

## Obsah

Plazma jako spektroskopický zdroj (V. Otruba).....	I
Fyzikální základy ICP (V. Kanický).....	II
Základy optiky spektrálních přístrojů (V. Otruba, V. Kanický).....	III
Detektory záření (V. Otruba).....	IV
Zavádění vzorku do plazmatu (V. Kanický).....	V
Analytické vlastnosti optické ICP spektrometrie (V. Kanický).....	VI
Generování těkavých par do ICP výboje (J. Machát).....	VII
Základy instrumentace hmotnostní spektrometrie (V. Otruba).....	VII
Kolizně-reakční cela pro eliminaci spektrálních interferencí v ICP-MS (J. Machát).....	IX
Analytické vlastnosti ICP-MS (V. Kanický).....	X
Úvod do speciální analýzy (J. Komárek).....	XI
ICP-MS jako prvkově specifický detektor pro chromatografické techniky (J. Machát).....	XII
Základy laserů (V. Otruba).....	XIII
Laserová ablace v ICP spektrometrii (M. Holá).....	XIV
LIBS - Laser-induced breakdown spectroscopy (T. Vaculovič, K. Novotný).....	XV
LIBS v analýze archeologických materiálů (A. Hrdlička).....	XVI
Aplikace synchrotronu - RTG mikroradiografie a mikrotomografie (J. Kaiser et al.).....	XVII
Nové směry v RTG spektrometrii (T. Černohorský).....	XVIII
Nejistoty analytických metod (P. Lubal).....	XIX
Kalibrace a testování spektrometrů (V. Kanický).....	XX
Prvková a izotopická frakcionace během laserové ablace (J. Míková).....	XXI
Validace analytických metod (P. Janoš).....	XXII

---

# Plazma jako spektroskopický zdroj

*Vítězslav Otruba*

*Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.*

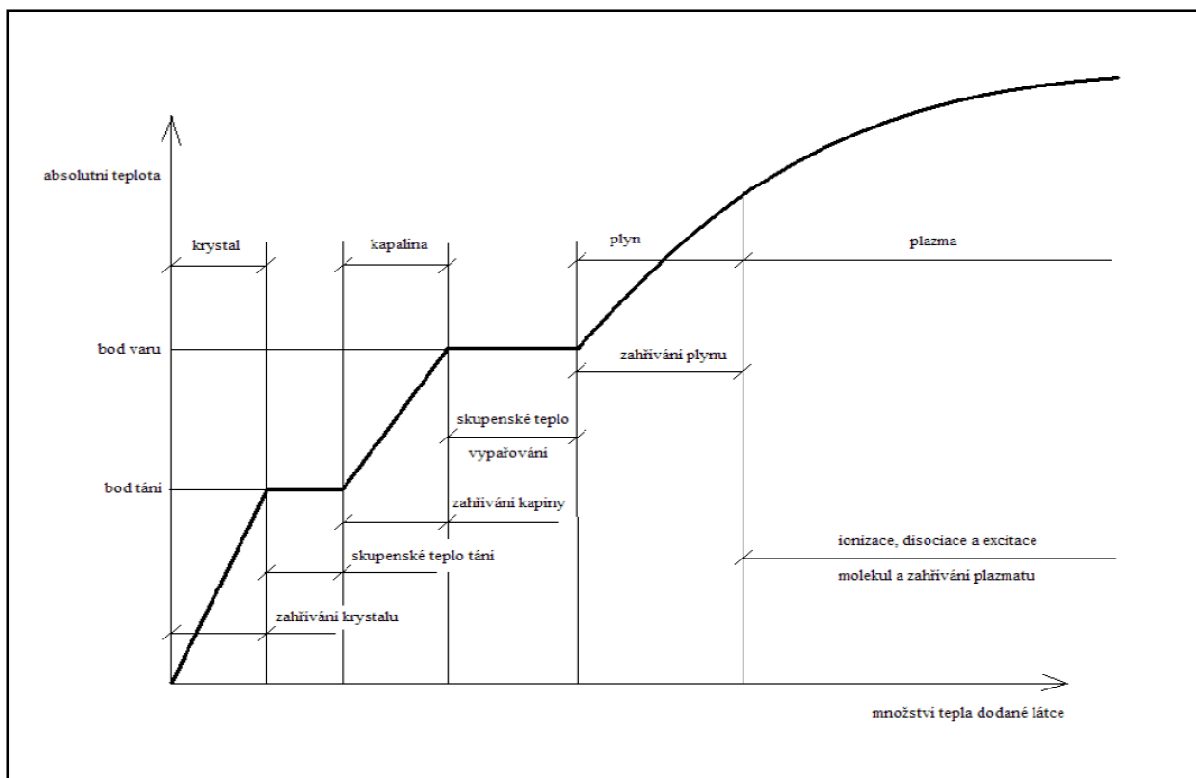
## **Plazma jako fyzikální pojem**

O plazmatu se často hovoří jako o čtvrtém skupenství hmoty. A je to oprávněné, protože vlastnosti plazmatu jsou velmi odlišné od vlastností plynů a kapalin. Především zde hraje roli přítomnost volných nosičů náboje, které mohou reagovat na elektrická a magnetická pole a vzájemná interakce nábojů vede ke vzniku globálních kolektivních polí. Chování plazmatu je tak především ovlivněno elektrickými a magnetickými poli. Ve vesmíru je 99% veškeré hmoty ionizováno a nachází se ve formě plazmatu. Plazmatem je tvořeno nitro i obálky hvězd, mlhoviny, výtrysky, atd. Na Zemi se s plazmatem setkáme v kanálech blesků, v ionosféře, v podobě slunečního větru, který neustále atakuje magnetické pole Země, a samozřejmě plazma nalezneme v laboratořích výzkumných ústavů.

Pojem plazma je historicky spjat s vedením elektrického proudu v plynech, tj. s elektrickými výboji. První elektrický obloukový výboj realizoval v roce 1802 anglický fyzik Davy a systematicky se začal elektrickými výboji v plynech zabývat od roku 1830 M. Faraday. W. Crookes (1879) označil výboj za čtvrtý stav hmoty. Bezelektrodové plazma jako první studoval Hittorf (1884) a po objevení elektronu J. J. Thomsonem (1897) popsal J.W. Strutt lord Rayleigh v roce 1906 tzv. kolektivní chování elektronů, které je základem definice plazmatu. První obloukový výboj, který splňoval podmínky definice plazmatu, vytvořili v roce 1922 Gerdien a Lotz. Termín „plazma“ byl pro označení čtvrtého stavu hmoty poprvé použit I. Langmuirem a Tonksem (1928) na základě analogie mezi oscilacemi elektronového oblaku a želatinovou konzistencí krevní plazmy.

Definice plazmatu: **Plazma je kvazineutrální plyn nabitých a neutrálních částic vykazující kolektivní chování** (F.F.Chen) Za kolektivní chování se považují ty pohyby částic, které závisí nejen na lokálních podmínkách, ale i na stavu plazmatu ve vzdálenějších oblastech.

Na obr. 1 je schematicky znázorněna změna skupenství při dodání energie látce ve formě tepla, a příslušná teplota. První prodleva na křivce je při tání tuhé látky – dodávané teplo se spotřebuje na roztrhání pevné vazby mezi atomy v krystalové mřížce a nezvyšuje proto teplotu. Další prodleva je při teplotě varu, kdy se dodávaná energie spotřebovává na úplné vzájemné odtržení atomů, nebo molekul. Pak probíhá disociace a nakonec ionizace. Úplná ionizace nastává zhruba při teplotě 100 000°C a u H<sub>2</sub> pak další dodávání tepla způsobí již jen vzrůst teploty. U plazmatu složeného z iontů těžších prvků je zvyšování teploty obtížnější, protože velká část dodávané energie se spotřebuje na odtrhávání dalších elektronů od iontů.



**Obr. 1** Zjednodušený diagram závislosti teploty a skupenství chemicky čisté látky na dodávané tepelné energii. (Krejčí, 1974)

V dalším výkladu se pojednává o plyném plazmatu, které se skládá ze směsi elektronů, iontů a neutrálních částic. Protože hmotnosti iontů a neutrálních částic jsou mnohem větší než hmotnost elektronu ( $m_H/m_e = 1840$ , kde  $m_H$  je hmotnost atomu vodíku a  $m_e$  hmotnost elektronu), označují se neutrální částice a ionty jako těžké částice. V závislosti na obsahu vnitřní energie se některé částice mohou vyskytovat v nabuzeném (excitovaném) stavu. Přechod částice z excitovaného do základního stavu se může dít fotoemisí, která má za následek záření plazmatu. Kromě iontů a neutrálních částic v základním stavu plazma obsahuje také excitované částice a fotony. Obecně se tedy plazma skládá z elektronů, iontů a neutrálních částic v základním stavu, excitovaných částic a fotonů. Tyto složky musí však splňovat podmínku kvazi-neutality. Tato podmínka znamená, že kladné a záporné náboje částic musí být vzájemně vyrovnány, tedy plazma se navenek jeví jako elektricky neutrální. Na rozdíl od běžných plynů je plazma díky přítomnosti volných nosičů náboje elektricky vodivé. Elektrická vodivost plazmatu může nabývat hodnot vyšších než je elektrická vodivost kovu při běžné teplotě. Například vodíkové plazma zahřáté při tlaku 0,101 MPa na teplotu  $10^6$  K má přibližně stejnou elektrickou vodivost jako měď při pokojové teplotě.

### *Kinetická teplota*

Kinetická teplota je v plazmatu, stejně jako v jiném plyném prostředí, definována pomocí střední kinetické energie částic (molekul, atomů, iontů nebo elektronů) s maxwellovským rozdělením rychlostí, která je pro jednorozměrný pohyb částice:

$$E_{st} = \frac{1}{2} k T_{kin} \quad \{1\}$$

Obecně platí, že  $E_{st}$  se rovná  $\frac{1}{2}KT$  na každý stupeň volnosti, tedy pro třírozměrný pohyb to jsou  $\frac{3}{2}KT$ .

Maxwellovo trojrozměrné rozdělení  $F(v)$  rychlostí  $v$  všech druhů částic je dáno vztahem

$$F(v) = \frac{dn}{n_0 dv} = 4\pi \frac{m^{\frac{3}{2}}}{(2kT_{kin})^{\frac{3}{2}}} v^2 \exp\left(-\frac{mv^2}{2kT_{kin}}\right) \quad \{2\}$$

kde  $T_{kin}$  je kinetická teplota,  $n_0$  je počet částic v jednotkovém objemu a  $m$  je hmotnost částice.

Protože mezi  $T$  a  $E_{st}$  je úzký vztah, bývá ve fyzice plazmatu zvykem udávat teplotu v jednotkách energie. Kvůli nejistotě o počtu dimenzí se neuzívá k udání teploty  $E_{st}$ , ale energie odpovídající  $KT$ . Pro  $KT = 1 \text{ eV} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ :

$$T = \frac{1,6 \cdot 10^{-19}}{1,38 \cdot 10^{-23}} = 11600 \quad \{3\}$$

Převodní faktor je tedy  $1\text{eV} = 11600\text{K}$ .

Plazma může mít několik teplot současně. Často mívají ionty (ev. atomy) a elektrony rozdílná Maxwellova rozdělení s rozdílnými teplotami  $T_i$  a  $T_e$ . Může to způsobeno tím, že frekvence srážek iontů mezi sebou a elektronů mezi sebou je větší než frekvence srážek mezi ionty a elektrony. Každý druh částic může mít svoji tepelnou rovnováhu, ale plazma se nemusí udržet dostatečně dlouho pro vyrovnání teplot. Navíc, jestliže je přítomno magnetické pole  $\mathbf{B}$  může mít i jediný druh částic, např. iontů, dvě teploty, poněvadž síly působící na ion ve směru  $\mathbf{B}$  jsou jiné než ty, které působí kolmo na  $\mathbf{B}$ . Každá ze složek rychlosti, kolmi na  $\mathbf{B}$  a rovnoběžně s  $\mathbf{B}$ , může náležet různým Maxwellovým rozdělením s teplotami  $T_{\perp}$  a  $T_{\parallel}$ .

### Excitační teplota $T_{exc}$

vystupuje v Boltzmannově rozdělení, které vyjadřuje distribuci populace excitovaných hladin atomů a iontů:

$$\frac{n_p}{n_q} = \frac{g_p}{g_q} \exp\left(-\frac{E_p - E_q}{kT_{exc}}\right) \quad \{4\}$$

kde  $n_p$  a  $n_q$  jsou počty atomů nebo iontů v horním ( $p$ ) a dolním ( $q$ ) energetickém stavu,  $g_p$  a  $g_q$  jsou statistické váhy stavů dané multiplicitou  $g = 2J + 1$ , kde  $J = S + L$ , přičemž  $J$ ,  $S$  a  $L$  jsou v uvedeném pořadí celkové, spinové a orbitální kvantové číslo a  $E_p$  a  $E_q$  jsou energie horní a dolní hladiny uvažovaného spektrálního přechodu.

*Ionizační teplota  $T_{ion}$*

je parametrem *Sahovy rovnice*, která popisuje ionizační rovnováhu:

$$\frac{n_i n_e}{n_a} = \left( \frac{2\pi m_e k T_{ion}}{h^3} \right)^{\frac{3}{2}} 2 \frac{Z_i}{Z_a} \exp\left( -\frac{E_i}{k T_{ion}} \right) \quad \{5\}$$

kde  $n_i$ ,  $n_e$ , a  $n_a$  jsou koncentrace iontů, elektronů a neutrálních atomů,  $m_e$  je hmotnost elektronu a  $Z_i$ ,  $Z_a$  jsou partiční funkce iontového a atomového stavu daného prvku,  $E_i$  je ionizační energie atomu (iontu).

*Zářivá teplota  $T_B$*

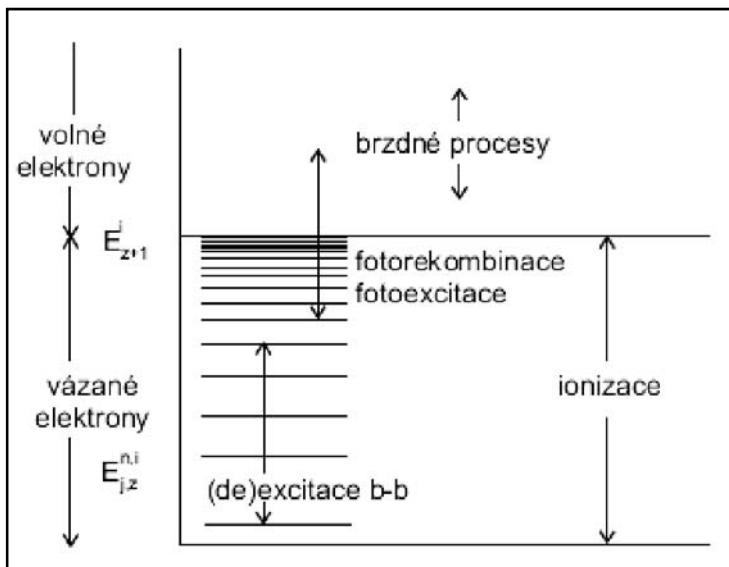
Odpovídá teplotě pro záření absolutně černého tělesa při dané teplotě podle Planckova vyzařovacího zákona:

$$u_\nu = \frac{8h\nu^3}{c^3} \frac{1}{\exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) - 1} \quad \{6\}$$

kde  $u_\nu$  je spektrální hustota zářivé energie. Laboratorní plazmové zdroje s omezenými rozměry tento zákon obecně nespĺňují a jsou proto v tzv. částečné termodynamické rovnováze (*pTE-partial Thermodynamic Equilibrium*). Výjimku může tvořit laboratorní plazma při měření na vlnové délce absorbujících atomů či iontů, přítomných ve velmi vysokých koncentracích. Pak na dané vlnové délce se plazma chová jako absolutně černé těleso. Částečná termodynamická rovnováha je tedy stav, kdy existuje chemická rovnováha mezi všemi druhy částic včetně iontů a elektronů, stejně jako rovnovážné rozdělení mezi kinetickou a vnitřní energií částic. Je-li změna teploty v plazmatu podél *střední volné dráhy* částice zanedbatelná ve srovnání se střední teplotou v odpovídajícím objemovém elementu plazmatu, je vliv teplotního gradientu na rovnovážné podmínky nevýznamný a plazma se nachází ve stavu *částečné lokální termodynamické rovnováhy* (*pLTE-partial Local Thermodynamic Equilibrium*)

## Záření plazmatu

Plazma nebo zahřátý plyn v úplné termodynamické rovnováze je popsán jedinou teplotou  $T$ . Stav takového plazmatu je jednoznačný a je pro něj možné stanovit libovolnou termodynamickou funkci. V přírodě ani v laboratorních podmínkách se plazma v úplné termodynamické rovnováze nevyskytuje, avšak k popisu záření plazmatu ve složitějších podmínkách je nutné mít znalosti o rovnovážném záření. Při zkoumání nízkoteplotního plazmatu obvykle nelze použít podmínku úplné termodynamické rovnováhy. Jsou-li však uvažovány hlavní zákonitosti dynamiky plazmatu, je možné vytvořit jednodušší modely stavu plazmatu. Příkladem takového zjednodušení je použití hypotézy o lokální termodynamické rovnováze (LTR) v neizotermickém plazmatickém systému. Převládající role srážkových procesů v hustém plazmatu činí tuto hypotézu do jisté míry oprávněnou. Jestliže je systém v LTR, pak koncentrace částic v jednotlivých kvantových stavech jsou stejné jako v systému nacházejícím se v úplné termodynamické rovnováze, který má tutéž celkovou koncentraci, teplotu a složení jako vyšetřovaný systém. Určující veličinou v plazmatu je teplota elektronů,



Obr. 2: Elektronové přechody

protože procesy, ve kterých vystupují volné elektrony, jsou v plazmatu rozhodující. Teplota elektronů úzce souvisí s rozdělovací funkcí elektronu a ta je v případě LTR rovnovážná.

### Brzdné záření

Při průletu elektronu elektrickým polem iontu mění tento směr a rychlost (obr.3). Změna rychlosti vede k emisi elektromagnetického záření.

Vyzářená energie je rovna změně kinetické energie elektronu. Poněvadž změna kinetické energie není kvantována (tzv. volně-volný přechod; free-free) má toto záření spojité charakter a často se nazývá Bremsstrahlung. V plazmatu s elektronovou teplotou  $T_e$  bude podstatná část vyzářené energie ležet v okolí frekvence

$$\nu = \frac{kT_e}{\hbar} \quad \{7\}$$

Např. při teplotě  $T_e = 10^4$  K bude maximum záření ve viditelné oblasti spektra, při  $T_e = 10^8$  K bude maximum emise brzdného záření v rentgenové oblasti spektra. Celková intenzita brzdného záření jednotkového objemu plazmatu je úměrná srážkové frekvenci elektronů a iontů, druhé mocnině nábojového čísla a je také úměrná  $\sqrt{T_e}$ :



$$P_{Br} = \left[ \frac{n_e}{7,69 \cdot 10^{18}} \right]^2 T_e^{1/2} \sum_Z Z^2 \frac{n_Z}{n_e} \quad [Wm^{-3}; m^3; eV; -, m^{-3}; m^{-3}] \quad \{8\}$$

Obr. 3: Vznik brzdného záření

#### Rekombinační záření

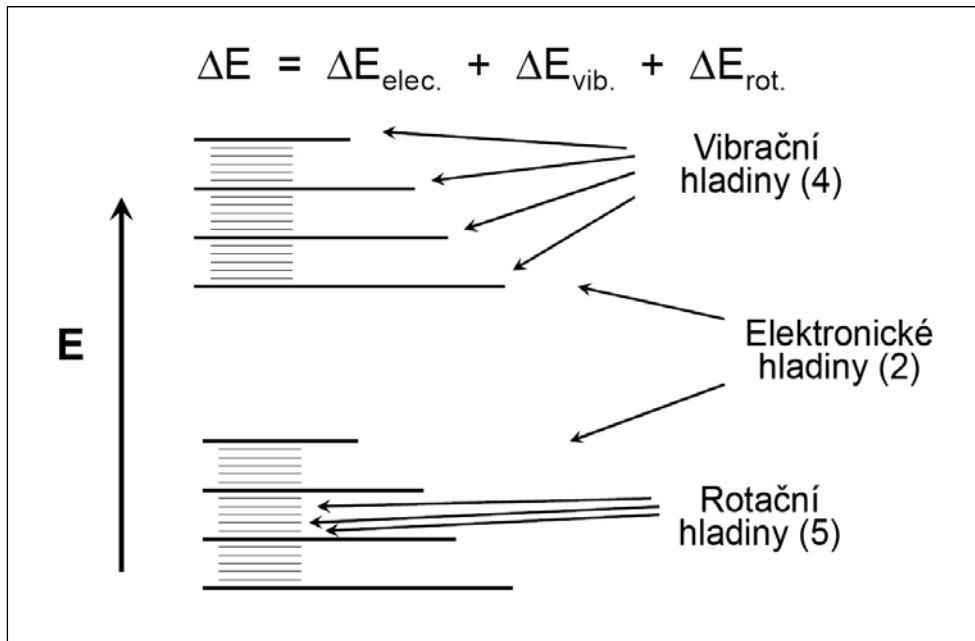
Při rekombinaci volný elektron, který se dostane do blízkosti iontu, je jím zachycen a přejde do vázaného stavu vytvořeného atomu. Při tomto přechodu se uvolní energie rovná součtu kinetické energie volného elektronu a jeho vazebné energie (přechod volně-vázaný; free-bound). Vyzářená energie

$$E_{rek} \approx \frac{kN_e N_i}{\sqrt{T_e}} \quad \{9\}$$

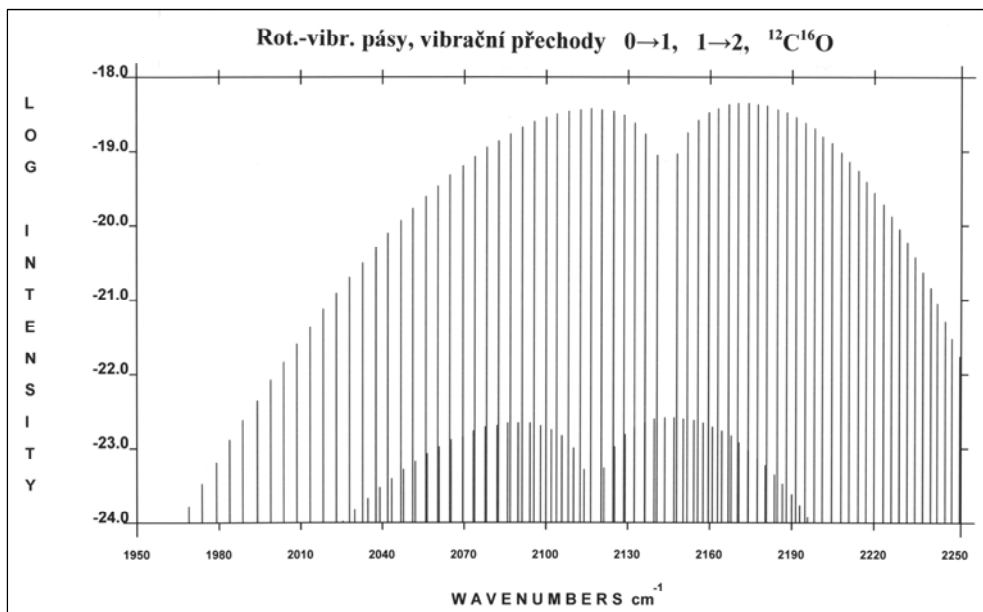
Volné elektrony nabývají spojité hodnoty energie a proto vyzářené fotony při rekombinaci mají spojité spektrum přes které se překládá čárové spektrum excitovaných stavů vzniklých při stupňovitém procesu (obr.2). Maximální intenzita Ar kontinua v analytickém Maximální intenzita Ar kontinua v analytickém ICP je při 450 nm.

