $\text{mg}/$

m^2 . The recovery values calculated from the results of the proposed LIBS method and the standard ED XRF method ranged from 99.2 to 101%.

Keywords Laser-induced breakdown spectrometry · X-ray fluorescence spectrometry · Chromium · Surface layer · Steel sheets

Introduction

Finding accurate quantitative method for characterization of nanometer layers constituting the surface of anti-corrosion protective coatings is a task of crucial importance for industrial laboratories. The standard procedure is based on the wet process, where the surface layer is etched by acids and the obtained leachate is subsequently analyzed with atomic spectrometry techniques such as atomic absorption spectrometry (AAS), inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP OES), and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS) (Limbeck et al. 2016). This process requires work with highly corrosive chemicals, it is time-consuming and the results are strongly dependent on the working experience of the analyst. The process is not able to provide information about the homogeneity of the layer. The results are usually calculated as averages of concentrations measured on the obverse and reverse side of the steel sheet sample.

A common alternative is the use of energy-dispersive or wavelength-dispersive X-ray fluorescence spectrometry (ED XRF, WD XRF). Serious problems can be caused if the analyzed element is contained in both the substrate and the surface layer. Approaches based on fundamental parameters method (FPM) may also fail because the models are not primarily designed for the analysis of

✉ Miloslav Pouzar
Miloslav.Pouzar@upce.cz

¹ Institute of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentska 573, 53 210 Pardubice, Czech Republic

² Center of Materials and Nanotechnologies (CEMNAT), Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Nam. Cs. Legii 565, 530 02 Pardubice, Czech Republic

³ Department of General and Inorganic Chemistry, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice, Studentska 573, 53 210 Pardubice, Czech Republic

elements deposited in a thin layer (Mori et al. 1995). In order to construct reliable calibration models, a high number of substrate matrix matched calibration standards is necessary and the quality of the results strongly depends on the variability of the steel and coating composition. There is often a need to create several separate material-specific calibrations. Solutions to the above-mentioned problems usually require modification of conventional approaches, which may be, for example, based on the use of a multichannel x-ray spectrometer collecting a signal at several take-off angles (Kataoka et al. 2007). Apart from the information about the spatial distribution of the element, XRF can provide information on the layer thickness (ISO 3497 2000) and 3D imaging can even be done (Tsuiji and Nakano 2011).

Quantitative analysis of elements deposited in thin anti-corrosive layers of steel by means of LIBS is not usually up-to date in industrial practice although promising results have been published (Kratochvil et al. 2014). The technique is more frequently used for steel sample classification and assortment (Anabitarte et al. 2010; Kashiwakura and Wagatsuma 2013), qualitative and semi-quantitative surface mapping (Bette and Noll 2004; Cabalin et al. 2004; Muller et al. 2006; Stehrer et al. 2009), and depth profiling (Cabalin et al. 2011; Canel et al. 2013; Coedo et al. 2005; Novotny et al. 2007). The current work deals with a quantitative analysis of Cr deposited in a several nanometer-thick layer on the surface of a Zn-based anti-corrosive layer on top of Cr-containing steel sheets. The LIBS was supposed to provide an advantage in terms of speed and cost of analysis. The possibility to develop a method using single calibration for more steel types without the negative influence of the composition of the base material on the measured results was also assumed.

Experimental

Samples

Five real samples of steel sheets with the anti-corrosive coating were used in this work for LIBS calibration and verification of the proposed analytical method. The anti-corrosive coating consists of a Zn layer of uniform thickness (25 μm) and an ultra-thin (several nm) layer composed of Cr deposited on its surface. The thickness of the Cr layer was variable and was dependent on the efficiency of the deposition procedure. The concentration of Cr per unit area in the surface layer of calibration samples was determined by the etching method in the cooperating industrial laboratory working with the system of good laboratory practice (GLP). Steel sheet pieces of a known surface area were submerged in 50% (w/w) HCl for