#### Molekulová emise

Vibračně rotační spektra představují hustou soustavu spektrálních čar, které vznikají při přechodu mezi různými rotačními stavy jedné vibrační hladiny a rotačními stavy jiné vibrační hladiny Rotačně – vibrační stavy rozšiřují energetickou úroveň elektronických hladin (obr. 4), takže slabé složky těchto spekter mohou pokrývat celou UV a VIS oblast záření. Při analýze vzorků s vysokým obsahem uhlíku je to především emise molekul CO, ale i další molekuly přispívají ke strukturovanému pozadí mimo maxima emise (pásky OH, NH,...). Na obr. 5 je rotačně-vibrační spektrum jednoho systému molekuly CO.



Obr. 4: Energetický systém molekuly



Obr. 5: Příklad rotačně-vibračního spektra CO

Brzdné záření, rekombinační kontinuum a molekulová emise tvoří „pozadí“ emise plazmatu, které limituje mez detekce analytu v ICP optické emisní spektrometrii.



## Intenzita čar emitovaných z plazmatu

### a) Homogenní vrstva plazmatu v termodynamické rovnováze

Záření plazmatu v úplné termodynamické rovnováze se označuje jako rovnovážné záření a je plně popsáno teplotou  $T$ . V přírodě ani v laboratorních podmínkách se sice plazma v úplné termodynamické rovnováze nevyskytuje, ale dostatečným přiblížením je částečná lokální termodynamická rovnováha (*pLTE-partial Local Thermodynamic Equilibrium*).

Rozdělení energetických stavů atomů v termické rovnováze (Boltzmannův zákon):

$$N_m = N_0 \frac{g_m}{g_0} e^{-\frac{E_m}{kT}} \quad \{10\}$$

Kde  $N_m$ ,  $N_0$  je počet atomů ve stavu  $m$  a základním stavu  $0$ ;  $g_m$ ,  $g_0$  statistické váhy stavů  $m$  a  $0$  a  $E_m$  excitační energie. Energie vyzařená z jednotkového objemu do jednotkového prostorového úhlu:

$$\int_0^\infty J_\nu d\nu = \frac{1}{4\pi} A_{nm} N_m h\nu \quad \{11\}$$

Kde  $J_\nu$  je spektrální (monochromatická) emisivita,  $A_{nm}$  je Einsteinova pravděpodobnost spontánní emise a  $N_m$  koncentrace excitovaných atomů.

Emisivita:

$$J_e = \int_0^\infty J_\nu d\nu \quad [Wsr^{-1}m^{-3}] \quad \{12\}$$

$$J_\nu \equiv \frac{\Delta E}{(\Delta t \Delta V \Delta \Omega \Delta \nu)} \quad \lim \Delta t; \Delta V; \Delta \Omega; \Delta \nu \rightarrow 0 \quad \{13\}$$

V dalším se omezíme pouze na emisi jednoho kmitočtu  $\nu$  a budeme uvažovat zářivou vrstvu o tloušťce  $dl$  (stimulovanou emisi zanedbáme) ale o ploše, proti níž je plocha jednotkového objemu zanedbatelná. Potom emise zářivé vrstvy v kolmém směru:

$$dI_\nu = J_\nu dl \quad \{14\}$$

Část vyzařené energie je ovšem v plazmatu opět absorbována:

$$-dJ_\nu = K_\nu I_\nu dl \quad \{15\}$$

Kde  $K_\nu$  je absorpční koeficient:

$$\int_0^\infty K_\nu d\nu = \frac{h\nu}{c} B_{nm} N_0 \quad \{16\}$$

Kde  $B_{nm}$  je Einsteinův koeficient pravděpodobnosti absorpce.

Sečtením výrazů pro emisi a absorpci vrstvy  $dl$  obdržíme výraz:

$$\frac{dI_\nu}{dl} = J_\nu - K_\nu I_\nu \quad \{17\}$$

V podmínkách termické rovnováhy platí Kirchhoffův zákon:

$$\frac{J_\nu}{K_\nu} = B_\nu \quad \{18\}$$

Kde  $B_\nu$  je spektrální hustota zářivého toku absolutně černého tělesa:

$$B_\nu = \frac{2h\nu^3}{c^2 \left[ \exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) - 1 \right]} \quad \{19\}$$

Dosazením rovnice {18} do rovnice {17} dostaneme vztah:

$$\frac{dI_\nu}{dl} = K_\nu (B_\nu - I_\nu) \quad \{20\}$$

Separací proměnných (pro  $l=0$  a  $I_\nu=0$ ) dostaneme pro závislost hustoty zářivého toku na tloušťce zářící vrstvy

$$I_\nu = B_\nu (1 - e^{-K_\nu l}) \Rightarrow I_\nu \leq B_\nu \quad \{21\}$$

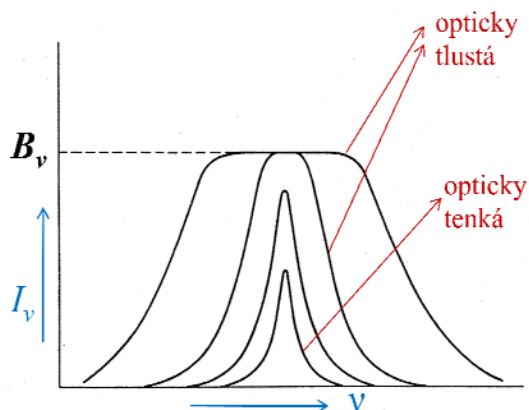
kde člen  $K_\nu l = \text{optická hloubka}$ . Je zřejmé, že emise z plazmatu nemůže přesáhnout hodnotu emise absolutně černého tělesa při dané teplotě a dané vlnové délce. Může se jí pouze přiblížit za předpokladu opticky tlusté vrstvy ( $K_\nu l \leq l$ ). Exponenciální člen je možné rozvést v řadu:

$$e^{-K_\nu l} = 1 - \frac{K_\nu l}{1!} + \frac{K_\nu l^2}{2!} - \dots \quad \{22\}$$

Pro  $K_\nu l \ll 1$  (tzv. opticky tenká vrstva) je možné se omezit na první dva členy:

$$I_\nu = B_\nu [1 - (1 - K_\nu l)] = B_\nu K_\nu l \quad \{23\}$$

Rovnice {23} ukazuje přímou úměrnost mezi hustotou zářivého toku a absorpčním koeficientem  $K_\nu$ , který je úměrný koncentraci emitujících částic (atomů, iontů,...). Lineární závislost platí pouze pro nízké koncentrace emitujících částic. Při zvyšování jejich koncentrace roste emise v maximu čáry pouze do doby, než emise dosáhne hodnoty emise černého tělesa. Poté dochází jen k rozšiřování čáry, protože absorpční koeficient na frekvencích vzdalujících se od maxima čáry, klesá (obr. 6).



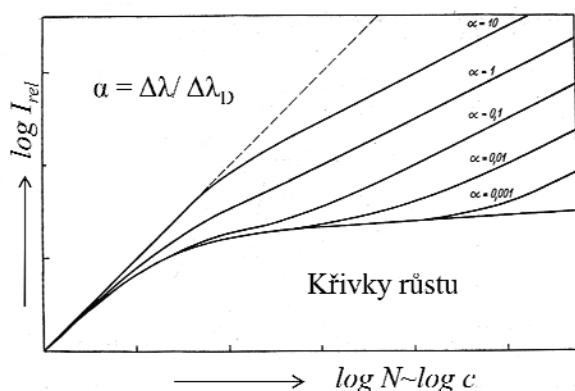
Obr. 6: Závislost emise homogenní vrstvy plazmatu na její optické tloušťce

Obr. 7.: Rozšíření spektrálních čar.

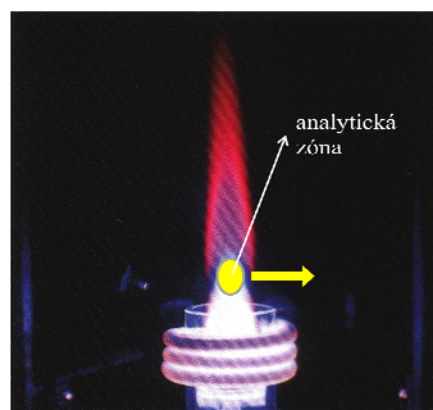
V ICP spektrometrii se obvykle neměří emise v maximu čáry ( $\Delta\lambda \leq 1 \text{ pm}$ ) ale jeho integrovaná hodnota ( $\Delta\lambda \approx 5 \div 30 \text{ pm}$ ):

$$\int_0^{\infty} I_{\nu} d\nu = B_{\nu} \int_0^{\infty} (1 - e^{-K_{\nu}l}) d\nu \quad \{24\}$$

Závislost integrálního záření na optické hloubce v log souřadnicích je křivka růstu. Průběh křivky růstu závisí na profilu čáry, dané kombinací rezonančního a Gaussova profilu.



Obr. 8.: Křivky růstu



Obr. 9: Radiální ICP plazma

Analytická zóna v radiálním ICP plazmatu svými spektrálními vlastnostmi odpovídá přibližně homogennímu plazmatu v částečné termodynamické rovnováze. Tomu odpovídá průběh koncentračních závislostí a minimum interferencí. Pro opticky tenkou vrstvu  $K_{\nu}l \ll 1$  pak platí lineární závislost intenzity emise na koncentraci analytu. Linearita koncentračních závislostí je pro vysoké obsahy analytu omezena právě tím, že není splněna podmínka pro opticky tenkou vrstvu. Při měření emise v axiálním směru je měřená vrstva plazmatu podstatně delší a k zakřivení kalibračních závislostí dochází u koncentrací analytu až o řád menších než při radiálním pozorování.

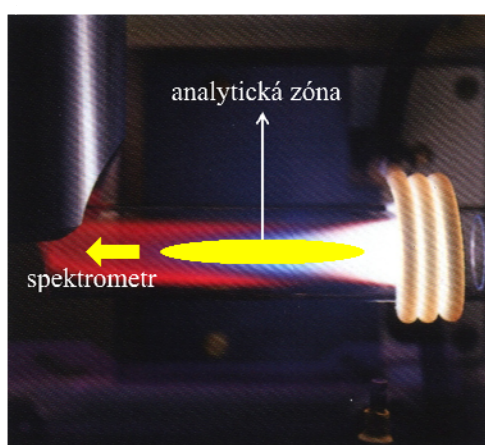
### b) *Nehomogenní plazma*

V plazmatu s nehomogenním rozdělením teploty je změna intenzity záření v libovolném místě popsána rovnicí:

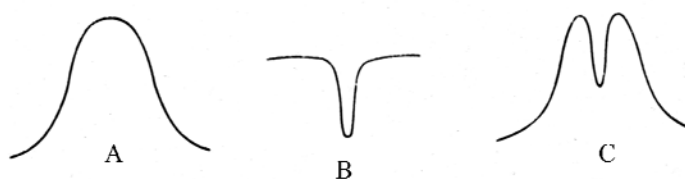
$$\frac{dI_\nu}{dl} = \sum J_\nu - K_\nu I_\nu \quad \{25\}$$

Integrace je proveditelná pouze ve zvláštních případech, protože  $J_\nu$  a  $K_\nu$  jsou funkcí teploty, např. pro rotačně symetrické plazma.

Je-li plazma nehomogenní (vnější část chladnější než vnitřní), pak tvar absorpční čáry je ve vnější části plazmatu užší než tvar čáry emitované z teplejší části plazmatu. Nastává silná deformace čáry a průběh závislosti intenzity emise na koncentraci analytu v plazmatu je silně nelineární.



Obr. 10: Axiální plazma



**A – profil emisní čáry (vnitřní, teplejší část plazmatu)**  
**B – profil absorpční čáry (chladnější část plazmatu)**  
**C – výsledný profil emise z neizotermního plazmatu**

Obr. 10: Deformace emisní čáry

Analytická zóna v axiálním ICP plazmatu svými spektrálními vlastnostmi odpovídá nehomogennímu plazmatu. Tomu odpovídá nelineární průběh koncentračních závislostí především pro vyšší koncentrace analytu, ale vzhledem k většímu objemu plazmatu, ze kterého vstupuje záření do spektrometru, se dosahuje maximální citlivosti. Axiální ICP plazma také vykazuje větší počet interferencí ve srovnání s radiálním plazmatem.

### **Literatura:**

1. Farský a kol.: Optická diagnostika plazmatu, UJEP Brno 1973
2. Dvořák J., Rubeška I., Řezáč Z.: Laboratorní praxe plamenové fotometrie, SNTL Praha 1967.
3. Otruba V., Sommer L., Toman, J.: Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech. 1. st. Praha, Academia, 1992. 152 s. Pokroky chemie 24.
4. Otruba, V. Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem: Brno, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2001.

# Fyzikální základy ICP

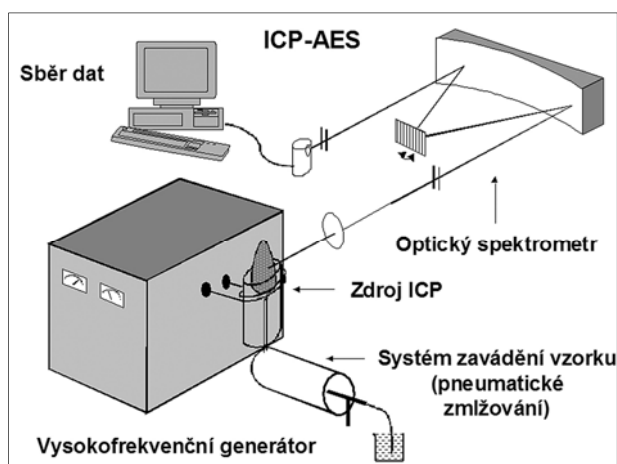
Viktor Kanický

Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.

## 1 Úvod

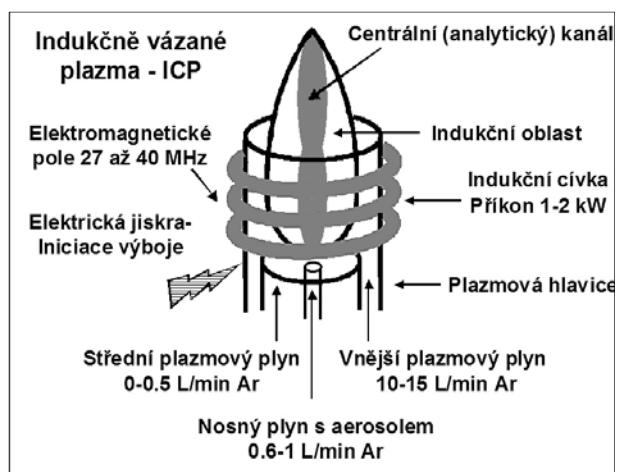
Indukčně vázané plazma (ICP) je využíváno v chemické analýze již čtyřicet pět let; nejdříve jako budicí zdroj pro optickou emisní spektrometrii (ICP-OES), později ojedinele jako atomizátor pro fluorescenční spektrometrii (ICP-AFS) a počátkem 80. let jako zdroj iontů pro anorganickou hmotnostní spektrometrii (ICP-MS). Setkáme se také s termínem atomová emisní spektrometrie (ICP-AES).

Schéma analyzátoru je na obr. 1. Technika je používána převážně pro analýzu roztoků. Do ICP výboje v proudícím argonu je vnášen další proudem Ar aerosol generovaný zmlžovačem. Účinné zavádění vzorku je umožněno prstencovitým tvarem výboje (obr. 2), který je důsledkem vytvoření centrálního kanálu ve výboji proudem nosného plynu. V kanálu výboje se aerosol vysuší a odpaří, páry se atomizují a volné atomy jsou excitovány a ionizovány. Záření



Obr. 1. Schéma optického emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem

je tvořeno čarovou emisí excitovaných atomů a iontů a pásovou či spojitou emisí dalších částic. Analytický signál představuje čarová emise atomů a jedenkrát nabitých iontů ( $X^+$ ) analytu, pozadí je tvořeno spojitým rekombinačním zářením iontů argonu, pásovou emisí molekulárních částic z obklopující atmosféry a vzorku a dále spojitou emisí volných elektronů. Záření z ultrafialové (UV) a viditelné (Vis) oblasti spektra je po disperzi v mřížkovém spektrálním přístroji detekováno různými typy fotodetektorů.



Obr. 2. Indukčně vázaný plazmový výboj

ICP poskytuje pro OES tyto analytické vlastnosti: **a)** stanovení cca 70 prvků; **b)** simultánní analýza **c)** vysoká selektivita; **d)** vysoká citlivost; **e)** meze detekce 1-10 ng/ml; **f)** lineární dynamický rozsah 5-7 řádů, **g)** nespektrální interference  $\ll \pm 5$  % rel.; **h)** analýza vzorků všech skupenství; **i)** analýza

mikrovzorků; **j**) přesnost od 0,2 % RSD a správnost lepší než 1% rel.; **k**) kapacita měření  $10^2$ - $10^3$  stanovení/h; **l**) automatizace.

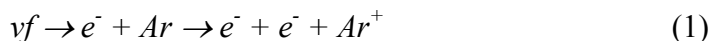
ICP použil poprvé pro chemickou aplikaci v roce 1960 T. B. Reed. První analytické práce s ICP publikovali V. A. Fassel a R. H. Wendt a nezávisle S. Greenfield, I. Jones a C. T. Berry. V Československu se jako první zabývali ICP v letech 1969-71 I. Kleinmann, V. Svoboda a J. Čajko.

V 80. letech 20. století se rozvíjí komerční instrumentace; především se přizpůsobují optické systémy plošným polovodičovým detektorům. Uvedení mikroprocesorů a osobních počítačů znamená zdokonalené řízení i vyhodnocování. Nové možnosti přináší spojení ICP a MS, spojení ICP-MS a separačních technik a dále rozšíření dalších technik zavádění vzorku do výboje, které byly vyzkoušeny již koncem 70. a začátkem 80. let.

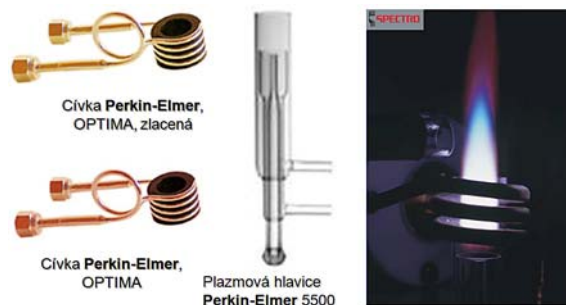
## 2 Generování indukčně vázaného plazmatu

### 2.1 Princip výboje

Na rozdíl od plamene, kde je kinetická energie částic potřebná pro srážkové procesy (disociaci, atomizaci, excitaci) získávána ze spalného tepla paliva, v ICP výboji získávají volné elektrony energii z vnějšího zdroje, tj. z  $\omega f$  elektromagnetického pole indukční cívky. Výboj ICP je iniciován ionizací jiskrovým výbojem z Teslova transformátoru (obr. 2). Uvolněné elektrony jsou urychlovány  $\omega f$  elektromagnetickým polem a způsobují další, lavinovitou ionizaci pracovního plynu, obvykle argonu:



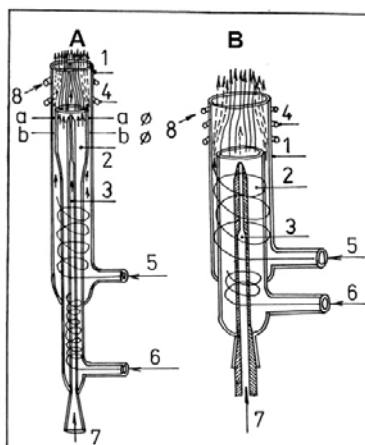
Ionizovaný plyn postupuje dále tzv. *plazmovou hlavici* a v prostoru indukční cívky se třemi až šesti závití (obr. 3) začne fungovat jako sekundární zkratované vinutí transformátoru. Vzniklý sekundární  $\omega f$  proud zahřeje proudící plyn na teplotu, kdy přejde na dobře vodivé plazma, které se dále samo udržuje indukovaným  $\omega f$  proudem. Plazma vytvořené v jediném toku plynu má kapkovitý tvar, přičemž širší část kapky (uvnitř plazmové hlavičky) je orientována proti toku argonu (upstream).



**Obr. 3. Plazmová hlavice s indukční cívkou, plazmový výboj**

Při vhodné kombinaci rozměrů plazmové hlavičky, frekvence  $\omega f$  pole a dostatečné rychlosti proudění centrálního toku (tzv. *nosného plynu*) lze prorazit do výboje kanál o průměru 3 až 4 mm, do nějž lze zavést aerosol bez ovlivnění přenosu energie a účinnosti indukční vazby. Výboj tak získá prstencovitý tvar (annulus, toroid). Plazma jako vodič střídavého proudu vykazuje *skin-efekt*, v jehož důsledku klesá intenzita indukovaných proudů směrem k ose výboje. V prstenci je nejvyšší teplota a jeho středem prochází relativně chladnější analytický kanál vytvořený proudem nosného plynu se vzorkem. Popsaná geometrie výboje má za následek nízké meze detekce a linearitu závislosti intenzity emise spektrální čáry na koncentraci prvku v rozsahu až 6 řádů.

Plazmová hlavice je tvořena soustavou tří koncentricky uspořádaných křemenných trubic, kterou proudí tři toky pracovního plynu. Na obr. 4 jsou znázorněny původní plazmové hlavice (V. A. Fassel, S. Greenfield) pro argonové a argon-dusíkové plazma. V současné době se používá jako pracovní plyn pouze argon, proto bude nadále používáno názvosloví plynů pro Ar-ICP. Při výkonu generátoru ICP v typickém rozsahu



**A- argon/argonové plazma, B – argon/dusíkové plazma.** Trubice: 1 – vnější (plazmová), 2 – prostřední, 3 – injektor. **Konfigurační faktor plazmové hlavice =  $a/b$** , kde  $a$  je vnější průměr prostřední trubice,  $b$  je vnitřní průměr vnější (plazmové) trubice. Toky plynů: **A: 5 – vnější plazmový (8-15 l/min Ar), 6 – střední plazmový (0-1 l/min Ar), nosný (0,5-1,0 l/min Ar); B: 5 – chladič (15-20 l/min N<sub>2</sub>), 6 – plazmový (5-10 l/min Ar), 7 – nosný (1-3 l/min Ar); 4 – indukční cívka, 5 – chladič voda.**

**Obr. 4. Schemata plazmových hlavic pro argonové a argon-dusíkové ICP**

1-1,7 kW je plazmový výboj stabilní při celkovém průtoku 10-15 l/min Ar. Tento výboj má typicky průměr přibližně 14-16 mm a délku 30-40 mm. Plazmová hlavice je umístěna koaxiálně v indukční cívce a má tyto funkce: *i*) izoluje plazma od indukční cívky; *ii*) usměrňuje tok *vnějšího plazmového plynu* tak, aby byly vytvořeny podmínky pro iniciaci a udržení stabilního výboje; *iii*) umožňuje ovlivnění polohy výboje v axiálním směru prostřednictvím *středního plazmového plynu*; *iv*) umožňuje zavádění vzorku do plazmatu pomocí *nosného plynu* vytékajícího z trysky injektoru.

*Vnější plazmový plyn* je nositelem výboje. *Střední plazmový plyn* izoluje plazma od prostřední trubice. *Nosný plyn* transportuje vzorek (aerosol nebo plynný vzorek). Názvy a funkce toků plynů v Ar-ICP jsou uvedeny v Tab. 1. Parametry ICP jsou uvedeny v Tab. 2.

Tabulka 1 Označení jednotlivých toků plynů v Ar-ICP

Prostor	mezi plazmovou a prostřední trubicí	mezi prostřední trubicí a injektorem	injektor
Označení plynu	vnější plazmový	střední plazmový	nosný
Funkce plynu	vytváří výboj	stabilizuje výboj	vytváří analytický kanál a vnáší aerosol

Tabulka 2 Parametry výbojů ICP

Frekvence (MHz)	27-64
Příkon (kW)	0,7-2
Průtoky (l/min)	vnější 7-20
	střední do 1
	nosný 0,5-1,5

## 2.2 Generátory ICP

Vysokofrekvenční (*vf*) generátor dodává výboji ICP energii potřebnou k vykonání ionizační práce. Generátor se skládá ze tří základních částí: i) zdroje stejnosměrného napětí, ii) *vf* oscilátoru a iii) obvodu impedančního přizpůsobení s indukční cívkou pro generování ICP. Oscilátor je zdroj elektrických kmitů s ustálenou amplitudou a určitou frekvencí a je tvořen rezonančním (laděným) obvodem a zesilovačem (obr. 5). Výkonové *vf* zesilovače generátorů ICP jsou převážně elektronkové. Ve druhé polovině devadesátých let se však začaly uplatňovat generátory polovodičové.

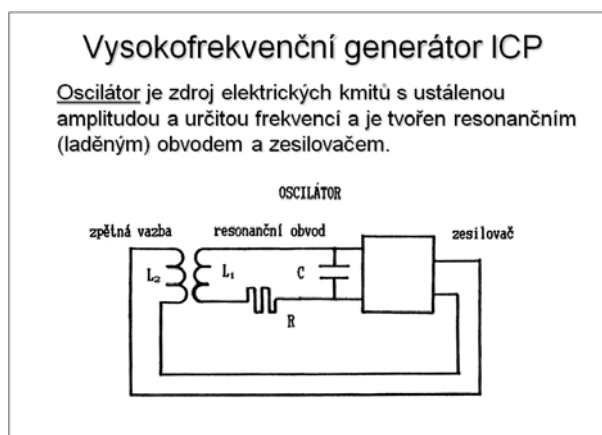
Frekvence ICP generátoru určuje do značné míry vlastnosti výboje: teplotu, intenzitu rekombinačního kontinua, poměry intenzit atomových a iontových čar, poměry signálu k pozadí a tedy i hodnoty mezi detekce, a dále nespektrální i spektrální interference.

Při zavedení vzorku do ICP výboje se změní jeho impedance, což vyžaduje impedanční přizpůsobení *vf* generátoru. Podle způsobu, jak se generátor vyrovnává se změnou zátěže plazmatu, rozeznáváme 2 typy oscilátorů: *volně kmitající* (*s plovoucí frekvencí, free-running*) a *krystalově řízené* (*s pevnou frekvencí-fixed frequency*).

Generátor s *volně kmitajícím oscilátorem* přizpůsobí svou rezonanční frekvenci komplexnímu odporu zátěže, je *stabilizován výkonově*. To znamená, že při změně zátěže (aerosoly koncentrovaných roztoků solí, organická rozpouštědla, molekulární plyny) se frekvence tohoto oscilátoru nepatrně změní a výkon předávaný do plazmatu zůstane stabilní. U generátorů s oscilátorem *řízeným krystalem* se vyžaduje v takovém případě rychlé impedanční přizpůsobení změnou parametrů přizpůsobovacího členu, například změnou kapacity proměnného kondenzátoru řízeného servomotorem, jinak plazma z důvodu nedostatečného výkonu zhasne. V praxi se generátor doladuje rychlou změnou impedance přizpůsobovacího členu tak, aby zůstaly zachovány podmínky pro resonanci vazebního obvodu při frekvenci krystalu. Generátor je vybaven měřením odraženého výkonu, což je rozdíl mezi výstupním výkonem oscilátoru a výkonem absorbovaným plazmatem. Doladěním se odražený výkon minimalizuje a dosahuje se opět maximální účinnosti vazby. V posledním desetiletí však převládají polovodičové generátory nad elektronkovými.

## 2.3 Plazmové hlavice

Původní plazmová hlavice podle Fassela (Ar/Ar) se v průběhu vývoje techniky ICP principiálně nezměnila, výrobci pouze modifikují základní konstrukci s ohledem na specifické rysy konkrétní instrumentace. Přitom zůstávají v platnosti požadavky na vlastnosti konstrukčního materiálu a provedení výrobku: vysoká teplota měknutí materiálu, dobrá tepelná vodivost, odolnost proti tepelnému šoku, nízká elektrická vodivost, chemická odolnost a vysoká symetrie tvaru a uspořádání trubic.



Obr. 5. Vysokofrekvenční oscilátor ICP generátoru



Plazmové hlavice mohou být buď *kompaktní* (obr. 6a), kdy všechny tři trubice tvoří pevný celek, *rozebiratelné* (obr. 6b), kdy jednotlivé trubice jsou samostatně fixovány v plastovém nebo keramickém bloku opatřeném přívidy argonu, nebo *kombinované* (obr. 6c, d), kdy prostřední a vnější trubice tvoří celek a injektor je samostatný. Každá z konstrukcí má své výhody a nedostatky.



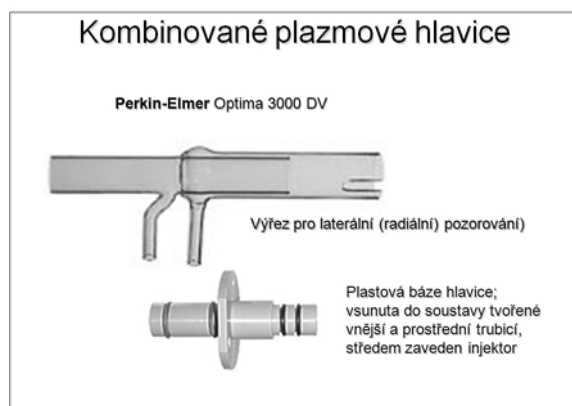
Obr. 6a. Kompaktní plazmové hlavice spektrometrů firem Perkin Elmer, Spectro, Varian



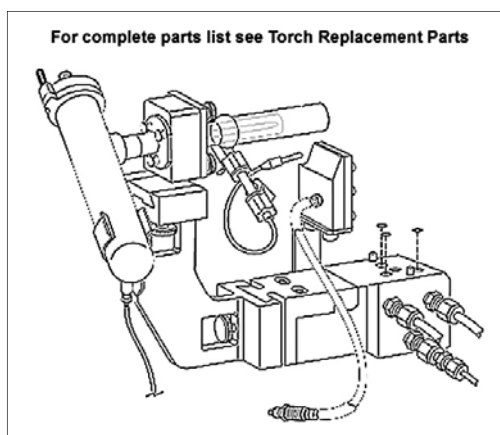
Obr. 6b. Rozebiratelná plazmová hlavice Jobin Yvon



Obr. 6c. Kombinované plazmové hlavice firem Perkin Elmer, Spectro, Varian



Obr. 6d. Kombinovaná plazmová hlavice Perkin Elmer pro axiální a laterální pozorování

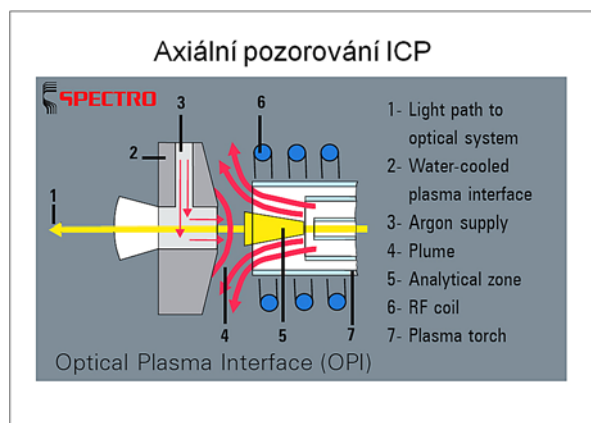


Obr. 7. Horizontální uspořádání plazmové hlavice pro kombinaci axiálního a laterálního pozorování ICP; hlavice je pevně spojena se zmřovací komorou (Perkin Elmer OPTIMA 3000 DV)

Emise ICP je snímána buď kolmo na osu symetrie výboje v určité výšce nad indukční cívkou (radiálně, laterálně) nebo v ose výboje (axiálně), obr. 6d. Spektrometry s axiálním pozorováním výboje mají podobně jako hmotnostní spektrometry plazmovou hlavici umístěnu v horizontální poloze (obr. 7), což může případně mít za následek gravitační usazování nevypařeného materiálu vzorku a výraznější lokální opotřebení trubice. Tato skutečnost je významná zejména při analýze roztoků s vysokým obsahem solí a ve spojení s laserovou ablací pevných vzorků. Laterální snímání signálu se provádí pomocí periskopu, který přenáší záření prošlé výřezem ve vnější plazmové trubici.

Při axiálním pozorování ICP leží v optické ose také chvost výboje, v němž nejsou ustaveny optimální podmínky pro měření analytického signálu. Proud horkého argonu navíc směřuje proti vstupní optice spektrometru. Výrobci řeší problém buď „odstříhnutím“ chvostu výboje a horkého argonu proudem vzduchu (shear gas) směřovaným kolmo na výboj, rozfukováním chvostu protiproudem plynu při vnoření kovového kuželu s aperturou ve vrcholu do plazmatu podobně jako je tomu u uspořádání v ICP-MS (obr. 8).

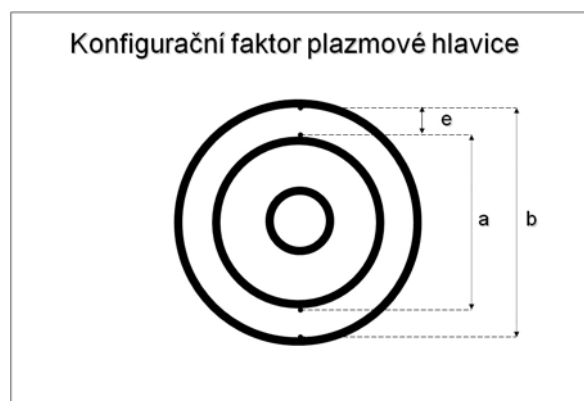
Energetická bilance ukazuje, že pouze velmi malá část z výkonu generátoru je využita pro soubor procesů v plazmatu od vypaření vzorku až po excitaci. Do plazmové hlavice je dodáno asi 70-80 % *vf* výkonu generátoru. Zbývající výkon je rozptýlen v obvodech oscilátoru a v indukční cívce v podobě tepla. Část výkonu dodaná do plazmové hlavice je odváděna konvekcí proudem argonu a kondukcí stěnou vnější



**Obr. 8. Uspořádání s horizontálně orientovaným ICP výbojem pro axiální pozorování**

plazmové trubice. Při výkonu generátoru 1000 W připadá na ztráty konvekcí a přestupem tepla stěnou hlavice přibližně 450 až 600 W; na udržení kinetické teploty plynu 3500 K činí potřebný příkon 65 W, na spojitě záření plazmatu připadá 25 W a na odpaření, disociaci, atomizaci, ionizaci a excitaci vzorku asi 25 W pro vodné roztoky a 200 W pro organická rozpouštědla. Pro vytvoření tzv. robustního ICP výboje (tj. plazmatu s minimálními nespektrálními interferencemi) je třeba výkonu generátoru asi 1300 W při průtoku nosného plynu  $0.6 \text{ l min}^{-1}$ .

Vysoká spotřeba argonu se významně podílí na provozních nákladech a cenách analýz. Pro udržení stabilního výboje je třeba, aby vnější plazmový plyn dosahoval při daném příkonu do plazmatu alespoň určité minimální lineární rychlosti proudění. Tato minimální rychlost je pro 27,12 MHz a 40,68 MHz generátory rovna  $3.3 \text{ m s}^{-1}$  a s rostoucí frekvencí klesá. Snížit spotřebu lze tedy zmenšením šířky anulární štěrbin (e) mezi prostřední a vnější plazmovou trubicí. Dříve byla geometrie plazmové hlavice charakterizována pomocí tzv. *konfiguračního faktoru*, který je definován jako poměr vnějšího průměru prostřední plazmové trubice (a) k vnitřnímu průměru vnější plazmové trubice (a), Obr. 9.



**Obr. 9. Konfigurační faktor plazmové hlavice je poměr  $a/b$  vnějšího průměru prostřední trubice a a vnitřního průměru vnější trubice b; e šířka štěrbin mezi oběma trubicemi.**

### 3 Fyzikální vlastnosti ICP

Přestože lze plazma vytvořit z libovolného plynu, v praxi se dává přednost vzácným plynům, které mají jednoduchá spektra, netvoří stabilní sloučeniny a nemusí disociovat na atomy. Jejich vysoké hodnoty *ionizační energie* navíc umožňují účinnou ionizaci většiny prvků. Argon je schopen díky své 1. ionizační energii 15,8 eV ionizovat všechny prvky s výjimkou He, Ne a F, což je velmi výhodné i pro ICP ve spojení s hmotnostní spektrometrií. Závislost stupně ionizace na ionizační energii prvků při ionizační teplotě argonu je uvedena na Obr. 10. Největší nevýhodou Ar je jeho nízká tepelná vodivost omezující účinnost atomizačních procesů. Tento nepříznivý stav lze zlepšit přidávkem tepelně výborně vodivého vodíku. Přídavek kyslíku umožňuje dokonalé spálení uhlíku při rozkladu organických látek (např. rozpouštědel), čímž se zabrání usazování uhlíku v plazmové hlavici.

*Viskozita plazmatu* vzácných plynů roste významně s teplotou. Při zvýšení teploty z 293 K na 6000 K vzroste viskozita Ar o jeden řád, což klade značné nároky na zavádění aerosolu do výboje.

*Koncentrace elektronů* v ICP dosahuje v oblasti výboje, v níž je měřen analytický signál, hodnot  $10^{20}$ - $10^{21}$  m<sup>-3</sup>, což je významně více než v plameni ( $10^{14}$ - $10^{17}$  m<sup>-3</sup>), tj. stupeň ionizace analytického ICP je přibližně 0,1 %. Důsledkem vysoké elektronové hustoty je jednak malý vliv i vysoké koncentrace snadno ionizovatelných prvků na ionizační rovnováhy, jednak významné pozadí v UV a Vis oblasti spektra, vyvolané zářivou rekombinací argonu

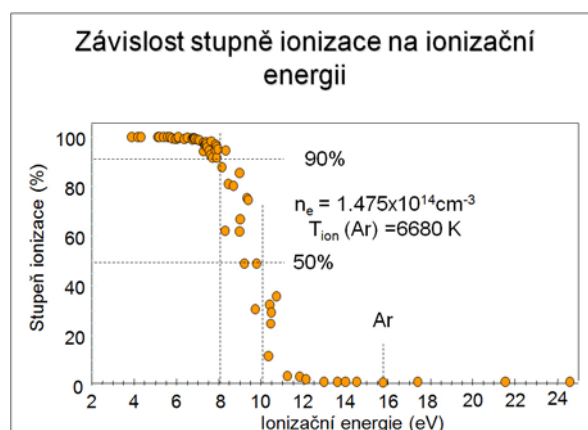


Toto spojitě pozadí prochází maximem při 450 nm, což vysvětluje modrou barvu argonového plazmatu.

*Teplota plazmatu* závisí podobně jako koncentrace elektronů na pozorované oblasti výboje. Kromě toho je obtížné přiřadit plazmatu jedinou termodynamickou teplotu. Základní teploty definované v plazmatu jsou:

1. *Kinetická teplota těžkých částic*  $T_g$
2. *Kinetická teplota elektronů*  $T_e$
3. *Excitační teplota*  $T_{exc}$
4. *Ionizační teplota*  $T_{ion}$
5. *Zářivá teplota*

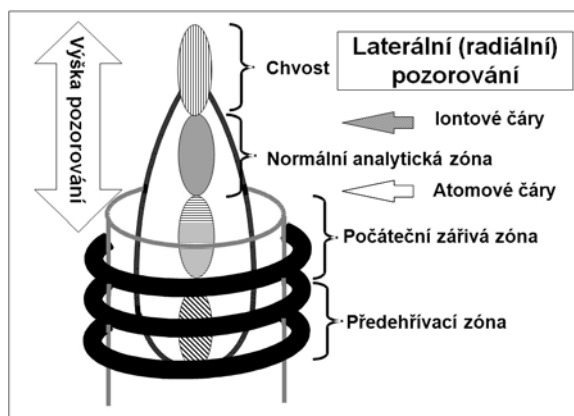
Systém je v termodynamické rovnováze, jestliže jsou všechny uvedené procesy popsány *jedinou termodynamickou teplotou*. *Kinetická teplota*  $T_{kin}$  ( $T_g$ ,  $T_e$ ) vystupuje ve vztahu pro *Maxwellovo trojrozměrné rozdělení rychlostí* a určuje střední kinetickou energii částic. Hmotnost iontů a elektronů je značně rozdílná a rozdílná je i jejich kinetická energie. *Excitační teplota*  $T_{exc}$  vystupuje v *Boltzmannově rozdělení*, které vyjadřuje distribuci populace excitovaných hladin atomů a iontů. *Ionizační teplota*  $T_{ion}$  je parametrem *Sahovy rovnice*, která



Obr. 10. Závislost stupně ionizace prvků na ionizační energii atomu

popisuje ionizační rovnováhu. Rozdělení zářivé energie ve spektru je popsáno *Planckovým vyzařovacím zákonem*, v němž vystupuje *zářivá teplota*. Hustota záření laboratorních plazmových zdrojů s omezenými rozměry tento zákon obecně nespĺňuje a proto mohou být při rovnosti ostatních teplot tato plazmata nanejvýš v tzv. částečné termodynamické rovnováze (*pTE-partial Thermodynamic Equilibrium*). Částečná termodynamická rovnováha je tedy stav, kdy existuje chemická rovnováha mezi všemi druhy částic včetně iontů a elektronů, stejně jako rovnovážné rozdělení mezi kinetickou a vnitřní energií částic. Je-li změna teploty v plazmatu podél *střední volné dráhy* částice zanedbatelná ve srovnání se střední teplotou v odpovídajícím objemovém elementu plazmatu, je vliv teplotního gradientu na rovnovážné podmínky nevýznamný a plazma se nachází ve stavu *částečné lokální termodynamické rovnováhy* (*pLTE-partial Local Thermodynamic Equilibrium*).

*Topografie výboje ICP* rozlišuje dvě zásadně odlišné oblasti, a to *indukční zónu*, v níž dochází k přenosu energie elektromagnetického pole cívky do plazmatu, a *analytický kanál*, v němž je soustředěn vzorek transportovaný nosným plynem. Významné odchylky od *pLTE* jsou pozorovány především na rozhraní *plazmového prstence* s teplotou 10000 K a analytického kanálu s tokem chladného argonu, v němž je kinetická teplota  $T_g$  atomů a iontů přibližně 3500 K. Podle procesů probíhajících v analytickém kanálu a podle prostorového rozdělení intenzity emise čar se tento člení na *předehřivací zónu* (*PreHeating Zone-PHZ*), *počáteční zářivou zónu* (*Initial Radiation Zone-IRZ*), *analytickou zónu* (*Normal Analytical Zone-NAZ*) a *chvost výboje* (*Tailflame-T*), (obr. 11).