10 min. The obtained leachate was diluted with distilled water to 100 ml and analyzed by AAS. The surface concentration of Cr (labeled as c) in the calibration samples was 11–21 mg/m^2 . An additional four samples, previously analyzed by the standardized ED XRF method in the same GLP laboratory, were used as part of the verification of the proposed LIBS method. The results of the etching and ED XRF methods originally served for purposes of quality control process, where the efficiency of the Cr deposition procedure was evaluated. The aim our work was to propose a cheaper, faster, and easier alternative applicable within the same quality control system. The same metrics (mg/m^2) describing features of the Cr layer were, therefore, adopted. The utilization of analytical methods requiring matrix-matched calibration standards (ED XRF, LIBS) in an industrial laboratory was often limited by the availability of a sufficient number of real samples containing a variable amount of analyzed elements. We also had to deal with this limitation in the present case. Five samples labeled as S1 to S5 were used for LIBS calibration; verification of proposed LIBS method was performed using four samples labeled as V1–V4.

LIBS spectrometry

The commercially available compact LIBS spectrometer (LEA S500, Solar TH Ltd., Belarus) was used in this work. The system consists of a dual pulse Q-switched Nd:YAG laser with Gaussian beam profile operating at 1064 nm. The laser emits two co-linear pulses of about 12 ns duration with energy per pulse typically variable between 80 and 150 mJ at a maximum repetition rate of 20 Hz. The inter-pulse delay can be set from 0 to 20 μs . The spectrometer is equipped with a Czerny–Turner spectrograph with a focal length of 500 mm and a grating of 1800 lines/mm , which provide a linear reciprocal dispersion of 1 nm/mm . The wavelength range of the spectrograph is from 170 to 800 nm, while the particular measurements were carried out in 30 nm wide spectral regions. Spectra are recorded by means of a back thinned CCD-camera (2048 \times 14 pixels) with a fixed integration time (gate width) of 1 ms. For single-pulse mode (SP) was used the delay time of 180 μs . The optical spectral resolution is better than 0.03 nm for the entire spectral range. Samples are placed inside the ablation chamber on a motorized sliding table.

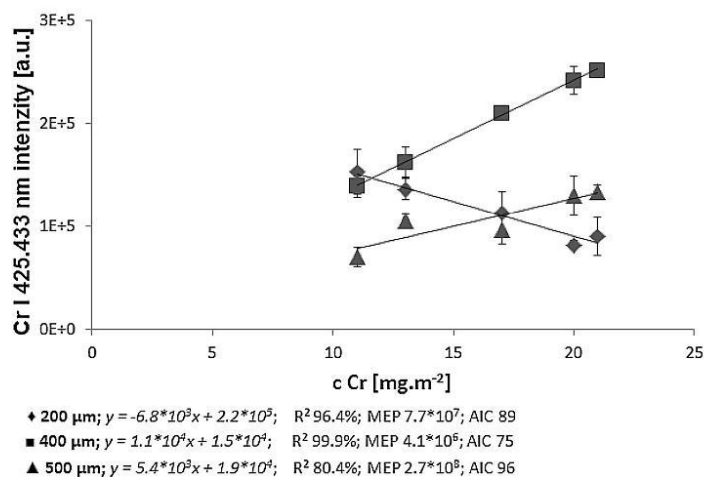
A 30-nm wide spectral window of 410–440 nm was selected for spectra recording and a Cr(I) line of 425.433 nm was used as the analytical line. Intensity of an observed Cr line was evaluated using peak area and background subtraction. The measurements were performed at four analytical points located in the corners of a square with the dimensions 4 \times 4 mm. One laser shot per

analytical point was used in order to be able to ablate the entire Cr nanolayer and not penetrate the Zn microlayer at the same time. The spectrometer slit width was always set at 12 μm and an inter-pulse delay of 6 μs was assumed as optimal, when the double-pulse method was used. The focal spot diameter, laser pulse mode, and laser energy were optimized in order to obtain the calibration curve with the finest regression parameters, such as R^2 (coefficient of determination), AIC (Akaike Information Criterion), and MSPE (mean squared prediction error). These regression parameters were calculated using statistical software Adstat (Trilobyte, version 1.25). AIC and MEP are statistical indicators used to compare several regression models among themselves. Generally, the better model shows lower values of these parameters. Coefficient of determination R^2 describes the force of linear dependence.