Obr. 11. Zóny analytického kanálu ICP

Největší pozornost je věnována analytické zóně - *NAZ*, která je oblastí *preferenční excitace iontů*. V *NAZ* jsou pozorovány odchylky od *pLTE*, přičemž teploty jednotlivých procesů klesají v pořadí

$$T_e > T_{ion} > T_{exc} > T_g \quad (10)$$

Excitační teplota měřená v ose kanálu přitom nabývá maximální hodnoty právě v *NAZ*. Koncentrace elektronů roste v analytické zóně se vzdáleností od horního okraje indukční cívky, ve vzdálenosti 16 až 20 mm dosahuje maximální hodnoty  $5 \times 10^{20} \text{ m}^{-3}$  a pak opět klesá, přičemž ještě ve vzdálenosti 30 mm nad cívku dosahuje hodnoty  $1 \times 10^{20} \text{ m}^{-3}$ . Energetické podmínky v analytické zóně jsou dostatečné pro disociaci stabilních sloučenin, čímž se potlačují chemické interference.

V počáteční zářivé zóně *IRZ* jsou rovněž pozorovány odchylky od *pLTE*. teplota i koncentrace elektronů je však nižší než v *NAZ*.

Rozdílná kinetická teplota analytického kanálu a indukční oblasti (plazmového prstence) má značný význam pro analytické vlastnosti ICP. Plazmový prstenec má vyšší viskozitu než chladnější nosný plyn a omezuje tím jeho expanzi a mísení s vnějším plazmovým plynem. Atomy a ionty vzorku proto zůstávají soustředěny v analytickém kanálu a nedostávají se do chladných periferních oblastí výboje, jak je tomu naopak v případě

obloukového výboje nebo plamene. Z tohoto důvodu není pozorován v ICP samozvrat a kalibrační závislosti mají velký lineární dynamický rozsah.

#### 4 Excitační mechanismy

Doposud bylo pro argonové plazma navrženo několik excitačních mechanismů, které vycházejí ze zjištěných odchylek od lokální termodynamické rovnováhy.

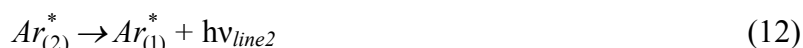
V laboratorních plazmatech jsou zářivé procesy mimo rovnováhu, protože úplná absorpce fotonů vyžaduje vysoké optické hustoty pro všechny zářivé přechody, což je podmínka, kterou tato plazmata nespĺňují. Kritériem *pLTE* je tedy proto požadavek, aby *srážkové excitační a srážkové ionizační procesy* převažovaly nad *procesy zářivými*. Ze spektroskopických měření vyplývá, že  $T_{exc} > T_{ion}$ , tj. intenzita iontových čar je vyšší než odpovídá rovnováze a  $T_{exc}$  roste se zvyšující se hodnotou energie horní hladiny spektrálního přechodu, tj. populace vyšších energetických hladin jsou četnější než odpovídá Boltzmannovu zákonu. Na základě těchto a dalších zjištění byly navrženy excitační mechanismy, v nichž se uplatňují částice  $e^-$ ,  $Ar^+$ ,  $Ar^*$ ,  $Ar^0$ ,  $Ar_2^+$ ,  $Ar_2^*$ . Praktický význam mají reakce  $e^-$ ,  $Ar^+$ ,  $Ar^*$ .

##### 4.1 Reakce elektronů

Elektrony mají význam především pro vytváření plazmatu. Jsou urychlovány *vf* polem a ionizují atomy *Ar*. Elektrony musí mít kinetickou energii rovnou minimálně ionizační energii *Ar* (15,8 eV). Změna rychlosti elektronů v elektrickém poli iontů  $Ar^+$  je spojena s nekvantovaným energetickým přechodem, který je označován jako přechod volně-volný (*free-free*) a projevuje se emisí při vlnových délkách nad 500 nm. Další reakcí je zářivá rekombinace, což je přechod elektronu z nekvantovaného stavu na některou energetickou hladinu (přechod volně-vázaný, *free-bound*) při němž se uvolňuje spojitě rekombinační záření

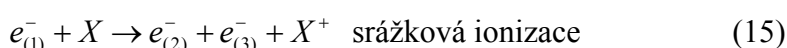


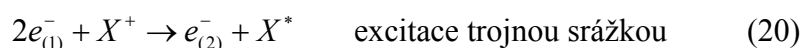
Maximální intenzita *Ar* kontinua je při 450 nm. Excitované atomy argonu podléhají zářivé deexcitaci



kde  $\nu_{cont}$  a  $\nu_{line}$  jsou frekvence spojitěho záření a čárové emise a dolní indexy (2), (1) různé excitované stavy, případně základní stav (0). Intenzivní atomové čáry argonu se nacházejí v oblasti vlnových délek 400 až 450 nm, ve vzdálené UV oblasti ~ 100 nm se nacházejí další rezonanční čáry argonu.

Existuje celá řada ionizačních a excitačních reakcí elektronů s atomy a ionty vzorku X, např. :





V reakcích (14–20) se uplatňují elektrony s kinetickou energií nižší než 30 eV. Nad tuto hodnotu klesá pro uvedené reakce účinný srážkový průřez.

#### 4.2 Reakce iontů argonu

Základní stav iontu  $Ar^+$  má energii 15,76 eV nad základním stavem neutrálního atomu  $Ar$  při celkovém kvantovém čísle  $J = 3/2$  a 15,94 eV při  $J = 1/2$ . Základní reakcí je přenos náboje (charge transfer), který je příčinou vzniku excitovaných iontů analytu



Tato reakce probíhá účinně v případě, že  $\Delta E < 2 eV$ , a proto se uplatňuje u těch čar, jejichž součet ionizační energie atomu a excitační energie spektrálního přechodu  $E_{sum} = E_i + E_{exc}$  je větší nebo roven 14 eV a menší než cca 16 eV. Na nižší energetické hladiny přechází ion analytu postupnou zářivou deexcitací těchto stavů. Reakce přenosu náboje je jednou z příčin, že poměr koncentrací částic  $n(X^+)/n(Ar^+)$  je vyšší než odpovídá *pLTE* a proto také poměry intenzit iontových a atomových čar téhož prvku jsou vyšší než odpovídá rovnováze.

#### 4.3 Reakce excitovaných atomů $Ar^*$

V analytickém kanálu, a to především v analytické zóně, je pozorována *supratermická koncentrace* excitovaných atomů  $Ar^*$ . Příčinou tohoto nadbytku je pravděpodobně absorpce záření rezonančních čar argonu (106,7 a 104,8 nm) emitovaných především z indukční oblasti, atomy argonu v analytickém kanálu. Excitované atomy argonu zvyšují prostřednictvím reakce



koncentraci elektronů nad rovnovážnou hodnotu vyplývající z ionizace atomů argonu v základním stavu. Zářivou deexcitací  $Ar^*$  v oblasti spektra 390-470 nm vznikají metastabilní energetické stavy  $Ar^m$ , které nemohou podle výběrového pravidla (změna kvantového čísla  $J$ ) deexcitovat optickým přechodem.



Metastabilní atomy  $Ar^m$  jsou přítomny v koncentracích  $10^{18} \text{ m}^{-3}$ , což je o 3 řády méně než bylo zjištěno pro elektrony a ionty  $Ar^+$ . Koncentrace  $Ar^m$  je v *NAZ* vyšší než odpovídá termodynamické rovnováze. Příčinou je jednak supratermická koncentrace  $Ar^*$ , která se uplatňuje v reakci (26), jednak pravděpodobně difuze  $Ar^m$  z indukční oblasti do kanálu.  $Ar^m$  předávají srážkami druhého řádu (srážkami prvního řádu se přenáší kinetická energie translačního pohybu) svou energii atomům analytu. Tato reakce se nazývá *Penningova* a probíhá jako ionizačně-excitační nebo ionizační.



Energie metastabilních hladin  $Ar$  mají hodnoty 11,55 eV a 11,72 eV, a proto postačují k ionizaci atomů s  $E_i < 11,55 \text{ eV}$  nebo  $E_i < 11,72 \text{ eV}$ . Vzniklé ionty  $X^+$  jsou potom excitovány obvykle srážkami s elektrony. Metastabilními atomy argonu mohou být excitovány iontové

stavy také přímo, pokud je  $E_i + E_{exc} < 11,55$  (11,72 eV). Penningova reakce patří k často uváděným excitačním mechanismům.

Uvedené excitační a ionizační mechanismy se uplatňují různou měrou v různých oblastech ICP výboje. Nejdůležitější oblasti pro analytická měření je (normální) analytická zóna *NAZ*. Analytická zóna je oblastí maximální intenzity emise iontových analytických čar a zóna počáteční radiace je oblastí významných nespektrálních interferencí, které se mohou uplatnit při neoptimálních podmínkách měření. Z výše uvedených ionizačních a excitačních reakcí se v *NAZ* významně uplatňuje pět mechanismů.

Jedenkrát nabití ionty se v *NAZ* excitují:

- i) přenosem náboje a zářivou deexcitací na nižší hladiny (reakce 21 až 24),
- ii) Penningovou reakcí v kombinaci se srážkovou excitací elektrony (reakce 27, 28, 16),
- iii) srážkovou ionizací a excitací elektrony (reakce 14-20).

Atomy se v *NAZ* excitují:

- iv) zářivou rekombinací (reakce 19),
- v) trojnou srážkou (reakce 20).

V počáteční zářivé zóně *IRZ* se excitují *především atomy s nízkými a středními prvními ionizačními energiemi*. Odpovídající atomové čáry zde vykazují maximální intenzitu emise. Stupeň ionizace v *IRZ* s rostoucí výškou nad cívkou roste a proto intenzita emise těchto atomových čar klesá. Při excitaci atomových čar se uplatňují mechanismy iv) a v). V *IRZ* je nižší stupeň ionizace než v *NAZ*, a proto je zde iontová emise nižší a je dána mechanismy i) a iii).

Některé *atomové čáry s vysokými excitačními energiemi* (P I 253,6 nm, S I 469,4 nm, C I 247,9 nm, H $\beta$  486,1 nm a některé čáry Ar) jsou emitovány z *indukční oblasti v blízkosti cívky*. Excitované stavy vznikají srážkami s elektrony o energii 5 až 10 eV. Z uvedeného přehledu je zřejmé, že v ICP není žádný z uvažovaných mechanismů převažující. Z analytického hlediska jsou však podstatné ty mechanismy, které se týkají analytických čar. Podle  $E_{sum}$  lze rozdělit analytické čáry do tří skupin.

První skupina ( $E_{sum} = 0-16$  eV) obsahuje všechny významné atomové čáry a dále iontové čáry (II), jejichž součet  $E_i + E_{exc} < 16$  eV. Ionty se excitují přenosem náboje ( $14 \text{ eV} < E_{sum} < 16$  eV) spojeným s generováním nižších excitovaných stavů zářivou deexcitací ( $E_{sum} < 14$  eV) nebo Penningovou reakcí ( $E_{sum} < 11,5$  resp. 11,7 eV) spojenou v některých případech s excitací elektrony. Atomy se excitují převážně přes základní stavy iontů rekombinačními reakcemi. Druhá skupina ( $E_{sum} = 16-30$  eV) zahrnuje iontové čáry jedenkrát nebo dvakrát nabitých iontů. Tyto ionty se budí srážkami s elektrony o  $E_{kin} > 16$  eV, odpovídající čáry jsou však málo citlivé, a proto nemají pro analýzu význam. Při vysokých koncentracích prvků jsou však tyto čáry příčinou četných spektrálních interferencí. Jako příklad lze uvést spektra prvků vzácných zemin. Ve třetí skupině ( $E_{sum} > 30$  eV) čáry nebyly pozorovány.

Toto schematické rozdělení umožňuje vysvětlit spektra různých skupin prvků. Alkalické kovy jsou snadno ionizovatelné, avšak energie excitujících částic není dostačující pro excitaci jejich iontů, a proto lze pro analýzu využívat pouze čáry atomové. Vzhledem k vysokému stupni ionizace jsou však meze detekce alkalických kovů horší než v plameni. Iontové stavy vyzařující čáry např. B II a As II jsou excitovány při  $E > 16$  eV, a proto jsou tyto čáry pozorovány jen při vysokých koncentracích. Také iontové čáry (II) C, Br, Cl, N a O

leží v oblasti nad 16 eV. Nejcitlivější atomové čáry těchto prvků mají vysoké excitační energie a leží ve vakuové oblasti UV (< 175 nm). Častější jsou případy, kdy se v ICP excitují atomy a jedenkrát nabitě ionty v oblasti pod 16 eV. Odpovídající atomové i iontové čáry jsou velmi citlivé, přičemž lepší meze detekce poskytují většinou čáry iontové. Iontové čáry prvků vzácných zemin poskytují meze detekce o 3 řády nižší než čáry atomové.

## 5 Prostorové rozdělení intenzity emise ve výboji ICP

Energie [J] vyzářená excitovanými atomy nebo ionty při přechodu z horní hladiny spektrálního přechodu  $p$  na dolní hladinu  $q$  za jednotku času [s], z jednotkového objemu [ $m^3$ ] a do jednotkového prostorového úhlu [sr] se nazývá *emisivita* a je vyjádřena vztahem

$$J_{pq} = \frac{h\nu_{pq}}{4\pi} A_{pq} n_{pq} = \frac{hc}{4\pi\lambda_{pq}} A_{pq} n_{pq} \quad (29)$$

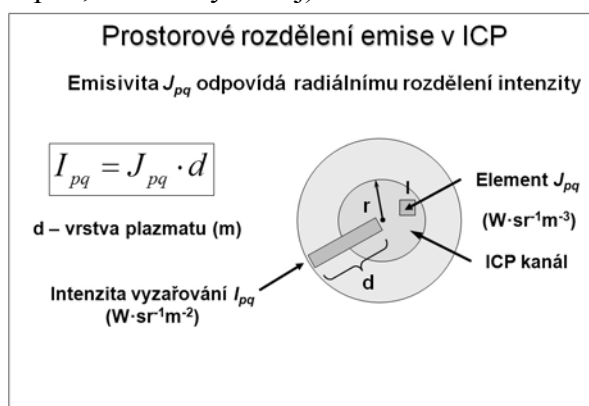
kde  $\nu_{pq}$ ,  $\lambda_{pq}$  jsou frekvence, resp. vlnová délka záření,  $4\pi$  je plný prostorový úhel,  $A_{pq}$  je *Einsteinův koeficient spontánní emise (přechodová pravděpodobnost spontánní emise  $p \rightarrow q$ )*, tj. počet přechodů za jednotku času (v jednotkách  $s^{-1}$ ), a  $n_p$  je koncentrace atomů nebo iontů na hladině  $p$ , [ $m^{-3}$ ]. Z hlediska popisu prostorového rozdělení intenzity emise ve výboji pak *emisivita* odpovídá tzv. *radiálnímu rozdělení intenzity emise* (rozdělení emisivity), viz dále.

Energie vyzářená za jednotku času do jednotkového prostorového úhlu vrstvou plazmatu tloušťky  $d$  je pak rovna

$$I_{pq} = J_{pq} d \quad [W \cdot sr^{-1} \cdot m^{-2}] \quad (30)$$

Z rozměru dále vyplývá, že se jedná o výkon vyzářený do jednotkového prostorového úhlu jednotkovou plochou povrchu plazmatu, tedy o *intenzitu vyzařování* (obr. 12). Tato veličina je pak ve vztahu k *laterálnímu a axiálnímu rozdělení intenzity emise*. Tato rozdělení budou dále definována a používána pro popis chování čar a pozadí ve výboji (obr. 13).

Výkon vyzářený určitým povrchem plazmatu měříme v čase (integrace) a jako *intenzitu signálu* pak označujeme odpovídající elektrickou veličinu (fotoelektrický proud, napětí, elektrický náboj).



Obr. 12. Prostorové rozdělení emise v ICP výboji, emisivita a intenzita vyzařování, radiální rozdělení emise



Obr. 13. Prostorové rozdělení emise v ICP výboji, laterální pozorování výboje, laterální a axiální rozdělení intenzity spektrální čáry a rekombinačního kontinua argonu



Výboj ICP je prostorově nehomogenní útvar, tj. koncentrace částic v daném energetickém stavu je v různých místech výboje různá. Toto prostorové rozdělení vychází z prostorového rozdělení hustoty energie a ze zavádění vzorku do výboje. Frekvence oscilátoru ovlivňuje rozdělení i hodnoty koncentrace elektronů a excitační teploty. Intenzita emise pro daný ICP generátor závisí na geometrii plazmové hlavice, příkonu do plazmatu, průtocích plynů a jejich chemickém složení, množství a složení vzorku transportovaného do výboje a na ionizačních a excitačních energiích částic a přechodů. Měřený analytický signál závisí na pozorované oblasti výboje. V zásadě jsou možné dva směry pozorování vzhledem k rotační ose symetrie ICP:

- a) kolmo k ose výboje, neboli *side-on view*,
- b) podél osy výboje, neboli *end-on view*.

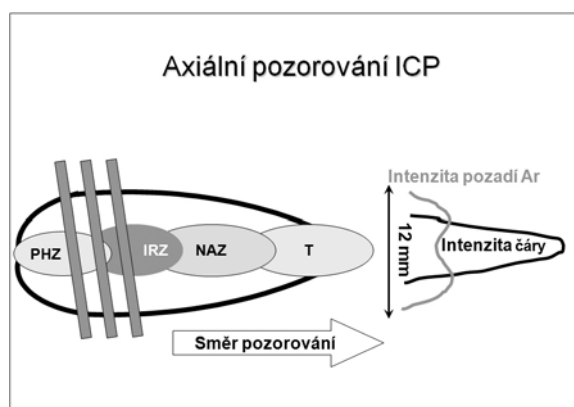
Měření a) se provádí v určité výšce nad indukční cívkou (obr. 11, 13). Tato výška pozorování,  $h_p$ , je jedním s optimalizačních parametrů. V poslední době se ujalo pro uspořádání *ad a)* komerční označení „*radial torch*“.

*Laterální rozdělení intenzity emise* je rozdělení emise napříč výbojem ve směru přímky kolmé na optickou osu a současně kolmé na rotační osu symetrie. Každý bod tohoto *laterálního rozdělení emise* představuje integrovanou emisivitu přes *hloubku výboje* (rozměr výboje podél optické osy), viz obr. 12, 13.

*Radiální rozdělení intenzity emise* je závislost *emisivity* podél přímky protínající osu symetrie a ležící v rovině kolmé na osu symetrie, obr. 12. Rozměry pozorovaného laterálního úseku výboje jsou závislé na způsobu zobrazení ICP do spektrálního přístroje, tj. na použité osvětlovací soustavě. Je žádoucí, aby do spektrometru vstupovalo záření především z kanálu výboje, kdežto záření z indukční oblasti tvořené prakticky pouze emisí pozadí (rekombinační kontinuum Ar, molekulová emise složek atmosféry z periferie výboje) by mělo být eliminováno. Na způsobu zobrazení ICP do spektrometru tedy závisí poměry signálu k pozadí (*S/B*).

Soubor laterálních intenzit pro různé výšky pozorování nad indukční cívkou vytváří *axiální rozdělení intenzity emise*, viz obr. 12, 13. Výška pozorování je obvykle definována jako vzdálenost středu pozorované oblasti výboje od horního okraje indukční cívky. Změnou výšky pozorování lze měřit emisi z *IRZ*, *NAZ* i z chvostu výboje, identifikovat tak tyto zóny při určitém nastavení příkonu a průtoků plynů a zajistit optimální podmínky měření analytického signálu. Výrobci spektrometrů dodávají aplikační programy s knihovnami obsahujícími optimální (tzv. standardní) podmínky a optimalizační programy, které na základě specifikování analytické úlohy tyto účelové optimální podmínky určí.

Počátkem devadesátých let 20. století se objevily na trhu komerční přístroje několika firem, využívající pozorování *ad b)*, tj. při ztotožnění optické osy s rotační osou symetrie výboje. Toto uspořádání, označované komerčně



Obr. 14. Prostorové rozdělení emise v ICP výboji, axiální pozorování výboje

jako „axial torch“, umožňuje eliminaci příspěvku záření pozadí z indukční oblasti odcloněním plazmového prstence (obr. 14). Odcloněním záření z rozhraní indukční oblasti a analytického kanálu se minimalizují také nespektrální interference vyvolané přítomností nadbytku solí alkalických kovů a případně některých dalších hlavních složek osnova vzorku. Tyto interference, spočívající ve zvýšení intenzity čáry analytu za přítomnosti interferentu, existují především v oblasti IRZ, která při měření *ad a)* není z principu snímána, na rozdíl od měření *ad b)*. Vzhledem k několikanásobně větší hloubce zdroje ve srovnání s pozorováním kolmo k ose výboje poskytuje "axial torch" vyšší hodnoty poměrů *S/B* a lepší meze detekce.

Při měření signálu kolmo k ose výboje bereme v úvahu 4 oblasti kanálu, viz obr. 13.

V *předehřívací zóně PHZ* dochází k desolvataci aerosolu, vypařování pevných částic a atomizaci většiny molekul a radikálů. V *počáteční zářivé zóně IRZ* a v *analytické zóně NAZ* probíhá ionizace a excitace atomů a iontů. V každé z obou naposledy jmenovaných oblastí převažují jiné excitační mechanismy, což vede k odlišným spektrálním přechodům. Obě oblasti se proto také odlišují v původu a velikosti *nespektrálních interferencí*. Znalost axiálního rozdělení intenzity atomových a iontových čar, molekulových pásů a spojitého rekombinačního záření je proto podstatná pro nalezení optimálních podmínek měření.