Inspection of ablation craters

The analysis of ablation craters and their surroundings with the aim of evaluating the heat affected zone (HAZ) was performed by an OLYMPUS BX 60 optical microscope working in a reflection mode with a polarized light. Topological description of the craters and HAZ was also carried out using a mechanical profilometer (SCC-01, RMI Ltd., Czech Republic) working on a length scale of 800 μm with a step of 2.5 μm . The operating principle of the profilometer is based on the mechanical interaction of the stylus to the sample with the constant force. The position of the stylus (based on the change of the topography) is recorded by the torsion of the wire used as a holder of the stylus on the cantilever, which allows to achieve a sensitivity below 5 nm.

Fig. 1 c–I curves constructed from LIBS spectra recorded in SP mode under variable focal spot diameter



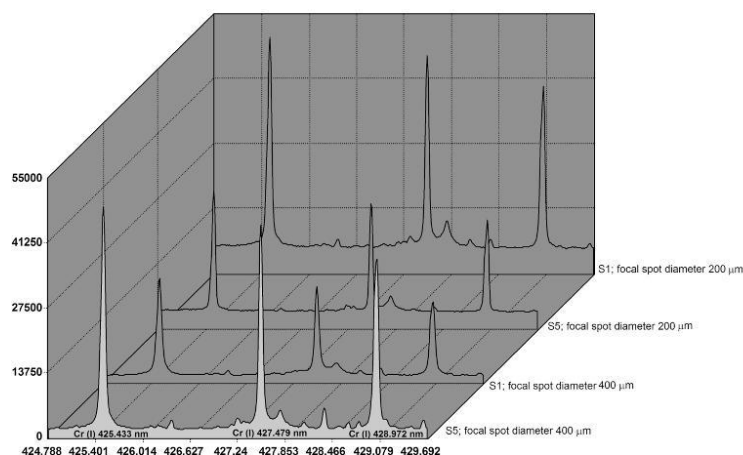
Results and discussion

Optimization of LIBS parameters

Based on our preliminary experiments, the focal spot diameter was expected to have the strongest influence on the shape of the concentration–intensity curve. The values 200, 400, and 500 μm were successively established and corresponding c–I curves were recorded. The laser was operated in the SP mode and the pulse energy was 130 mJ during this set of experiments. As apparent from Fig. 1, the c–I curve which was measured for a focal spot diameter of 200 μm and corresponding energy density (fluence) of 413.8 J/cm², exhibits a negative slope. The possible cause of that phenomenon will be discussed later. The analysis applying larger focal spot (400 and 500 μm) and lower fluence (103.5 and 66.2 J/cm²) resulted with the “normal” increasing c–I curves. The best statistical parameters of regression were obtained while using a focal spot diameter of 400 μm . This value was used for the subsequent optimization steps. Comparison of spectra measured using the focal spot diameter of 200 and 400 μm (SP mode, 130 mJ) for the sample with the highest (S5) and the lowest concentration of Cr (S1) is shown in Fig. 2.

The following phase of the optimisation process was devoted to the selection of the optimal laser pulse mode (SP or DP) and the corresponding laser pulse energy. Energies (labeled as E) of 110, 130, and 140 mJ were tested for the single pulse (SP) mode and energies of 85, 90, and 100 mJ for the DP mode. The lower limits of the selected ranges correspond to the lowest energies for which a sample ablation and formation of a micro-plasma occurred. The higher limits represent energies, which, if

Fig. 2 Comparison of spectra measured using the focal spot diameter of 200 and 400 μm for the sample with the highest (S5) and the lowest concentration of Cr (S1)—SP mode, laser energy of 130 mJ



exceeded, would lead to saturation of the detector. Figure 3 shows c-I curves for the SP mode and Fig. 4 for the DP mode. The best statistical parameters of regression and the highest value of the slope were obtained for the SP mode with an energy of the pulse equal to the 130 mJ. The following LIBS parameters were, therefore, considered optimal: a focal spot diameter of 400 μm ; SP mode, a laser pulse energy of 130 mJ.