*Axiální rozdělení intenzity čáry* má maximum, jehož poloha nad cívkou je při daném prostorovém rozdělení koncentrace elektronů, atomů  $Ar^*$ ,  $Ar^m$  a iontů  $Ar^+$  určována ionizačními energiemi částice  $E_i$  a  $E_{i+1}$  a excitační energií spektrálního přechodu  $E_{exc}$ .  $E_i$  je 1. ionizační energie, která omezuje intenzitu atomové čáry při vzrůstu teploty nad určitou hodnotu-tzv. *normovou teplotu*, a současně v součtu  $E_i + E_{exc}$  udává nárok iontové čáry (II) na celkovou energii  $E_{sum}$  potřebnou k její excitaci.  $E_{i+1}$  je 2. ionizační energie, která omezuje intenzitu emise iontové čáry (II) jedenkrát nabitého iontu. U stabilních sloučenin, například monooxidů prvků vzácných zemin, rozhoduje i disociační energie molekuly. Po dosažení Boltzmannova vztahu (31)

$$n_{ap} = n_a \left( \frac{g_p^a}{Z_a} \right) \exp \left( - \frac{E_p^a}{kT} \right) \quad (31)$$

kde  $n_{ap}$  je koncentrace atomů na excitované hladině  $p$ ,  $n_a$  je celková koncentrace atomů,  $g_p^a$  je statistická váha stavu  $p$ ,  $E_p^a$  je excitační energie uvažovaná od základního stavu atomu  $E = 0$  a  $Z_a$  je partiční funkce atomů

$$Z_a = \sum_{j=1}^k g_j^a \exp \left( - \frac{E_j^a}{kT} \right) \quad (32)$$

neboli součet po  $j = 1 \dots k$  stavech (symboly mají analogický význam jako ve vztahu (31), do výrazu pro *intenzitu emise (intenzitu vyzařování)* (30), dostáváme pro *intenzitu atomové spektrální čáry*

$$I_{pq} = \left( \frac{hc}{4\pi\lambda_{pq}} \right) A_{pq} n_a \left( \frac{g_p^a}{Z_a} \right) \exp \left( - \frac{E_p^a}{kT} \right) \quad (33)$$

kde  $n_a$  je celková koncentrace neutrálních atomů. Tato je ovlivněna ionizační rovnováhou, která je popsána Sahovou rovnicí (8). S použitím vztahu pro *stupeň ionizace*

$$\alpha = \frac{n_i}{n_a + n_i} \quad (34)$$

Lze psát výraz pro intenzitu atomové čáry takto

$$I_{pq} = \left( \frac{hc}{4\pi\lambda_{pq}} \right) A_{pq} n_0 (1 - \alpha) \left( \frac{g_p^a}{Z_a} \right) \exp\left( -\frac{E_p^a}{kT} \right) \quad (35)$$

kde  $n_0 = n_a + n_i$  je celková koncentrace částic (atomů a iontů) daného prvku. Podle vztahu (35) tedy roste intenzita atomové čáry s teplotou v exponenciálním členu  $\exp\left(\frac{-E_p^a}{kT}\right)$ ,

současně však klesá koncentrace atomů, neboť s teplotou roste stupeň ionizace. Závislost  $I_{pq} = f(T)$  prochází pro danou čáru maximem při její *normové teplotě*.

Pro intenzitu *iontové čáry (II)* byla experimentálně ověřena platnost vztahu

$$I_{pq} = K \left( \frac{g_p^i A_{pq} n_i}{\lambda_{pq} Z_i} \right) \exp\left( -\frac{E_i + E_{exc}}{kT} \right) \quad (36)$$

kde  $K$  je konstanta,  $E_i$  je ionizační energie,  $E_{exc}$  je excitační energie horní hladiny přechodu měřená od základního stavu iontu  $E = 0$  eV, ostatní symboly s indexy  $i$  mají obdobný význam jako v případě atomové čáry.

Nejvýznamnější složkou pozadí argonového ICP je *spojité rekombinační záření argonu*. Intenzita rekombinačního kontinua je úměrná součinu koncentrací elektronů a iontů  $Ar^+$ , nezávisí na frekvenci tohoto záření pro frekvence nižší, než je určitá limitní hodnota  $\nu_L$

$$I_{\nu < \nu_L} = K \frac{n_e n_i}{\sqrt{kT_e}} \quad (37)$$

a exponenciálně klesá pro frekvence vyšší směrem ke kratším vlnovým délkám

$$I_{\nu > \nu_L} = K \frac{n_e n_i}{\sqrt{kT_e}} \exp\left( \frac{h(\nu_L - \nu)}{kT_e} \right) \quad (38)$$

Protože koncentraci  $n_i$  iontů  $Ar^+$  lze ztotožnit prakticky s koncentrací elektronů  $n_e$ , je intenzita rekombinačního kontinua  $Ar$  úměrná druhé mocnině koncentrace elektronů.

Je zřejmé, že optimální oblast výboje ICP pro měření analytického signálu závisí na charakteru emitujících částic analytu i osnovy vzorku (ionty, atomy, molekuly), na energiích procesů účastnících se tvorby analytického signálu a tvorby doprovodných rušivých signálů a dále na pracovních podmínkách výboje (příkon, průtoky plynů, geometrie). Vliv parametrů zdroje ICP na chování signálu bude popsáno v kapitole VI.

# Základy optiky spektrálních přístrojů

Vítězslav Otruba a Viktor Kanický

Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.

## Rozdělení optiky

Z hlediska sledovaných vlastností záření můžeme optiku rozdělit na fyziologickou, geometrickou, fyzikální (vlnovou) a kvantovou. Fyziologická optika se zabývá působením záření na lidský zrakový orgán (fotometrie, kolorimetrie). Geometrická optika se zabývá šířením světla bez ohledu na jeho podstatu a vyvinula se podstatně dříve než optika vlnová. Fyzikální optika se zabývá jevy, při nichž je nutné přihlížet k vlnovým vlastnostem záření (interference, ohyb a polarizace záření). Kvantové vlastnosti záření jsou nutné především pro popis záření černého tělesa a fotoelektrický jev.

## Geometrická optika

Základní předpoklady geometrické optiky:

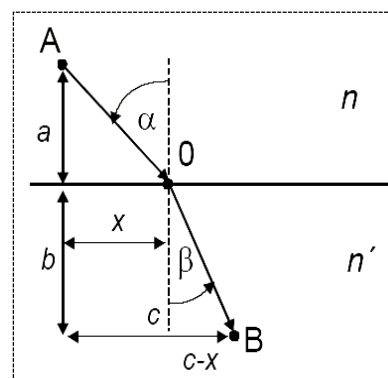
- V homogenním izotropním prostředí se světlo šíří přímočaře
- Světlo se šíří nezávisle na tom, zda prostorem prochází i jiné světlo (jedním bodem může procházet nekonečně mnoho paprsků, aniž by se ovlivňovaly)
- Na rozhraní dvou prostředí se světlo odráží pod týmž úhlem, pod kterým dopadá
- Při průchodu do jiného prostředí se světelné paprsky lámou podle Snellova zákona lomu ( $n = \sin\alpha / \sin\beta$ )
- Chod paprsků je záměnný a každý paprsek může svou cestu proběhnout i opačně.

Základní zákony geometrické optiky shrnuje Fermantův princip: *Světlo se v prostoru šíří z jednoho bodu do druhého po takové dráze, aby doba potřebná k proběhnutí této dráhy nabývala extrémní hodnotu.* Extrémem je ve většině případů minimum.

### Zákon lomu světla

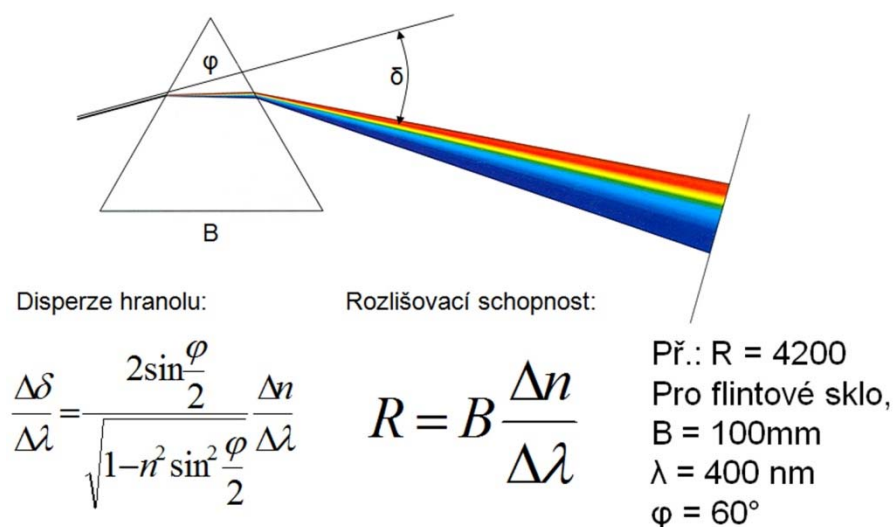
Dvě prostředí s různými indexy lomu  $n$  a  $n'$ , oddělená rozhraním (světlo se v prostředích šíří různou rychlostí  $v=c/n$  a  $v'=c/n'$ ). Z Fermantova principu je možné odvodit, že  $\sin\alpha/v = \sin\beta/v'$  a Snellův zákon  **$n \sin\alpha = n' \sin\beta$**

Vzhledem k tomu, že optické materiály mají různý index lomu pro různé vlnové délky, je možné této vlastnosti využít k rozkladu světla podle vlnových délek např. hranolem



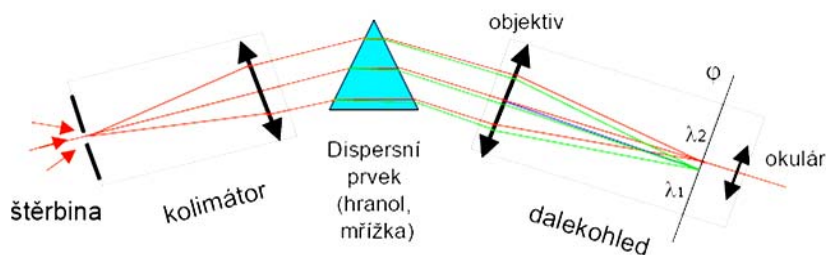
Obr. 1. Lom světla

v klasických spektrálních přístrojích. Rozlišovací schopnost hranolu  $R = \lambda/\Delta\lambda$  je z hlediska dnešních spektrometrů nízká. Použití mají hranoly ve spektrometrech s echelle mřížkou pro separaci řádů spektra.



Obr. 2. Rozklad světla hranolem

Na obr 3. je optické uspořádání klasického spektrografu, např. typu Q24 firmy Carl Zeiss, používající k detekci fotografickou desku. Hranol je křemenný, kolimátor s objektivem je konstruován z křemenných čoček

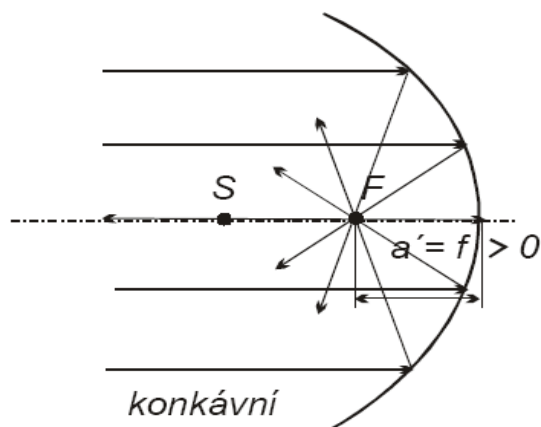


Obr. 3. Hranolový spektroskop

### Zobrazovací soustavy

Při realizaci optických zobrazovacích soustav se využívá jednak odrazu, jednak lomu záření. Vzhledem k velké závislosti indexu lomu optických materiálů na vlnové délce se v ICP spektrometrech používá především zrcadlová optika. Reflexní povrch zrcadel je obvykle hliníkový s povrchovou ochrannou vrstvou oxidu křemičitého nebo fluoridu hořečnatého. Odrazivost nových zrcadel se pohybuje v blízké UV a viditelné oblasti kolem 98%, s časem ale klesá až na 60% i v bezprašném prostředí uzavřené optické soustavy. Ve vzdálené a vakuové UV oblasti je situace podstatně horší, odrazivost může klesnout i pod 30% při současném nárůstu rozptýleného záření.

### Kulové zrcadlo (obr. 4)

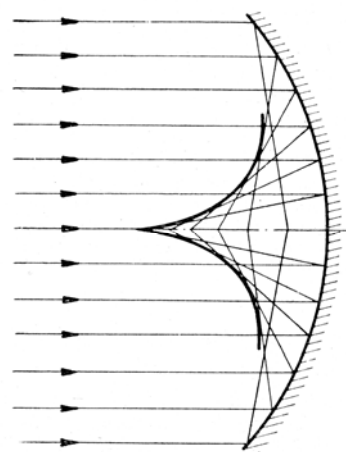


$$f = -\frac{R}{2}$$

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{a'} = \frac{1}{f}$$

Paprsky jdoucí rovnoběžně s optickou osou se budou po odraze od dutého zrcadla soustřeďovat do jednoho bodu F (ohnisko), ležící ve vzdálenosti poloviny poloměru křivosti dutého zrcadla. Pro zobrazení předmětů platí výše uvedená zobrazovací rovnice, kde  $a$  je předmětová vzdálenost,  $a'$  pak obrazová vzdálenost.

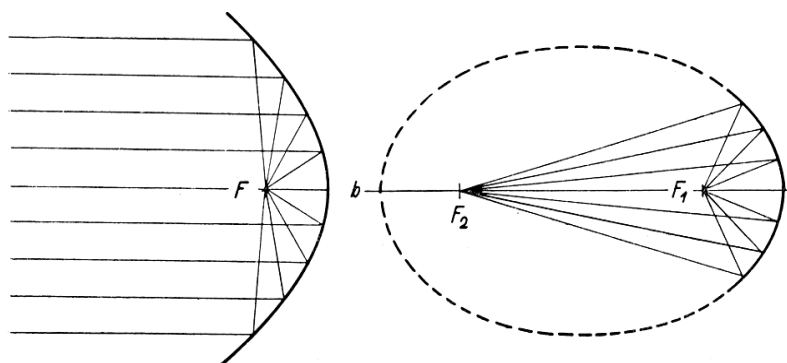
U kulových zrcadel (i u čoček s kulovými plochami) paprsky, procházející v blízkosti optické osy, jsou odraženy do ohniska, paprsky vzdálenější od osy jsou odraženy mimo ohnisko. Jejich obalová plocha se nazývá kaustika (otvorová, sférická vada zrcadla). Korekce sférické vady je možná použitím nekulových rotačních ploch nebo umístěním asférické korekční destičky (Schmidtova korekční destička) před kulové zrcadlo. Tato možnost se využívá minimálně, jednak kvůli barevným vadám korekční destičky, jednak kvůli vysoké ceně. Výroba nesférických ploch je podstatně náročnější než ploch kulových takže se často používá omezení šířky svazku paprsků i za cenu snížení světelnosti systému.



Koma: Při šikmém průchodu rovnoběžných paprsků se tyto nebudou sbíhat v ohnisku, ale vytvoří oválný obrazec, připomínající tvarem kometu.

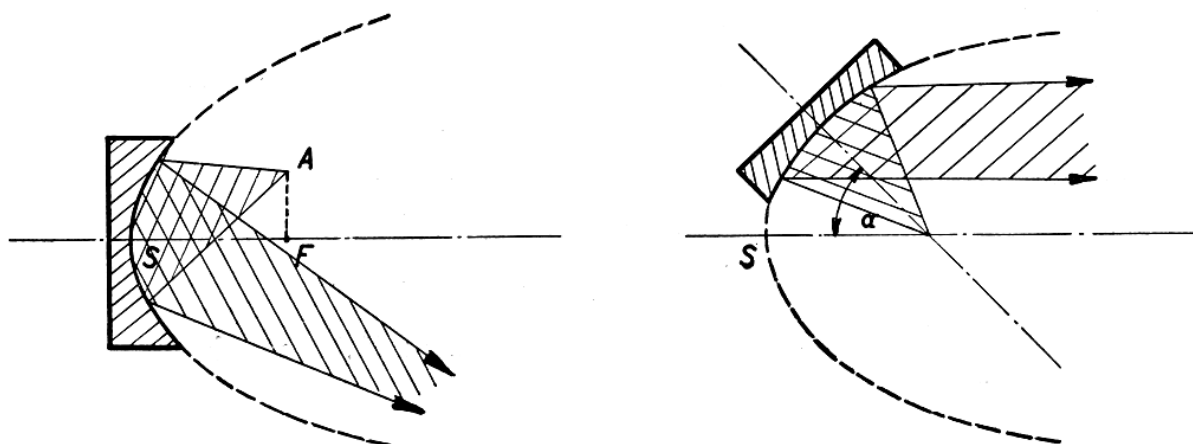
### Asférická zrcadla

umožňují zobrazení bodu v nekonečnu parabolickým zrcadlem do ohniska, u obrazů bližších pak zobrazení bodu v jednom ohnisku eliptické rotační plochy do druhého ohniska



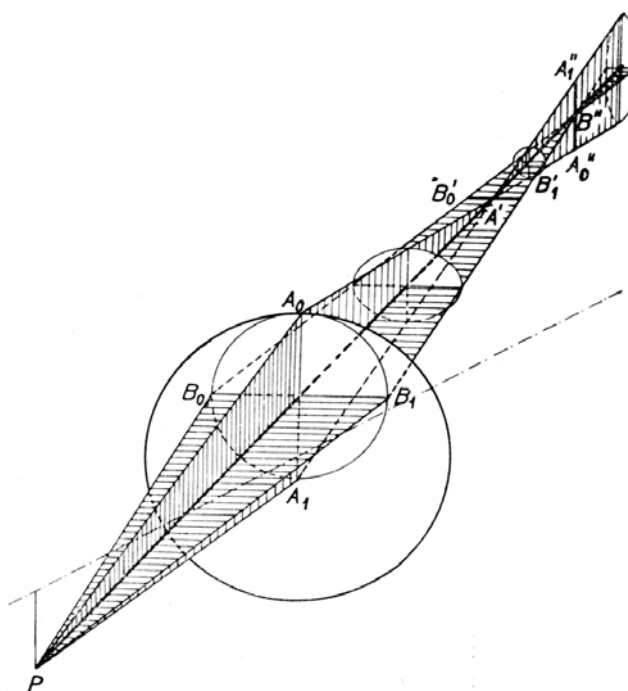
Obr. 6. Asférická zrcadla

Je-li světelný zdroj umístěn mimo optickou osu zrcadla, nejsou odražené paprsky rovnoběžné. V tomto případě je možné použít část zrcadla ležící mimo jeho vrchol (off axis, excentrické), jak je znázorněno na obr. 7.



Obr. 7. Excentrické (off axis) zrcadlo

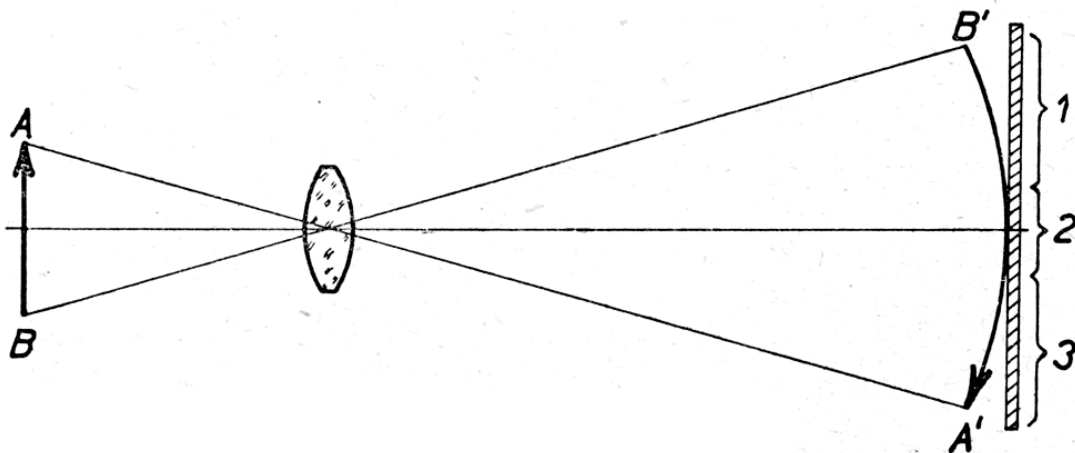
Astigmatismus: Zobrazují-li se body mimo optickou osu, objeví se ještě další vada – astigmatismus, která se projevuje i při zobrazování velmi úzkým svazkem paprsků. Prošlý svazek paprsků není homocentrický, tj. neprochází jedním bodem. Paprsky v meridiálním řezu ( $A_0A_1$ ) se protínají v bodě  $A'$ , paprsky v sagitálním řezu ( $B_0B_1$ ) se protínají v jiném bodě  $B''$ . Paprsky druhého řezu vytvářejí v těchto bodech obraz bodu P ve tvaru úsečky ( $B_0'B_1'$ ), příp. ( $A_0A_1$ ). Mezi oběma těmito body leží rovina optimálního zaostření ( $B_1'$ ). Vzdálenost obou bodů se nazývá astigmatická vzdálenost. Korekce astigmatismu je



Obr. 8.: Astigmatismus

možná při použití rotačně nesymetrických (toroidních) zrcadel, jejichž výroba je ale mimořádně náročná a drahá. Ve spektrálních přístrojích se používají převážně rotačně symetrická zrcadla (případně duté difrakční mřížky) a výstupní štěrbinu se umísťují do vzdálenosti, kde se vytváří astigmatický obraz rovnoběžný s výstupní štěrbinou. Toto řešení ovšem není možné při použití moderních plošných detektorů, takže v komerčních přístrojích se začínají používat i toroidní zrcadla.

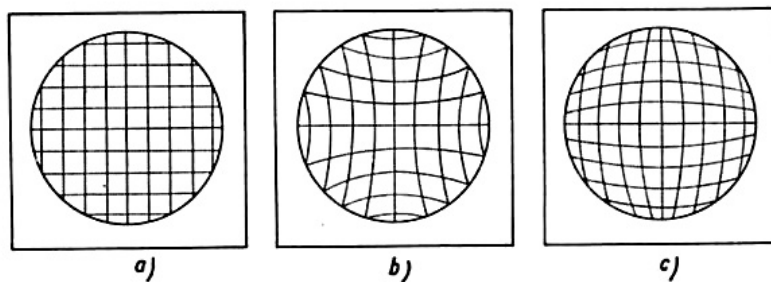
Zklenutí obrazu (pole) vzniká při zobrazování kulovou plochou. Body ležící v rovině kolmé na osu jsou zobrazovány na rotační křivé ploše a dochází ke zklenutí obrazu (obr. 9). Toto zkreslení ruší především při použití moderních plošných CCD a CID detektorů.



**Obr. 9. Zklenutí pole:** Předmět AB je zobrazen na zakřivené ploše A'B'.

Ostrý obraz je rozložen na rotační ploše a nelze jej zobrazit ostře na rovině. Při přeastření je možné dosáhnout ostrosti buď ve středu obrazu (2) nebo na okrajích (1,3)

Zkreslení (distorze) obrazu: I když budou splněny podmínky bodového zobrazení a odstraněno zklenutí obrazu, nemusí ještě tvar obrazu odpovídat tvaru předmětu, tj. přímka se nemusí zobrazit jako přímka. Při zobrazení čtverce (obr. 10a) jsou jeho přímkové strany zobrazeny jako dovnitř zakřivené čáry (obr. 10b, poduškové zkreslení) nebo vypuklé křivky (obr. 10c, soudkové zkreslení).

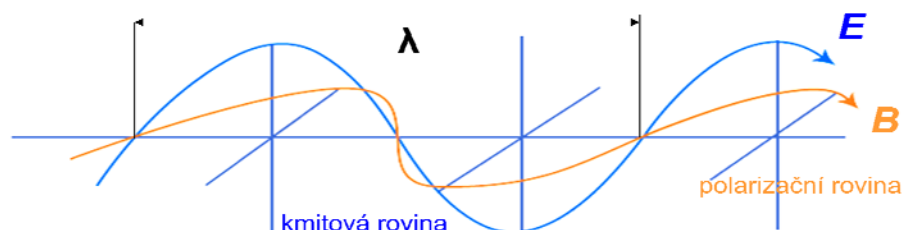


**Obr. 10. Poduškové a soudkové zkreslení**



## Fyzikální (vlnová) optika

Z vlnového hlediska je elektromagnetické záření příčné vlnění, při kterém se v jednom směru periodicky mění hodnota elektrického a ve směru na něm kolmém magnetického vektoru, které se šíří prostředím rychlostí  $v = (\epsilon\mu)^{-1/2}$ , pro neferomagnetická prostředí pak  $v = c_0\epsilon_r^{-1/2}$ , kde  $c_0$  je rychlost šíření záření ve vakuu.

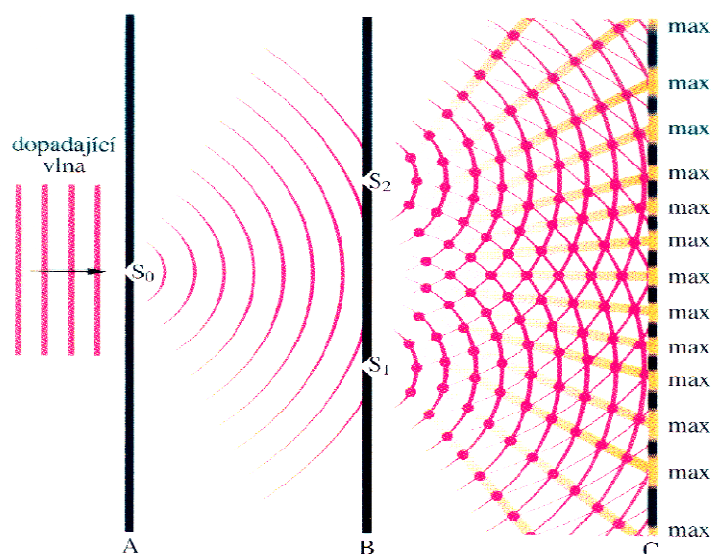


Obr. 11. Rovinná postupná vlna se sinusovým průběhem

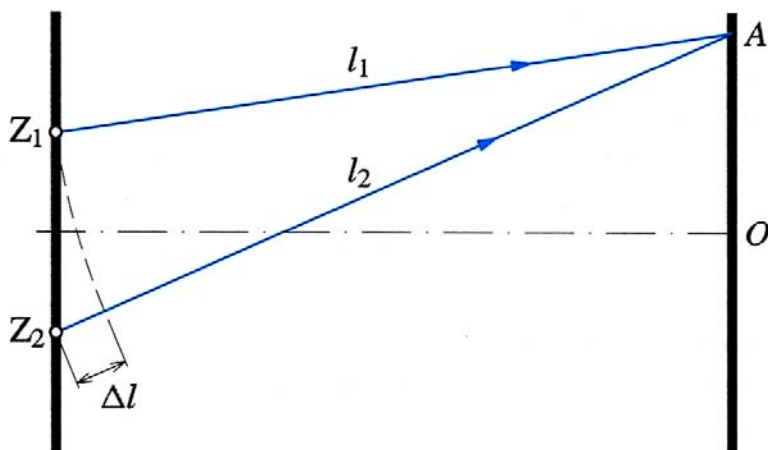
Z tohoto hlediska je možné kvalitu elektromagnetického záření charakterizovat vlnovou délkou ( $\lambda$ ) představující vzdálenost mezi dvěma sousedními body o stejné fázi. Základní vlastnosti:

- V homogenním izotropním prostředí bez elektrických nábojů platí lineární vztahy a platí princip superpozice - nevznikají nové kmitočty.
- Každé periodické vlnění je možné považovat za směs vlnění čistě sinusových (Fourierův rozvoj) a vyšetřovat každé zvlášť.

Vlnové vlastnosti světla (obecněji elmag. záření), ilustruje Youngův interferenční experiment: Podle Huygensova principu dochází k difrakci monochromatického záření na štěrbině  $S_0$ , která působí jako bodový zdroj světla o polokulových vlnoplochách. Po dopadu na stínítko B je světlo difraktováno na štěrbinách  $S_1$  a  $S_2$ . Světelné vlny postupující z těchto štěrbin se vzájemně překrývají a interferují. Na stínítku C vzniká interferenční obrazec maxim a minim.



Obr. 12. Youngův interferenční experiment



Obr. 13. Schéma Youngova experimentu

Při interferenci koherentního světelného vlnění o vlnové délce  $\lambda$  vzniká interferenční maximum v bodech, pro které je splněna podmínka:  $\Delta l = k\lambda$ ; pro  $k = 0, 1, 2$ . Interferenční minimum naopak nastává, když je splněna podmínka  $\Delta l = (2k-1)\lambda/2$ ;  $k = 1, 2$ . Veličina  $k$  udává řád interferenčního maxima (minima).

### Optická mřížka

Podobným způsobem lze sledovat ohyb také na větším počtu štěrbin. Velké množství pravidelně a hustě rozložených velmi tenkých štěrbin (vrypů) označujeme jako optickou (ohybovou nebo difrakční) mřížku. Vzdálenost  $d$  středů dvou sousedních štěrbin se nazývá mřížková konstanta.



Obr. 14. Optická mřížka

Pokud na mřížku dopadá rovnoběžný svazek světla, stanou se všechny body štěrbin zdroji elementárního vlnění. Budeme-li sledovat světlo, které z mřížky vystupuje pod úhlem  $\Theta$ , uvidíme pouze paprsky, které jsou od kolmice k mřížce odchýleny o úhel  $\Theta$ . Mezi paprsky ze dvou sousedních štěrbin je dráhový rozdíl  $\delta$ . Pokud je splněna podmínka  $\delta = d\sin\Theta = k\lambda$  pro  $k = 0, 1, 2, \dots$ , pak dochází k zesílení, přičemž  $k$  určuje řád maxima. Při velkém počtu štěrbin se ve všech směrech, které nevyhovují uvedené podmínce světlo téměř úplně vyruší. Interferenční jev tedy při ohybu na optické mřížce dává sérii

velmi úzkých tenkých maxim na tmavém pozadí.

Paprsky jdoucí ze štěrbin difrakční mřížky ke vzdálenému bodu P jsou přibližně rovnoběžné. Dráhový rozdíl mezi každými dvěma sousedními paprsky je  $d\sin\Theta$ , kde  $\Theta$  je úhel, vyznačený na obrázku. Pro maxima (čáry) platí:

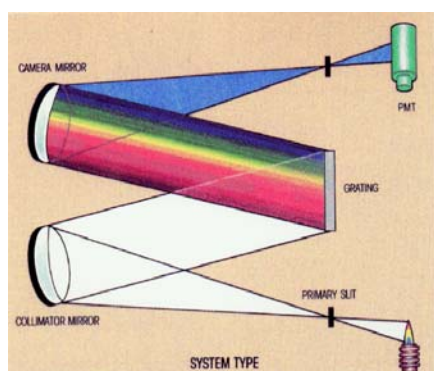
$$d\sin\Theta = m\lambda, \quad m=0,1,2,\dots \text{ (řád spektra)}$$

Rozlišovací schopnost mřížky  $R$  ( $\lambda/\Delta\lambda$ , kde  $\Delta\lambda$  je nejmenší rozlišitelný rozdíl vlnových délek na vlnové délce  $\lambda$ , viz níže) je pak dána šířkou interferenčních maxim a je přímo úměrná počtu interferujících paprsků (štěrbín, vrypů) mřížky a řádu maxima, tedy počtu interferujících sinusovek daném dráhovým rozdílem interferujících paprsků (1, 2, 3...100...1000...), takže

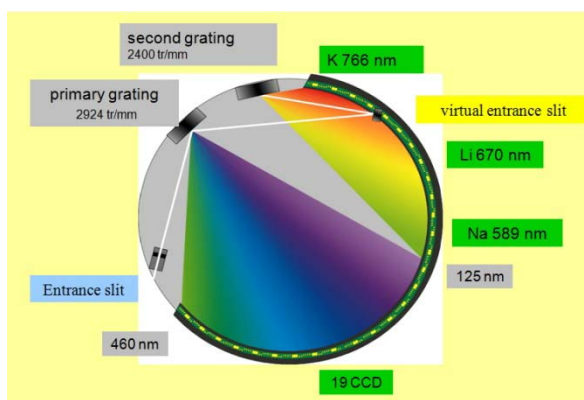
$$R = m \cdot N,$$

kde  $m$  je řád spektra a  $N$  celkový počet interferujících paprsků. Obvykle se spektrometry konstruují tak, aby celá plocha mřížky byla rovnoměrně ozářena, takže počet interferujících paprsků je roven počtu vrypů mřížky.

Vysokou rozlišovací schopnost mají tedy mřížky s vysokým počtem vrypů a nízkým řádem spektra ( $N \sim 100\,000 - 500\,000$ ,  $m = 1-5$ ), menším počtem vrypů a vysokým řádem spektra ( $N \sim 100 - 1000$ ,  $m \sim 50 - 500$ , typ echelle) či interferometry (Fabry-Perot  $m \sim 10^4 - 10^6$ ,  $N \sim 10 - 500$ , v tomto případě dáno odrazivostí zrcadel). V ICP spektrometrech se používají jednak mřížky pracující v nízkém řádu spektra, a to jak rovinné (především v montáži Czerny-Turner (obr. 15), tak duté v montáži Paschen Runge (obr. 16).

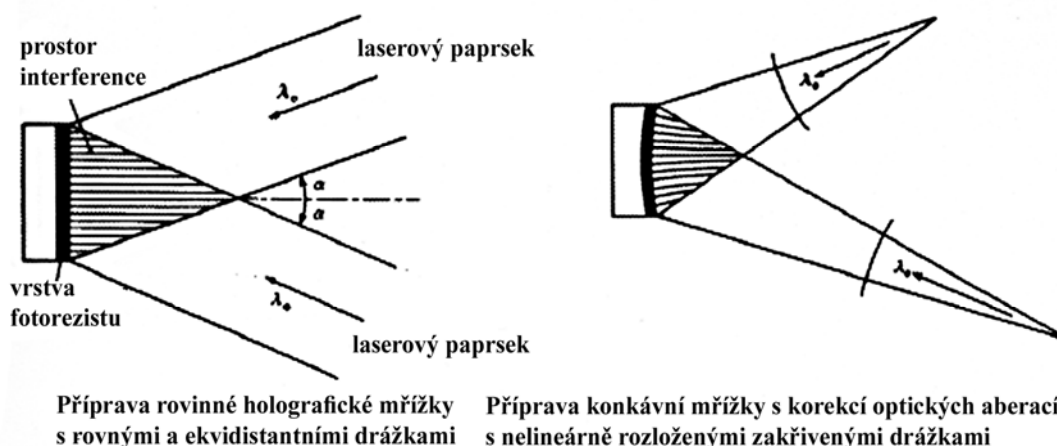


Obr. 15. Montáž Czerny-Turner



Obr. 16. Montáže Paschen-Runge

Mřížky pro ICP spektrometry se v současnosti zhotovují jako interferenční (holografické):

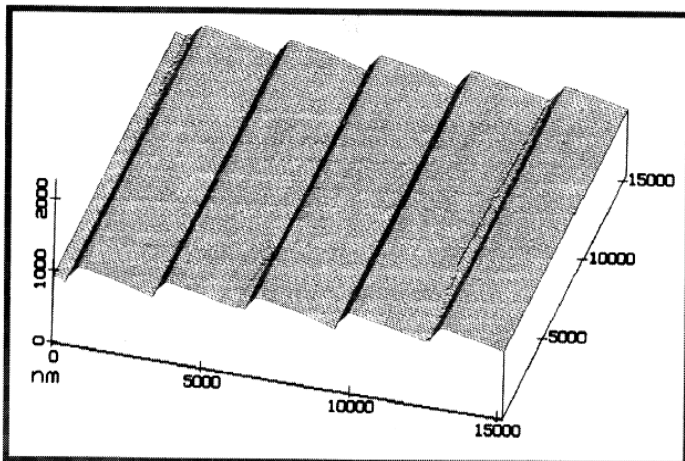


Příprava rovinné holografické mřížky s rovnými a ekvidistantními drážkami

Příprava konkávní mřížky s korekcí optických aberací s nelineárně rozloženými zakřivenými drážkami

Obr. 17: Výroba inteferenční mřížky

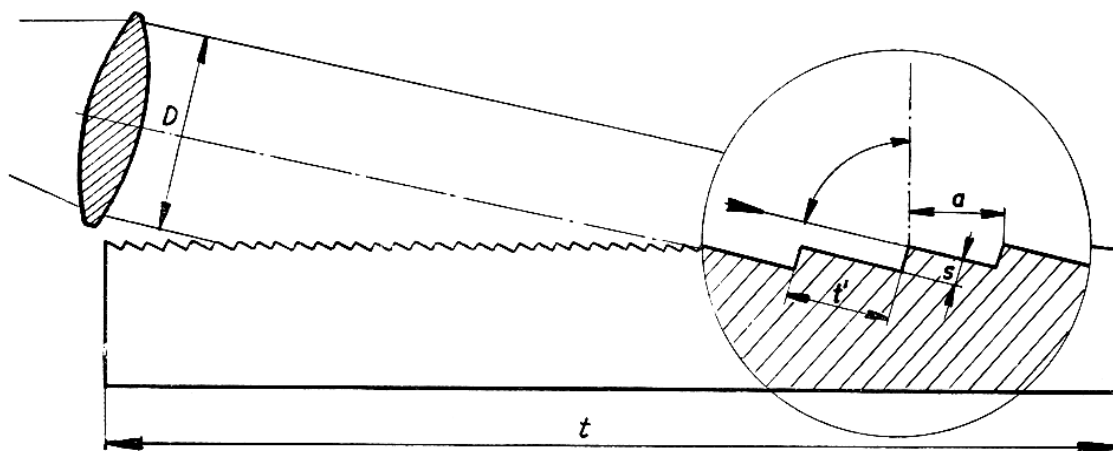
nejprve se exponuje fotorezist interferenčním obrazcem laserových paprsků a poté následuje povrchová úprava s tvarováním profilu vrypů iontovým leptáním:



Blaze profile of an holographic grating blazed by ion etching (STM microscope).

Obr. 18: Mřížka upravená iontovým leptáním

Vysoké rozlišovací schopnosti při poměrně kompaktní konstrukci je možné dosáhnout s mřížkou typu echelle. Tato mřížka tvoří přechod mezi Michelsonovou stupňovou mřížkou („echelon“) a mřížkou „echelette“, která soustřeďuje světlo do úhlu, ve kterém leží jen spektrum určitého řádu (obr.19).

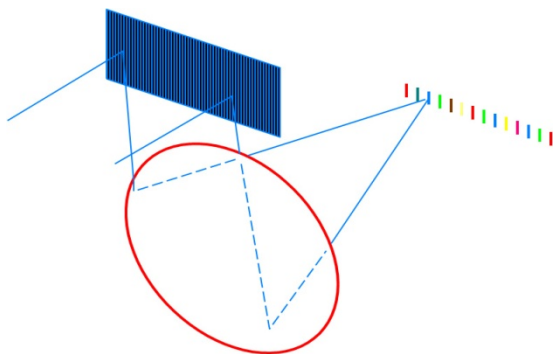


Obr. 19. Mřížka echelle

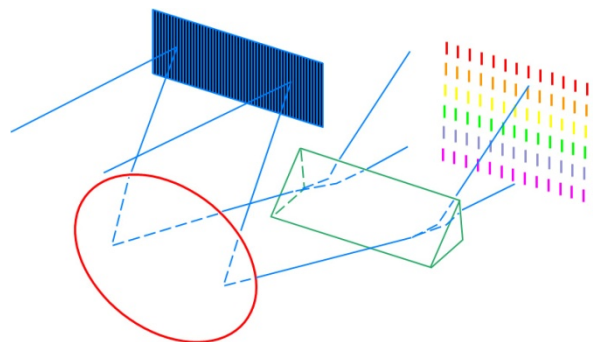
Rozlišovací schopnost je dána počtem vrypů (stupňů)  $N$  a řádem spektra, odpovídajícím počtu sinusovek záření na výšce stupně ( $t'$ ):

$$R = mN, \quad m = 2t'/\lambda$$

Např.: pro  $\lambda = 500 \text{ nm}$ ,  $N = 500$ ,  $t' = 0,05 \text{ mm} \rightarrow R = 100\,000$ , řád spektra  $m = 200$ . Jednotlivé řády spektra se ovšem překrývají (volný spektrální interval je pouze několik nanometrů), takže je nutná separace jednotlivých řádů spektra, obvykle v ploše za použití hranolu nebo další mřížky a disperzí kolmo k disperzi echelle mřížky.

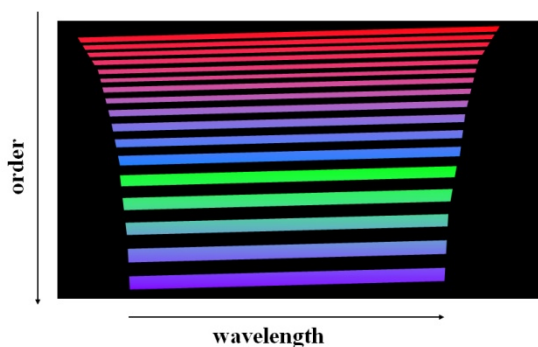


**Obr. 20: Překrývající se řády ve spektru mřížky echelle**

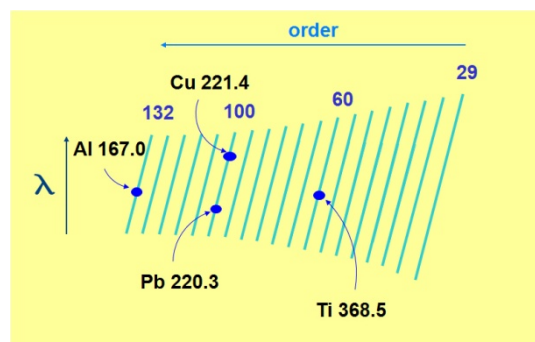


**Obr. 21 Zkřížená disperze a echelle mřížka**

Optický systém s uspořádáním Echelle používá většina světových výrobců. Použitím dvojitého rozkladu světelného signálu je zajištěno dvojrozměrné rozložení spektra, tedy dle vlnových délek a dle optických řádů současně. Vzniká tak dvourozměrné plošné spektrum, tzv. Echellogram, viz obr. 22,23. Osa X u echellogramu představuje rozklad dle vlnových délek a osa Y rozklad dle optických řádů.



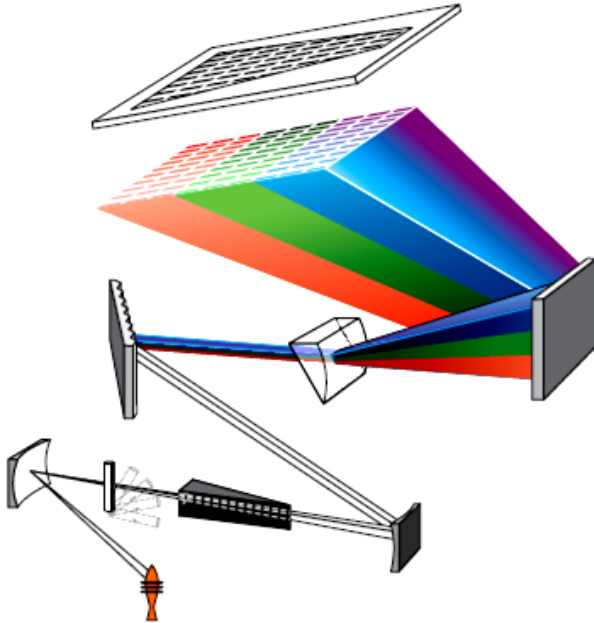
**Obr. 22 Echellogram**



**Obr. 23 Pozice emisních čar na echellogramu**

Nevýhodou optického uspořádání echelle je fakt, že rozlišení není konstantní v celém rozsahu měřených vlnových délek. Z tohoto důvodu jsou u ICP-OES spektrometrů s echelle optikou používány optimalizované mřížky, které zajišťují nejlepší možné rozlišení v širším okolí 200 nm, kde se vyskytuje většina v ICP-OES běžně používaných spektrálních čar. Při zvyšování vlnových délek nad 200 nm dochází k mírnému snížení rozlišovací schopnosti, která ale většinou nemá vliv na parametry stanovení. Další nevýhodou je vyšší hodnota rozptýleného záření, která může ovlivnit stanovení nízkých koncentrací na čarách s nízkou intenzitou v přítomnosti matričního prvku s vysokou intenzitou (př. Stanovení Cd, As ve vápenci).