The limit of detection (LOD) was determined according to definition $3\sigma/s$, where σ represents the standard deviation of intensity calculated from 12 repeated measurements of the lowest calibration sample performed under optimal conditions and s is the slope of the calibration curve (c-I curve exhibiting the best parameters of regression). A calculated LOD of this sort had a value of 0.7 mg/m². From the technological point of view, a quantitative analysis of Cr in the concentrations below 0.7 mg/m² in such type of samples has no practical meaning and the metrological parameters of the proposed LIBS method are fully satisfactory for genuine practice.

Inspection of ablation craters

As mentioned in the previous chapter, when using a focal spot diameter of 200 μm and corresponding fluence of 413.8 J/cm², a c-I curve with a negative slope was obtained. The highest intensities of the Cr analytical line were measured for a sample with the lowest Cr content in the surface layer and vice versa. The phenomenon could be explained by the unique relationship between Cr content in the surface layer and the total mass of ablated material, which is strongly dependent on the value of the focal spot diameter. To verify the above-mentioned assumption, we

carried out an inspection of the ablation craters using an optical microscopy and mechanical profilometer.

Sharp borders of circular craters with a diameter partly exceeding the set value of the focal spot diameter and the irregular darker area representing heat-affected zone (HAZ) are evident on the optical microscopic images (Fig. 5). The size of HAZ was determined as the longest possible line of the zone and the line perpendicular to the first one. The measured HAZ lengths are shown in the upper left corner of each image. For samples with a different content of Cr in the surface layer, the dimensions of HAZs are similar when the focal spot diameter of 400 μm (fluence of 103.5 J/cm²) was used (the observed differences did not exceed the value of the typical experimental error). In the case of the 200 μm focal spot diameter, the size of HAZ is inversely related to the Cr surface concentration. The diameter of HAZ in the sample with a Cr concentration of 11 mg/m² was approximately 600 μm and around 300 μm in the sample with 21 mg/m². The values of the equivalent diameter R_{eq} , (the diameter of a circle with the same surface area as the corresponding irregular HAZ), are summarized in Table 1. Areas of HAZ were calculated with the Gwyddion program by watershed thresholding. R_{eq} also remained almost constant for the focal spot diameter of 400 μm , with its value decreasing with increasing Cr concentration in the surface layer, if the focal spot with a diameter of 200 μm was used.

Profiles of HAZ and ablation craters were also studied using a mechanical profilometer. Typical profiles are shown in Figs. 6 and 7. It is apparent that the sample surface itself shows a high roughness. The beginning of the HAZ is topologically reflected by an abrupt profile

Fig. 3 c-I curves constructed from LIBS spectra recorded in SP mode under variable laser pulse energy

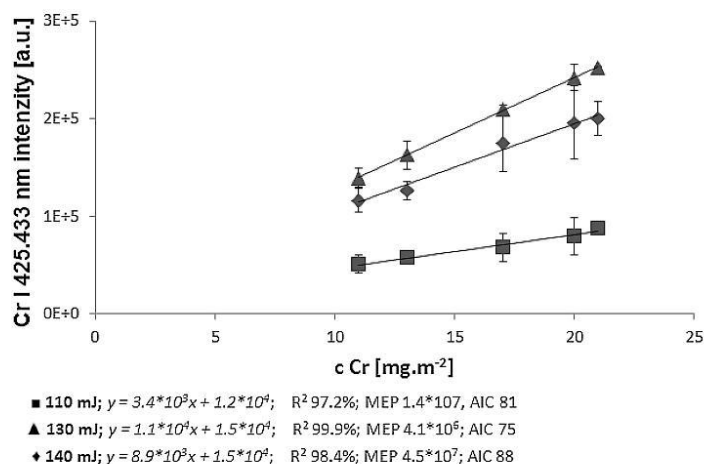
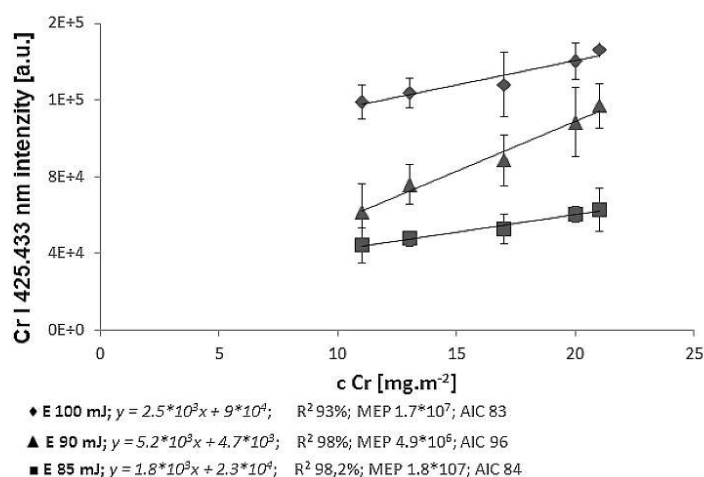


Fig. 4 c-I curves constructed from LIBS spectra recorded in DP mode under variable laser pulse energy



decrease of 100–150 nm, without a dependence on the LIBS setting and the sample type.

Depth profiles of ablation craters as such are strongly dependent on the used LIBS parameters and on the Cr content. For a focal spot diameter of 200 μm , the depths of craters are positively correlated with the Cr concentration. A crater depth of 1200 nm was at the highest concentration of 21 mg/m^2 , while it was only 800 nm at the lowest concentration of 11 mg/m^2 . The profile of craters was also changing as the Cr concentration increased, with the shape of the profile becoming more symmetrical. The relationship between the ablated volume of the sample and the Cr concentration has an inverse character. Total

ablation volume (V_{total}) was calculated as the sum of the volume of the cylindrical HAZ (V_{HAZ}) and conical crater occurring below HAZ (V_{crater}). The volume of HAZ was calculated according to relationship $V_{\text{HAZ}} = 3.14 \times R_{\text{eq}}^2 \times h_{\text{HAZ}}$ where R_{eq} represents the equivalent diameter obtained after an analysis of microscopic images and with h_{HAZ} being the depth of HAZ from profilometry. The V_{crater} was calculated by a rotation of the profile around the vertical axis, a method described in detail elsewhere (Knotek et al. 2015). The values of the V_{total} are summarized in Table 1. It is apparent based on these data that the Cr content in the surface layer and the ablated volume of the sample are negatively correlated, when focal spot diameter

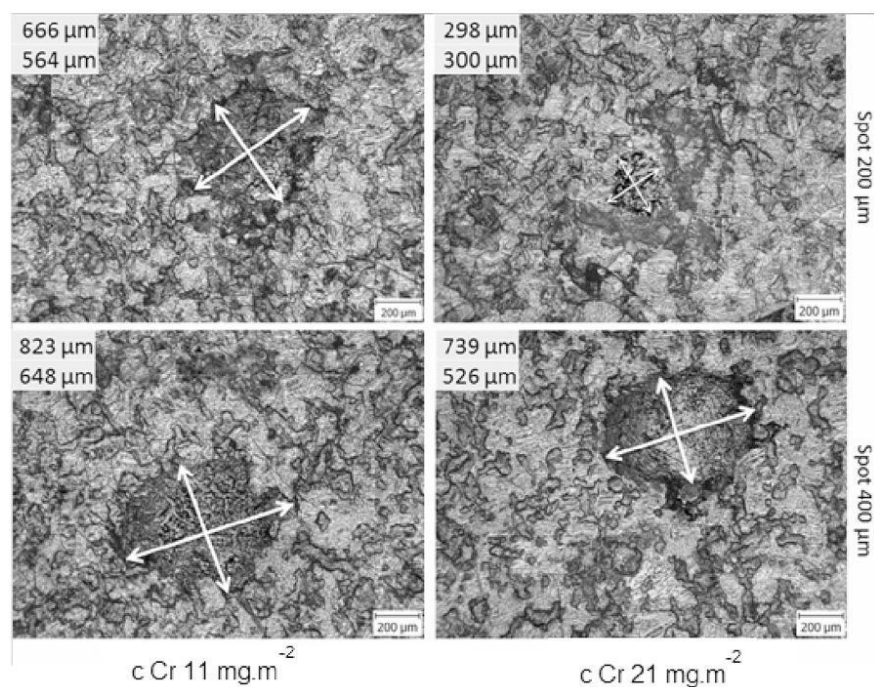


Fig. 5 Optical microscopy image of craters with HAZ created on steel sheet samples with Cr surface concentration of 11 and 21 mg/m² by laser with focal spot diameter of 200 and 400 μm