Spektrometr s echelle optikou dosahuje vysoké rozlišovací schopnosti při malé stavební délce. K detekci je možné požívat řadu výstupních štěrbin s fotonásobičem nebo spektrum zobrazovat na CCD či CID plošný detektor. Vysokou disperzí se dosáhne nízkých detekčních limitů a snížení spektrálních interferencí při dobré světelnosti systému.



**Obr. 24** Spektrometr s echelle mřížkou, fokusujícím Féryho hranolem a ve fokální rovině umístěnou deskou výstupních štěrbin pro detekci fotonásobičem. Výběr štěrbin provádí SW počítače, sken čáry se realizuje krokovým posunem desky výstupních štěrbin.

## Spektrální přístroj

Základy optiky a podrobné informace o konstrukci spektrálních přístrojů lze nalézt například v monografii [1]. V této kapitole budou shrnuty vztahy a údaje užitečné pro praxi.

Spektrometr slouží k separaci záření podle vlnových délek a k měření emise spektrálních čar. Jako disperzní členy se používají mřížky na odraz. V současné době jsou komerčně vyráběny 3 typy spektrometrů:

- i) spektrometry s rovinnou mřížkou montáže Czerny-Turner nebo řidčeji Ebert-Fastie;
- ii) spektrometry s konkávní mřížkou, nejčastěji montáže Paschen-Runge;
- iii) spektrometry s mřížkou typu echelle a děličem spektrálních řádů (hranol).

Spektrometr s rovinnou mřížkou tvoří tyto součásti:

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

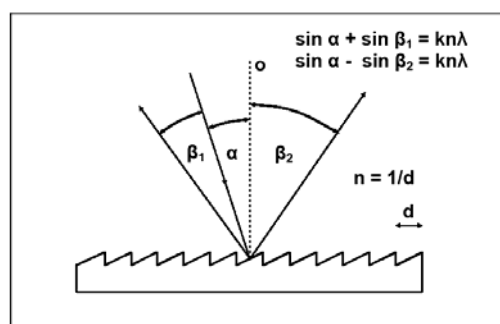
Osvětlovací soustava je tvořena čočkami a slouží k osvětlení vstupní štěrbinu žádanou součástí zdroje a k maximálnímu využití světelnosti spektrometru.

Mřížku si lze představit jako soubor štěrbin, na nichž dochází při dopadu monochromatického záření ke vzniku difrakčního obrazu. Tyto štěrbinu jsou reprezentovány u mřížek na odraz vrypů. Při dopadu monochromatického záření na mřížku pod úhlem  $\alpha$  se zesiluje interferencí záření odražené pod takovým úhlem  $\beta$ , kdy je dráhový rozdíl paprsků odražených ze sousedních vrypů roven celistvému násobku vlnové délky. Nahradíme-li vzdálenost vrypů  $d$  (mřížková konstanta) hustotou vrypů  $n$  [ $\text{mm}^{-1}$ ], má tzv. Braggova podmínka tvar

$$\sin \alpha \pm \sin \beta = k \cdot n \cdot \lambda \quad [1]$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka a  $k$  je řád spektra. Znaménko „plus“ se týká úhlů  $\alpha$ ,  $\beta$  na téže straně normály mřížky, znaménko „minus“ pak úhlů po obou stranách normály (obr. 25).

Základní charakteristikou mřížky je její rozlišení (angl. resolution), což je vzdálenost  $\Delta\lambda_0$  (nm) dvou čar ve spektru, které považujeme podle zvoleného kritéria za rozlišené. Podle tzv. Rayleighova kritéria lze považovat dvě čáry o stejné intenzitě (výšce) za rozlišené, když hlavní maximum jedné čáry leží při vlnové délce 1. difrakčního minima druhé čáry (obr. 26). Mezi oběma maximy čar je zářez, jehož hloubka činí 19% z výšky čáry v maximu. Kromě rozlišení se u mřížky udává



Obr. 25

charakteristika zvaná teoretická rozlišovací schopnost  $R$  (angl. theoretical resolution power). Ta je definována jako poměr vlnové délky  $\lambda$  ku rozlišení při této vlnové délce  $\Delta\lambda_0$  a lze odvodit, že závisí na celkovém počtu vrypů dle vztahu

$$R = \frac{\lambda}{\Delta\lambda_0} = k \cdot n \cdot W = k \cdot N \quad [2]$$

kde  $W$  je šířka mřížky a  $N$  je celkový počet vrypů. Výraz „vryp“ pochází historicky z původního způsobu výroby mřížek rytím. V současné době se mřížky zhotovují převážně interferometricky laserovým paprskem a termín „vryp“ (angl. groove) je nahrazován termínem „čára“ (line).

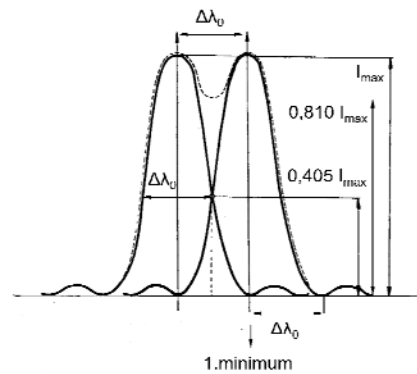
Ze vztahu (2) je zřejmé, že teoretická rozlišovací schopnost mřížky je pro danou mřížku a daný řád spektra konstantou. Mřížka s vysokou teoretickou rozlišovací schopností  $R$  má tedy nízké rozlišení  $\Delta\lambda_0$ . Například při šířce mřížky 140 mm a počtu vrypů  $2400 \text{ mm}^{-1}$  je teoretická rozlišovací schopnost 672000, což odpovídá při 230 nm ve 2. řádu rozlišení 0,3 pm.

Spektra různých řádů se překrývají. Nejedná-li se o mřížky typu echelle, energie (intenzita) s rostoucím řádem spektra klesá a prakticky se využívá zpravidla nejvýše 3.-4. řádu. Z Braggovy podmínky (1) vyplývá, že pod úhlem  $\beta$  bude odražen například paprsek s  $\lambda=600 \text{ nm}$  v prvním řádu spektra ( $k=1$ ) a současně  $\lambda=300 \text{ nm}$  ve druhém řádu spektra ( $k=2$ ),  $\lambda=200 \text{ nm}$  ve 3. řádu atd. Měříme-li v určitém řádu v dané spektrální oblasti, kde se současně promítá spektrum nižšího případně vyššího řádu, vzniká nebezpečí spektrálních interferencí. Případné rušení spektrem 1. řádu v odpovídající oblasti spektra 2. řádu, v níž měříme analytické čáry (a naopak), se odstraňuje vhodným filtrem, který absorbuje v příslušné dlouhovlnné (krátkovlnné) oblasti. Při měření v UV oblasti ve vyšších řádech lze eliminovat viditelné záření z nižších řádů použitím fotonásobiče citlivého jen na UV záření (tzv. solar blind). Energii difraktovaného záření lze soustředit do určité oblasti spektra s použitím mřížek s vrypy skloněnými pod určitým úhlem  $\theta$ , obr. 27. Dopadá-li na mřížku záření v tzv. Littrowově konfiguraci,  $\alpha=\beta=\theta$ , je maximální účinnost odrazu záření při odleskové vlnové délce  $\lambda_B$ ,  $\theta$  je odpovídající odleskový úhel:

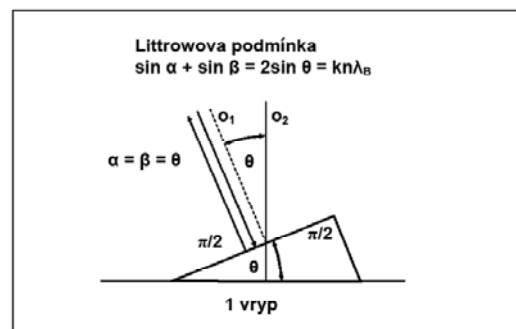
$$\sin \alpha + \sin \beta = k \cdot n \cdot \lambda_B \cdot 10^{-6} \quad [3]$$

$$2 \sin \theta = k \cdot n \cdot \lambda_B \cdot 10^{-6} \quad [4]$$

kde  $n$  je v  $\text{mm}^{-1}$ ,  $\lambda_B$  je v nm. Podle vztahu (62) má mřížka se 2400 čarami /mm a odleskovým úhlem  $27,5^\circ$  maximální zisk energie při  $\lambda_B = 385 \text{ nm}$  v 1. řádu spektra, resp. při  $\lambda_B = 192 \text{ nm}$  ve 2. řádu.



Obr. 26



Obr.27



Mezní vlnová délka, při které ještě dochází k difrakci je určena počtem čar na mm a odpovídá maximální hodnotě úhlů dopadu a difrakce  $90^\circ$ , potom  $\sin \alpha = \sin \beta = 1$ :

$$1 + 1 = \sin \alpha + \sin \beta = k \cdot n \cdot \lambda_{\max} \cdot 10^{-6} \quad [5]$$

$$\lambda_{\max} = 10^6 \frac{2}{k \cdot n} \quad [6]$$

S mřížkou  $2400 \text{ mm}^{-1}$  lze dosáhnout teoreticky spektrálního rozsahu do  $830 \text{ nm}$ , s mřížkou  $3600 \text{ mm}^{-1}$   $550 \text{ nm}$ , s mřížkou  $2400 \text{ mm}^{-1}$  ve 2. řádu nebo s mřížkou  $4800 \text{ mm}^{-1}$  v 1. řádu  $415 \text{ nm}$  a s mřížkou  $3600 \text{ mm}^{-1}$  ve 2. řádu  $275 \text{ nm}$ . Ve skutečnosti je úhel dopadu vždy menší než  $90^\circ$  a maximální dosažitelná vlnová délka je kratší než teoretická hodnota.

Mřížka je dále charakterizována úhlovou disperzí  $d\beta/d\lambda$ , což je úhel mezi dvěma paprsky, jejichž vlnová délka se liší o jeden nanometr. Úhlová disperze je vyjádřena v jednotkách [rad/nm].

$$\frac{d\beta}{d\lambda} = \frac{k \cdot n \cdot 10^{-6}}{\cos \beta} \quad [7]$$

Lineární disperze  $dx/d\lambda$  je délka spektra v ohniskové rovině připadající na jednotku vlnové délky a je vyjádřena v [mm/nm].

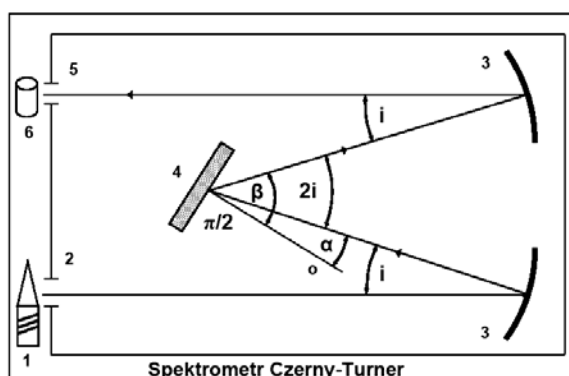
Častěji se používá reciproké lineární disperze  $d\lambda/dx$  v [nm/mm]

$$\frac{d\lambda}{dx} = \frac{10^6 \cos \beta}{k \cdot n \cdot f} = \frac{\lambda \cdot \cos \beta}{(\sin \alpha + \sin \beta) \cdot f} \quad [8]$$

kde  $f$  je ohnisková délka kamery spektrometru a  $\beta$  je difrakční úhel. Nejlepší, tedy nejnižší reciproké lineární disperze je dosaženo pro velké úhly  $\alpha$ ,  $\beta$  a velkou ohniskovou vzdálenost kamerového objektivu. Pro výpočet reciproké lineární disperze monochromátoru s rovinnou mřížkou vyjádříme nejdříve úhel  $\beta$ . Platí, že rozdíl  $\alpha - \beta = 2i$  je konstantní (obr. 28), pak

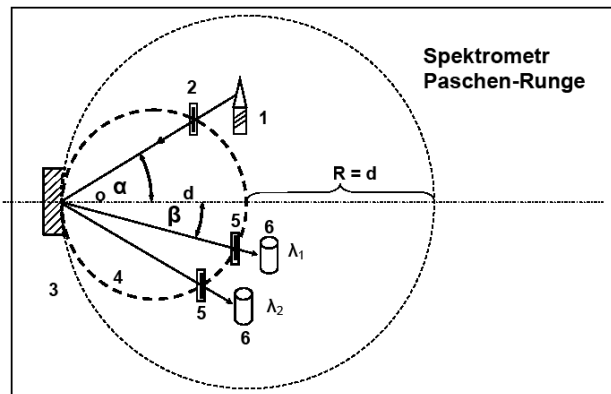
$$\beta = \arcsin\left(\frac{k \cdot n \cdot \lambda}{2 \cos i}\right) \pm i \quad [9]$$

kde  $i$  je úhel sevřený spojnicí středu zrcadla se štěrbinou a spojnicí středu zrcadla se středem mřížky. Znaménko je (+) pokud je mřížka orientována směrem ke vstupní štěrbině (což je případ na obr. 29), znaménko (-) platí, je-li mřížka otočena k výstupní štěrbině. Jako příklad lze uvést, jak se mění reciproká lineární disperze v závislosti na vlnové délce při použití monochromátoru Czerny-Turner s ohniskovou vzdáleností  $1 \text{ m}$ , mřížkou  $3600 \text{ mm}^{-1}$  v 1. řádu spektra: od  $170 \text{ nm}$  do  $300 \text{ nm}$  klesá z  $0,253$  na  $0,215 \text{ nm/mm}$ , při  $400 \text{ nm}$  je  $0,168 \text{ nm/mm}$  a při  $500 \text{ nm}$   $0,090 \text{ nm/mm}$ . Srovnáme-li používané moderní monochromátory, pak při použití mřížek  $1800 \text{ mm}^{-1}$  až  $4200 \text{ mm}^{-1}$ , ohniskových vzdálenostech  $0,4$  až  $1 \text{ m}$  a měření v 1. nebo 2. řádu spektra se pohybuje reciproká lineární disperze při vlnové délce  $230 \text{ nm}$  od  $0,1$  do  $0,7 \text{ nm/mm}$ . Vlnová délka  $230 \text{ nm}$  bývá uváděna jako referenční.



Obr. 28

U spektrometru s konkávní mřížkou a montáží Paschen-Runge (obr. 29) je úhel dopadu  $\alpha$  konstantní a difrakční úhel  $\beta$  lze tedy snadno vypočítat z Braggovy podmínky. Reciproká lineární disperze při 230 nm v 1. řádu spektra je u těchto spektrometrů obvykle v rozsahu 0,4 – 0,9 nm/mm v závislosti na  $n$  a  $f$ . Mřížka je nepohyblivá.

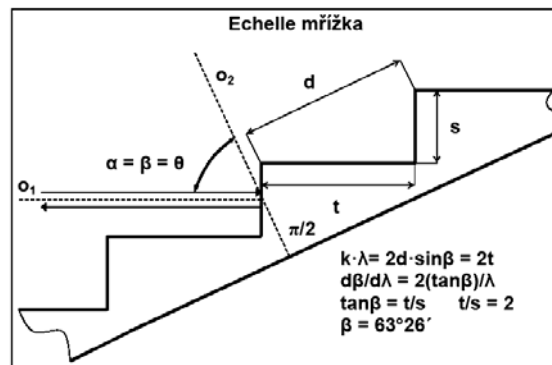


Mřížka echelle (obr. 30) Obr.29

se vyznačuje malou hustotou vrypů, obvykle 79–316 mm<sup>-1</sup>. Vrypy mají schodovitý tvar, přičemž kratší plocha vrypu svírá s rovinou mřížky úhel  $\theta$ . Obě plochy vrypu jsou na sebe kolmé. Poměr délky  $t$  a výšky  $s$  vrypu je obvykle roven dvěma, takže pro úhel  $\theta$  vyplývá

$$\tan \theta = \frac{t}{s} = 2 \Rightarrow \theta = 63^\circ 26' \quad [10]$$

Echelle mřížka je používána v Littrowově konfiguraci. Záření dopadá kolmo na kratší plochu vrypu pod úhlem  $\alpha = \theta$  vzhledem k normále mřížky a odleskový úhel  $\beta = \theta$ . V malém rozsahu difrakčních úhlů blízkých úhlu odleskovému se překrývá větší počet řádů spektra. Výhodou echelle mřížky je skutečnost, že odleskový efekt se



Obr.30

uplatňuje i ve vysokých řádech spektra (20. – 170. řád), kde je možno dosáhnout vysoké rozlišovací schopnosti. Braggova podmínka má pro mřížku echelle tvar

$$k \cdot \lambda = 2d \cdot \sin \beta = 2t \quad [11]$$

odtud úhlová disperze je rovna

$$\frac{d\beta}{d\lambda} = \frac{2 \tan \beta}{\lambda} \quad [12]$$

a s rostoucí vlnovou délkou klesá. Reciproká lineární disperze

$$\frac{d\lambda}{dx} = \frac{\lambda}{2f \cdot \tan \beta} \quad [13]$$

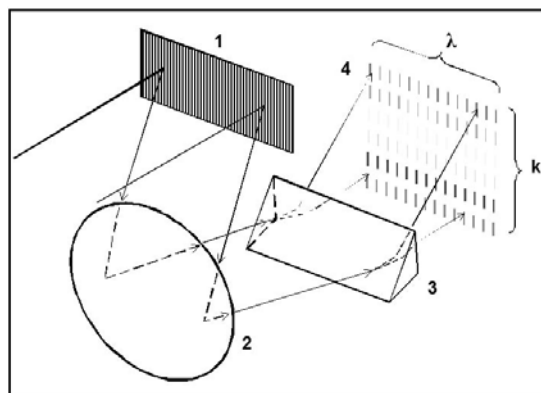
se s rostoucí vlnovou délkou zvětšuje (tedy zhoršuje) - na rozdíl od monochromátoru s rovinnou mřížkou. Teoretická rozlišovací schopnost echelle spektrometru s rostoucí vlnovou délkou klesá, jak vyplývá ze vztahu získaného dosazením za  $k \cdot n$  z Braggovy podmínky do vztahu pro teoretickou rozlišovací schopnost s využitím konkrétní hodnoty difrakčního (odleskového) úhlu

$$R = \frac{W(\sin \alpha + \sin \beta)}{\lambda} = \frac{2 \sin \beta \cdot W}{\lambda} = \frac{2 \sin(63^\circ 26')}{\lambda} = \frac{1.79W}{\lambda} \quad [14]$$

a rozlišení  $\Delta\lambda_0$  se zvyšuje s druhou mocninou vlnové délky

$$\Delta\lambda_0 = \frac{\lambda^2}{1.79W} \quad [15]$$

Typická hodnota teoretické rozlišovací schopnosti echelle mřížky je blízka 500 000. Mřížka echelle vyžaduje separaci překrývajících se spektrálních řádů. Ze tří existujících možností se v současné době nejčastěji uplatňuje tzv. zkřížená optika (obr 31). Difraktované záření vystupující z echelle mřížky je podrobeno disperzi hranolem ve směru kolmém na disperzi mřížky. V takto získaném dvourozměrném spektru nalezneme v jednom rozměru jediný řád



Obr. 31 1- echelle mřížka, 2- fokusační zrcadlo (objektív), 3 – hranol, 4 – fokální rovina

spektra s určitým volným spektrálním rozsahem (pouze několik nanometrů), ve směru na něj kolmém pak jednotlivé spektrální řády. U soudobých spektrometrů převažuje varianta s pevnou mřížkou a hranolem. U sekvenčních přístrojů se pohybuje výstupní štěrbina pomocí počítačem řízeného XY-souřadnicového translátoru a snímá postupně analytické čáry v různých řádech. U simultánních přístrojů je 2D-spektrum zobrazeno na plošný detektor.

Doposud bylo uvažováno pouze teoretické rozlišení mřížky bez ohledu na další části spektrometru. Nízké teoretické rozlišení (vysoká teoretická rozlišovací schopnost) v současnosti používaných mřížek však není rozhodující, protože praktické rozlišení spektrometru je limitováno jeho konstrukcí a vadami optických členů. Tzv. instrumentální šířku spektrální čáry  $\lambda_{INS}$  lze vyjádřit jako součet 3 příspěvků

$$\Delta\lambda_{INS} = \left[ (\Delta\lambda_0)^2 + (\Delta\lambda_{SBW})^2 + (\Delta\lambda_{AB})^2 \right]^{0,5} \quad [16]$$

kde  $\Delta\lambda_0$  je teoretické rozlišení mřížky,  $\Delta\lambda_{SBW}$  je šířka propouštěného spektrálního pásma a  $\Delta\lambda_{AB}$  je příspěvek optických aberací (vad) při použití kulových zrcadel.

Šířka propouštěného spektrálního intervalu (pásma), (angl. spectral bandwidth)  $\Delta\lambda_{SBW}$ , je dána součinem šířky štěrby a reciproké lineární disperze  $d\lambda/dx$ . Šířky vstupní a výstupní štěrby nebývají stejné a v případě některých spektrometrů jsou nastavitelné. Kromě toho i v případě, že obě štěrby jsou nastaveny na stejnou šířku, nejsou stejné jejich obrazy. Pro výpočet propouštěného spektrálního pásma  $\Delta\lambda_{SBW}$

$$\Delta\lambda_{SBW} = s_{res} \cdot \frac{d\lambda}{dx} \quad [17]$$

je proto rozhodující výsledná šířka štěrby  $s_{res}$ , která představuje větší z obou hodnot

$$s_{res} = \max[s_{en}; s_{ex}] \quad [18]$$

kde  $s_{en}$  je šířka vstupní štěrbině a  $s_{ex}$  je šířka výstupní štěrbině. Šířka obrazu vstupní štěrbině na štěrbině výstupní je dána součinem skutečné šířky vstupní štěrbině a faktoru zvětšení  $G$ , kde

$$G = \cos \alpha / \cos \beta \quad [19]$$

Je-li mřížka natočena směrem ke vstupní štěrbině, je  $\beta > \alpha$  a  $G > 1$ . Jsou-li obě štěrbině stejně široké, pak obraz vstupní štěrbině bude širší a výsledná šířka štěrbině  $s_{res}$  bude záviset na šířce vstupní štěrbině. Je-li naopak mřížka obrácena k výstupní štěrbině, pak  $\beta < \alpha$ ,  $G < 1$  a vstupní štěrbině se zobrazuje se zmenšením. Jsou-li přitom obě štěrbině stejně široké, bude výsledná štěrbině dána štěrbinou výstupní.