Table 1 Equivalent diameters of HAZ (R_{eq}) and total volumes of ablated matter (V_{Total}) for steel sheet samples irradiated by laser beam with different focal spot diameter

Samples		Focal spot diameter/fluence			
		200 μm/413.8 J/cm ²		400 μm/103.5 J/cm ²	
Name	Cr (mg/m ²)	R_{eq} (μm)	V_{total} (μm ³)	R_{eq} (μm)	V_{total} (μm ³)
S1	11	344	67,800	377	105,100
S2	13	333	69,100	340	97,200
S3	17	245	47,300	354	101,200
S4	20	146	38,700	322	85,000
S5	21	167	34,500	354	91,600

of 200 μm was used. The abovementioned relationships were not observed for the focal spot diameter of 400 μm. In this case, the values of R_{eq} , the depths of the craters, and the total ablated volumes are in a narrow interval and are independent from the Cr surface concentration.

Inspection of ablation craters provided results (i) which are in accordance with the assumption that the negative slope of the c–I curve for the focal spot diameter of 200 μm was caused by a difference in the total ablated volume and ablated Cr nanolayer from HAZ for samples with a different content of Cr in the surface layer; (ii) the

crater depth in the order of hundreds of nm exceeds for two orders the thickness of Cr nanolayer (at first approximation calculated from the Cr content (mass per area) and known density of elemental Cr (7.15 g/cm³—Lide 2003–2004.) The most concentrated sample contained 21 mg of Cr per m². The Cr thickness d was approximated according to relation $d = (\text{mass/area})/\text{density}$. In our case $d = (0.021 \text{ g/m}^2)/(7.15 \text{ g/cm}^3) = 3 \times 10^{-9} \text{ m} = 3 \text{ nm}$; (iii) the crater depth is an order below the thickness the Zn layer (approx. 25 μm) and thus the Cr analysis is not affected by Cr content from the steel,

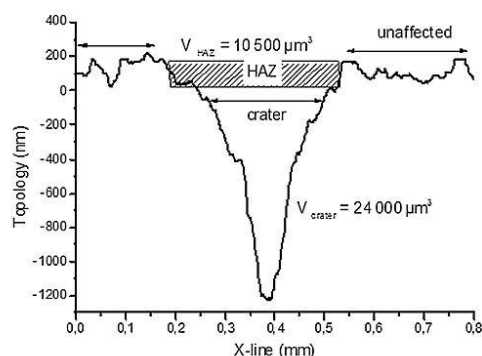


Fig. 6 Profile of ablation crater on steel sheet with Cr surface concentration of 21 mg/m²—focal spot diameter of 200 μm

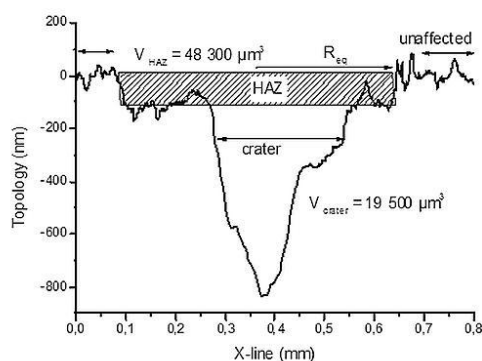


Fig. 7 Profile of ablation crater on steel sheet with Cr surface concentration of 11 mg/m²—focal spot diameter of 200 μm

which is in agreement with the absence of the Fe analytical lines during first pulse.

Verification of the proposed LIBS method

In order to verify the functionality of the proposed LIBS method, four steel sheet samples with different types of surface modification and surface concentration of Cr were measured. The results of the LIBS analysis were compared with the ED XRF results obtained from an industrial laboratory working under GLP. Data summarized in Table 2 represent arithmetic means and standard deviations calculated from three (ED XRF), respectively, four (LIBS) repeated measurements of particular samples. LIBS analysis was performed under the above-described optimal conditions. Recovery values ranging from 99.2 to 101% confirm a solid agreement between the two methods.

Table 2 Results of LIBS and ED XRF analysis of unknown samples

Sample	LIBS (mg/m ²)	ED XRF (mg/m ²)	Recovery (%)
V1	21.95 ± 0.71	21.54 ± 0.65	101
V2	18.77 ± 1.50	18.92 ± 0.17	99.2
V3	13.68 ± 1.44	13.66 ± 0.50	100
V4	LOD<	0.824 ± 0.32	—

Conclusions

A procedure was developed for an analysis of Cr in a nanometer surface layer covering 25 μm thick Zn-based anticorrosive coating of steel sheets using a commercially available compact LIBS spectrometer. The proposed method is fast (maximum 1 min per sample) and exhibits a technologically satisfactory value of LOD (0.7 mg/m²). The sensitivity and range of the calibration are strongly dependent on appropriately selected conditions of analysis. It was determined, during the optimization of the LIBS parameters, that surface modification of steel sheets by Cr strongly influences the interaction of the laser beam with the sample and the subsequent ablation process, which is the most critical for certain values of the focal spot diameter and corresponding values of the fluence. Careful optimization of these parameters needs to be carried out with regard to its effect on the amount of ablated material. The proposed LIBS method provided results which were in solid agreement with the values obtained from the ED XRF method currently used as part of the quality control process evaluating the effectiveness of Cr surface deposition in a steel-producing facility. Unlike the existing ED XRF method, the LIBS does not require a separate calibration for each type of steel sheet to correct interference caused by the variable concentration of Cr in the substrate. The proposed method allows for rapid routine measurements in operating conditions in the mode 24 h/365 days with minimum operating costs and demands on the operator. The obtained results are promising in terms of possible practical applications of the LIBS in industrial laboratories.

References

- Anabitarte F, Mirapeix J, Conde OM, Cubillas AM et al (2010) Automatic classification of steel plates based on laser induced breakdown spectroscopy and support vector machines. In: Fourth European workshop on optical fibre sensors. Porto, Portugal: Spie-Int Soc Optical Engineering, vol 7653. doi:10.1117/12.866426
- Bette H, Noll R (2004) High speed laser-induced breakdown spectrometry for scanning microanalysis. J Phys D Appl Phys 37(8):1281–1288. doi:10.1088/0022-3727/37/8/018

- Cabalin LM, Mateo MP, Laserna JJ (2004) Large area mapping of non-metallic inclusions in stainless steel by an automated system based on laser ablation. *Spectrochim Acta Part B Atom Spectrosc* 59(4):567–575. doi:10.1016/j.sab.2004.01.014
- Cabalin LM, Gonzalez A, Lazic V, Laserna J (2011) Deep ablation and depth profiling by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) employing multi-pulse laser excitation: application to galvanized steel. *Appl Spectrosc* 65(7):797–805. doi:10.1366/11-06242
- Canel T, Demir P, Kacar E, Oztoprak BG et al (2013) Optimization of parameters for depth resolution of galvanized steel by LIBS technique. *Opt Laser Technol* 54:257–264. doi:10.1016/j.optlas.2013.06.004
- Coedo AG, Dorado T, Padilla I, Farinas JC (2005) Depth profile analysis of copper coating on steel using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal Atomic Spectrom* 20(7):612–620. doi:10.1039/b501114g
- ISO 3497 (2000) Metallic coatings—measurement of coating thickness—X-ray spectrometric methods. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3497:ed-3:v1:en>. Accessed 16 May 2017
- Kashiwakura S, Wagatsuma K (2013) Characteristics of the calibration curves of copper for the rapid sorting of steel scrap by means of laser-induced breakdown spectroscopy under ambient air atmospheres. *Anal Sci* 29(12):1159–1164
- Kataoka Y, Kohno H, Furusawa E, Mantler M (2007) XRF analysis of Zn-Fe alloy coatings by using measurements at two take-off angles. *X-Ray Spectrom* 36(4):221–225. doi:10.1002/xrs.953
- Knotek P, Navesnik J, Cernohorsky T, Kincel M et al (2015) Ablation of (GeS₂(0.3)(Sb₂S₃)(0.7) glass with an ultra-violet nano-second laser. *Materials Res Bull* 64:42–50. doi:10.1016/j.materresbull.2014.12.027
- Kratochvil T, Cernohorsky T, Knotek P, Kalina L et al (2014) Fast determination of the surface density of titanium in ultrathin layers using LIBS spectrometry. *J Anal Atomic Spectrom* 29(10):1806–1812. doi:10.1039/c3ja50398d
- Lide DR (2003–2004) *Handbook of chemistry and physics*, 84th ed. CRC Press, Boca Raton
- Limbeck A, Rupp GM, Kubicek M, Tellez H et al (2016) Dynamic etching of soluble surface layers with on-line inductively coupled plasma mass spectrometry detection—a novel approach for determination of complex metal oxide surface cation stoichiometry. *J Anal Atomic Spectrom* 31(8):1638–1646. doi:10.1039/c6ja00154h
- Mori S, Matsumoto Y, Abe M (1995) X-Ray-Fluorescence Analysis Of AL-MN coating in AL-MN/GA dual coated steel sheets. *Tetsu to Hagane J Iron Steel Inst Jpn* 81(11):1067–1072
- Muller G, Stahnke F, Bleiner D (2006) Fast steel-cleanliness characterization by means of laser-assisted plasma spectrometric methods. *Talanta* 70(5):991–995. doi:10.1016/j.talanta.2006.05.047
- Novotny K, Vaculovic T, Galiova M, Otruba V et al (2007) The use of zinc and iron emission lines in the depth profile analysis of zinc-coated steel. *Appl Surf Sci* 253(8):3834–3842. doi:10.1016/j.apsusc.2006.08.047
- Stehrer T, Praher B, Viskup R, Jasik J et al (2009) Laser-induced breakdown spectroscopy of iron oxide powder. *J Anal Atom Spectrom* 24(7):973–978. doi:10.1039/b817279j
- Tsuji K, Nakano K (2011) Development of a new confocal 3D-XRF instrument with an X-ray tube. *J Anal Atomic Spectrom* 26(2):305–309. doi:10.1039/c0ja00138d

Údaje pro knihovnickou databázi

Název práce	Analýza vzorků ve formě tenké vrstvy pomocí LIBS
Autor práce	Ing. Magdalena Zvolská
Obor	Environmentální inženýrství
Rok obhajoby	2018
Vedoucí práce	doc. Ing. Miloslav Pouzar, Ph.D.
Anotace	<p>Předkládaná disertační práce je věnována analýze tenkých vrstev pomocí LIBS spektrometrie. V první dílčí části práce je diskutována problematika analýzy práškových vzorků ve formě tenké vrstvy, dále pak vliv optimalizace experimentálních podmínek, vliv formy vzorku a vliv atmosféry v ablační komoře na stanovení F ve vzorcích organických pigmentů. Druhý dílčí cíl je zaměřen na problematiku analýzy kapalin na pevném nosiči. Vzorky šperků s vysokým obsahem Cd byly vyluhovány v simulovaném roztoku lidského potu, tyto výluhy byly následně nanášeny na pevný nosič a následně analyzovány pomocí LIBS spektrometru. V této části práce je diskutován především vliv volby pevného nosiče a optimalizace experimentálních podmínek. Třetí dílčí cíl práce popisuje analýzu ultratenké antikorozi vrstvy s obsahem Cr na ocelovém plechu, jenž analyzovaný prvek rovněž obsahoval. Diskutován je především vliv experimentálních podmínek na analýzu a jejich optimalizace.</p>
Klíčová slova	LIBS, tenká vrstva, nepřímá analýza kapalin, organické pigmenty, antikorozi vrstva, plech, fluor, kadmium, chrom, optimalizace podmínek, příprava vzorku