Teoretické rozlišení mřížky ve srovnání s propouštěným spektrálním intervalem obvykle představuje významně nižší hodnotu a při výpočtu instrumentální šířky čáry se prakticky neuplatní. Jako příklad lze uvést rovinnou mřížku  $2400 \text{ mm}^{-1}$  o šířce  $140 \text{ mm}$ , která ve druhém řádu poskytuje při vlnové délce  $230 \text{ nm}$  teoretické rozlišení  $\Delta\lambda_0 = 0,3 \text{ pm}$ . Při použití této mřížky v monochromátoru s ohniskovou vzdáleností  $1 \text{ m}$ , je hodnota reciproké lineární disperze při  $230 \text{ nm}$  rovna  $0,157 \text{ nm/mm}$  a při šířce výstupní štěrbině  $0,015 \text{ mm}$  poskytne monochromátor šířku propouštěného spektrálního pásma  $\Delta\lambda_{SBW} = 2,355 \text{ pm}$ . Instrumentální šířka čáry  $\lambda_{INS}$  vypočtená jako odmocnina ze součtu čtverců teoretického rozlišení a propouštěného spektrálního pásma je potom  $2,374 \text{ pm}$ , což je nevýznamný rozdíl proti  $\Delta\lambda_{SBW}$ . Obvyklé šířky  $\Delta\lambda_{SBW}$  jsou spíše větší, typicky  $5\text{-}10 \text{ pm}$ . Významný příspěvek k instrumentální šířce čáry představují optické vady (aberrace), které jsou způsobeny použitím kulových zrcadel místo parabolických (z ekonomických důvodů). Kulová vada konkávního zrcadla neboli sférická aberrace způsobuje, že svazek paprsků rovnoběžných s optickou osou zrcadla se po odrazu neprotíná v jednom bodě, ale na tzv. kaustické ploše. Při zobrazení bodu vzdáleného od optické osy vzniká složitý obrazec v prostoru – tato vada se nazývá koma a projevuje se asymetrickým profilem čáry. Astigmatismus vzniká při šikmém dopadu paprsků na duté zrcadlo, kdy se odražené paprsky protínají ve dvou úsečkách na sebe kolmých, zvaných fokály, které leží ve dvou rovinách. Zklenutí obrazu (soudkovité, polštářovité) vzniká tehdy, jsou-li vnější části předmětu zvětšeny více nebo méně než části vnitřní. Uvedenou vadu eliminuje použití eliptických a toroidních zrcadel.

## Literatura

1. Havelka B., Keprt E., Hansa M.: Spektrální analýza 1, Nakladatelství ČSAV, Praha 1957.
2. Klimeš B., Kracík J., Ženíšek A.: Základy fyziky II, Academia Praha 1972
3. Ševčík P.: Automatická spektrometrie I, 2THETA Český Těšín 2007.
4. Halliday D., Resnick R., Walker J.: Fyzika, Vutium, Brno 2000.
5. Otruba V., editor: 4. Kurz ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno 2008.
6. Firemní literatura BAS Rudice, Spectro CS Ostrava, Jobin-Yvon Francie, Wikipedia.

# Fotodetektory

Vítězslav Otruba

Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.

## 1. Typy fotodetektorů

Fotodetektory převádí *optické záření* na *elektrický signál*. Fotodetektory využívají jednak *přímé fotoelektrické jevy*, při kterých jsou dopadajícím (absorbovaným) zářením generovány nosiče nábojů, a *termojevy*, při kterých ohřevem absorbovaným zářením vznikají *nepřímé elektrické jevy*.

Detektory založené na tepelných účincích záření absorbovaného v detektoru se používají především v infračervené oblasti spektra (bolometry, pyroelektrické detektory, Golayova cela), ve viditelné a UV oblasti spektra mají proti jiným detektorům malou citlivost a velkou časovou setrvačnost. Při vhodné konstrukci ale umožňují absolutní měření zářivého toku ve spektrálním intervalu 10 nm – 1000 μm. Detektivita (viz níže) se pohybuje kolem  $10^8 \text{ cm Hz}^{1/2} \text{ W}^{-1}$ , při chlazení detektoru na 0,1 – 4 K a při použití supravodičů pak kolem  $10^{13} \text{ cm Hz}^{1/2} \text{ W}^{-1}$ . Jsou nepostradatelné např. pro měření optické vodivosti spektrálních přístrojů v kombinaci s kalibrovanými zdroji záření (např. absolutně černé těleso, synchrotronové záření...).

Z přímých fotoelektrických jevů se využívá *vnější fotoelektrický jev*, při kterém záření, dopadající na fotokatodu, vyvolá emisi elektronů (obvykle do vakua). Při *vnitřním fotoelektrickém jevu* se působením dopadajícího záření zvyšuje hustota náboje v polovodičích a tím zvyšuje i jeho vodivost. Závislosti vodivosti polovodiče na dopadajícím zářivém toku se využívá ve *fotorezistorech*. Závislost vodivosti na ozáření fotorezistoru je ale nelineární a má obvykle i značnou časovou setrvačnost, navíc závislou na velikosti ozáření. Ve spektrometrech pro spektrální oblast UV a VIS se prakticky nevyužívají. Při vnitřním fotoefektu v oblasti přechodu PN v polovodiči vzniká pohyb zářením vzniklých nosičů náboje a tím vzniká *fotoproud*, využívaný ve *fotodiodách* (*fotovoltaický jev*, přesněji řečeno *bariérový fotovoltaický jev* na rozdíl např. od *objemového fotovoltaického jevu*, vznikajícího v homogenním polovodiči).

Vlastní vodivost může vzniknout v polovodiči tehdy, jestliže dopadající foton záření dodá elektronu ve valenčním pásu energii dostatečnou k překonání zakázaného pásma  $E_g$ :

$$h\nu = \frac{hc}{\lambda} \geq \Delta E_g \rightarrow \frac{hc}{\Delta E_g} = \frac{1,242}{\Delta E_g} \quad [\mu\text{m}, \text{eV}] \quad \{1\}$$

Podobně platí i pro dlouhovlnnou mez emise elektronů z fotokatody do vakua:

$$h\nu = \frac{hc}{\lambda} \geq \Phi_v \quad \{2\}$$

kde  $\Phi_v$  je výstupní práce elektronu z fotokatody do vakua.

## 2. Základní parametry a charakteristika fotodetektorů

*Citlivost* fotodetektoru je definována jako poměr výstupní měřené veličiny (většinou proud, ev. napětí) k veličině záření dopadajícího na detektor. Podle fotometrických veličin se rozlišuje citlivost na zářivý tok  $S_{\Phi_e}$  (integrální citlivost), citlivost na světelný tok  $S_{\Phi_v}$ , citlivost na ozáření  $S_{E_e}$  a citlivost na osvětlení  $S_{E_v}$  (index e = energetické veličiny, v = vizuální veličiny odvozené z energetických veličin korekcí na spektrální závislost citlivosti lidského oka). V dalším budeme uvažovat pouze případ lineární vztah mezi vstupní a výstupní veličinou, v opačném případě by bylo nutné zavést pojem diferenciální citlivosti.

*Integrální citlivost* je možné definovat vztahem:

$$S_{\Phi_e} = \frac{I_{\Phi}}{\Phi_e} \quad [A \cdot W^{-1}] \quad \{3\}$$

Kde  $I_{\Phi}$  je fotoproud a  $\Phi_e$  dopadající zářivý tok. Tento parametr bývá v technických podmínkách uveden pro určitou teplotu okolí, zdroj záření a případnou frekvenci modulace záření a pásmo zesilovače.

*Spektrální (monochromatická) citlivost* je definována vztahem:

$$S_{\lambda I} = \frac{\Delta I}{\Delta \Phi_{\lambda}} \quad \{4\}$$

pro proudovou citlivost detektoru.

*Kvantová účinnost* detektoru pro danou vlnovou délku  $\lambda$  je definována jako poměr počtu emitovaných nosičů náboje (např. elektronů) na počet fotonů, které dopadly na fotodetektor:

$$\eta_{\lambda} = \frac{N_e}{N_{hv}} \quad \{5\}$$

Kde  $N_e$  je počet uvolněných nosičů náboje a  $N_{hv}$  počet fotonů.

Ustálený výstupní signál detektoru  $X(t)$  se skládá ze dvou složek – deterministické  $X$  a stochastické  $x(t)$ , proměnné v čase:  $X(t) = X + x(t)$ . Stochastická složka se obecně nazývá *šum* fotodetektoru. Signál se obvykle měří jako průměrná hodnota dané veličiny (např. proudu) za časový interval:

$$\bar{I}_S = T^{-1} \int_0^T I_S(t) dt \quad \{6\}$$

a jeho směrodatná odchylka je

$$\bar{I}_R = \sqrt{T^{-1} \int_0^T [I_S(t) - \bar{I}_S]^2 dt} \quad \{7\}$$

a poměr signál/šum je poměr  $\bar{I}_S/\bar{I}_R$ . *Šumový proud* je tedy střední kvadratická hodnota fluktuace proudu, který protéká detektorem v určitém kmitočtovém pásmu a obdobně *šumové napětí* je střední kvadratická hodnota fluktuací napětí na dané zátěži v určeném kmitočtovém pásmu. Šumové proudy (napětí) vznikají v detektoru z vnitřních a vnějších příčin, jako jsou teplota, proud fotodetektoru, kvantový charakter záření, spršky kosmického záření, radioaktivita materiálu detektoru apod. Šumy jsou náhodné procesy a je možné popsat jejich vztahy zákony matematické statistiky. Základní zdroje šumu jsou:

Výstřelový šum  $I_v$  vzniká časovou fluktuací elektronů a je možné ho ve frekvenčním pásmu  $\Delta f$  popsat Schottkyho vztahem:

$$I_v = \sqrt{2eI_\Phi \Delta f} \quad [A; A; C; Hz] \quad \{8\}$$

Kde  $e$  je náboj elektronu a  $I_\Phi$  proud fotodetektoru.

Tepelný šum je způsoben chaotickým tepelným pohybem nosičů náboje a je frekvenčně nezávislý (tzv. bílý nebo Johnsonův šum):

$$I_{tep} = \sqrt{\frac{4kT\Delta f}{R}} \quad [A; K; Hz; \Omega] \quad \{9\}$$

Kde  $k$  je Boltzmannova konstanta,  $T$  absolutní teplota,  $R$  pracovní odpor (ev. vnitřní odpor detektoru, diferenciální odpor fotodiody),

U jednotlivých typů detektorů (fotonásobičů, fotodiód) existují další specifické zdroje šumu, které budou popsány níže. Při určování celkového šumu se předpokládá, že šum je nekorelovatelný a proto platí  $I_{celk}^2 = I_v^2 + I_{tep}^2 + \dots$

Ekvivalentní šumový výkon (NEP = noise equivalent power) je určen jako úroveň záření pro šířku pásma  $\Delta f = 1$  Hz:

$$NEP = \frac{I_s}{\sqrt{\Delta f} S_{\Phi x}} \frac{1}{\sqrt{\Delta f}} \left[ W \cdot Hz^{-\frac{1}{2}}; A; Hz; A \cdot W^{-1} \right] \quad \{10\}$$

Specifický NEP = NEP\* zohledňuje velikost aktivní plochy fotodetektoru  $A$ :

$$NEP^* = \frac{NEP}{\sqrt{A}} \quad \{11\}$$

Detektivita  $D$  je převrácená hodnota ekvivalentního šumového výkonu  $D = 1/NEP$

Specifická detektivita  $D^*$  charakterizuje kvalitu fotocitlivé vrstvy detektoru. V tomto parametru se normuje poměr detektivky k druhé odmocnině aktivní plochy fotodetektoru  $A_\Phi$ :

$$D^* = \frac{1}{NEP^*} = \frac{sig/nois}{\Phi_E \sqrt{A_\Phi}} = \frac{S_\Phi \sqrt{\Delta f A_\Phi}}{I_s}$$

Časové konstanty fotodetektorů jsou doby náběžné  $\tau_v$  sestupné  $\tau_\sigma$  hrany periodických impulzů a představují intervaly po začátku a konci působení záření na fotodetektor za které poklesne proud (napětí) fotosignálu ze své maximální hodnoty o  $(1-1/e) = 0,63$  ( $e =$  základ přirozených logaritmů).

Maximální frekvence fotodetektoru  $f_{max}$  určuje frekvenci sinusově modulovaného zářivého toku, při které citlivost klesne na 0,707 ( $\sqrt{2}$ ,  $-3dB$ ) hodnoty při nemodulovaném signálu.

Spektrální charakteristika určuje závislost citlivosti fotodetektoru na vlnové délce detekovaného záření.

Absolutní spektrální charakteristika citlivosti  $S_{abs}(\lambda)$  charakterizuje závislost monochromatické citlivosti fotodetektoru  $S_\lambda$ , měřené v absolutních jednotkách, na vlnové délce dopadajícího záření. Její měření je v praxi komplikované a její hodnoty se značně liší i u detektorů z jedné výrobní série.

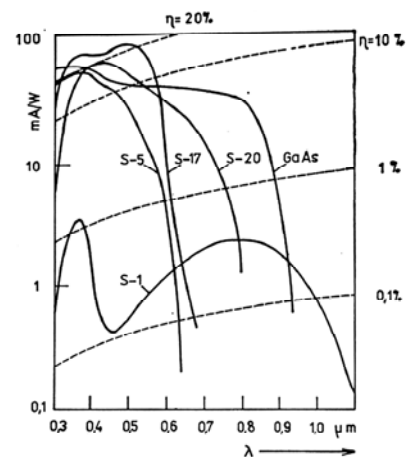
Relativní spektrální charakteristika  $S(\lambda)$  se vztahuje na maximální hodnotu citlivosti a pro daný typ detektoru se prakticky nemění kus od kusu.

### 3. Vnější fotoelektrický jev

#### 3.1. Fotokatody

Fotokatody jsou fotoelektrické emitory speciálně upravené pro využití jako měniče optických informací na elektrické. Fotokatoda má obvykle tvar tenké vrstvy připravené vakuovým napařováním. Fotokatoda může být ozařována dvěma způsoby. Při přímém ozařování dopadá budící záření ze strany vakuu na ten povrch katody, který emituje elektrony. Při zpětném ozařování je katoda ozařována ze strany její podložky, která ovšem musí měřené záření propouštět. Optické materiály podložek a vstupních okének fotodetektorů jsou z borosilikátového skla (rozsah 2000 – 300 nm), UV skla (do 185 nm), křemen (do 160 nm), safír (do 150 nm) a  $MgF_2$  (do 115 nm). Při zpětném ozařování má optimální tloušťka fotokatody jistou kritickou hodnotu. Je-li tloušťka katody větší než výstupní hloubka elektronů (10 – 100 nm) nemohou být všechny fotoelektrony, excitované hlouběji, emitovány. Naopak, je-li tloušťka vrstvy malá, prochází značná část záření bez absorpce a výsledná citlivost je menší. Přímé ozařování fotokatody se používá především u fotobuněk a části fotonásobičů (především u typů s bočním okénkem), zpětné ozařování fotokatody u fotonásobičů s čelním okénkem a intenzifikovaných CCD detektorů.

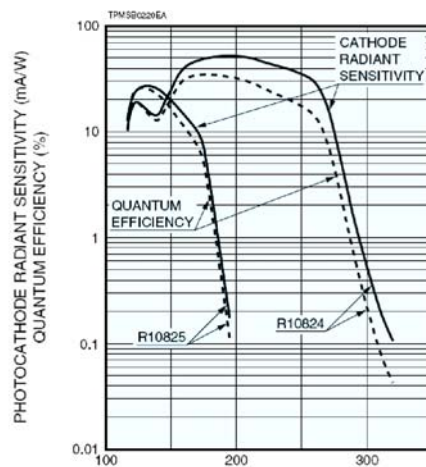
Nejrozšířenější fotokatody jsou multialkalické fotokatody typu Sb-Na-K-Cs (S20), monoalkalické antimonidy typu Cs-Sb (S5, S17), bialkalické antimonidy Sb-Na-K (S24) a pro dlouhovlnnou oblast Ag-O-Cs (S1) nebo i štípané krystaly polovodičů s modifikovanou povrchovou vrstvou (GaAs-Cs-O, GaAs-Cs-Rb, InP-Cs-O). Příklady spektrálních průběhů citlivosti a kvantové účinnosti některých fotokatod pro VIS a UV oblast spektra jsou na obr. 1.



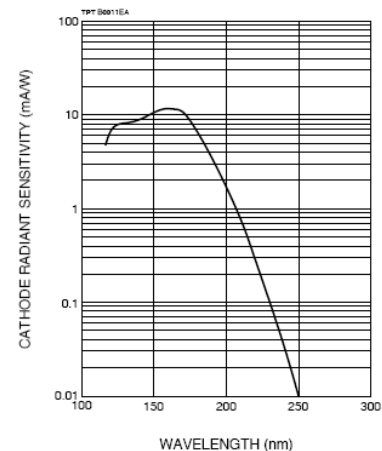
Obr. 1: Spektrální závislost citlivosti klasických fotokatod

Specifické jsou fotokatody typu „solar blind“ citlivé pouze v UV oblasti spektra.

Příkladem mohou být fotokatody Cs-Te (115-320 nm) a Cs-I (115-195 nm) u fotonásobiče s přímo ozařovanou fotokatodou s bočním okénkem  $MgF_2$ . Výborné vlastnosti, zvláště malý temný proud mají i fotokatody diamantové (obr. 3)



Obr. 2: Spektrální závislost citlivosti „Solar blind“ fotonásobiče (Hamamatsu)

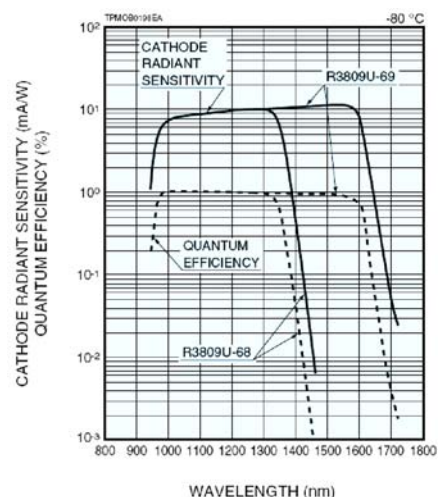


Obr. 3: Spektrální závislost citlivosti diamantové fotokatody (Hamamatsu)



V blízké infračervené oblasti jsou to např. fotokatody InP/InGaAsP (950-1400 nm) a InP/InGaAs (950-1700 nm) v mikrokanálových fotonásobičích (MCP-PMT, obr. 4).

Důležitým parametrem fotokatody je proud za tmy (temný proud), udávaný obvykle v  $A/cm^2$  aktivní plochy fotodetektoru. Temný proud, resp. jeho šum, limituje detektivitu fotonky či fotonásobiče. Základní složkou temného proudu je termoemise elektronů z katody, zejména u fotokatod citlivých ve viditelné a blízké infračervené oblasti spektra. Pro snížení termoemise je vhodné fotokatody chladit Peltierovými články nebo kapalným dusíkem na teploty  $-20^{\circ}C$  až  $-180^{\circ}C$ , detektory s nízkou výstupní prací elektronů je nutné chladit vždy (viz obr. 4). Nárůst temného proudu s teplotou je výrazný, např. multialkalická fotokatoda typ S20 má tepelnou emisi při  $-20^{\circ}C$  kolem  $50 e^-/s.cm^2$  (elektronů na  $cm^2$  za vteřinu), při  $20^{\circ}C$  cca  $1000 e^-/s.cm^2$  a při  $50^{\circ}C$  již kolem  $100\,000 e^-/s.cm^2$ . Ke snížení temného proudu se používá také zmenšení aktivní plochy fotokatody na nezbytně nutnou velikost např. u zpětně ozařovaných fotokatod magnetickými samolepkami, které zakříví dráhu emitovaných elektronů tak, že nedopadnou na anodu (resp. na dynodu nebo kanálový násobič). Dalšími zdroji temného proudu jsou radioaktivní záření materiálu fotodetektoru, které vyráží elektrony z katody nebo dynod a navíc je detekováno Čerenkovovo záření, vznikající v materiálu okénka (především v UV oblasti spektra). Podobný účinek má i kosmické záření, takže v bílém šumu temného proudu se objevují píky, odpovídající obvykle kosmickému záření prošlého detektorem.



Obr. 4. Spektrální závislost MCP-PMT Hamamatsu

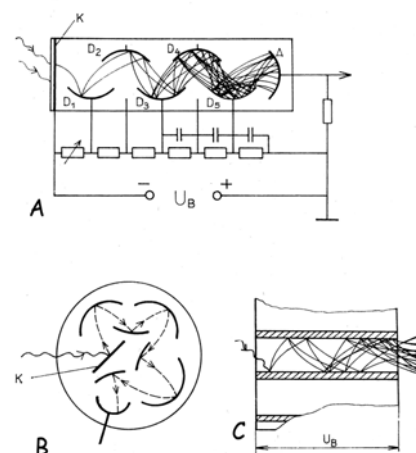
### 3.2. Fotonky (Phototubes)

Fotonky jsou vakuové fotodiody, používané pro detekci středních až vysokých zářivých toků ve spektrální oblasti 110 – 900 nm. Výhodou je nízké napájecí napětí (kolem 20V) a nízký temný proud (řádově pA). Speciální fotonky mají mezní frekvence kolem 100 GHz, umožňující měření např. při aplikaci krátkých laserových impulsů.

### 3.3. Fotonásobiče

Fotokatody s emisí elektronů do vakua se používají především ve spojení s násobiči elektronů, i když teoreticky je vlastnost fotodetektoru dána fotokatodou, tedy ve fotonásobičích (A, B), a kanálových a mikrokanálových násobičích (C), používaných v intenzifikovaných plošných detektorech (ICCD).

Fotonásobiče je možné považovat za speciální vakuovou fotonku, kombinovanou se zesilovacím prvkem založeném na principu zesílení toku elektronů sekundární emisí. Předností této elektronky proti fotonce, připojené na



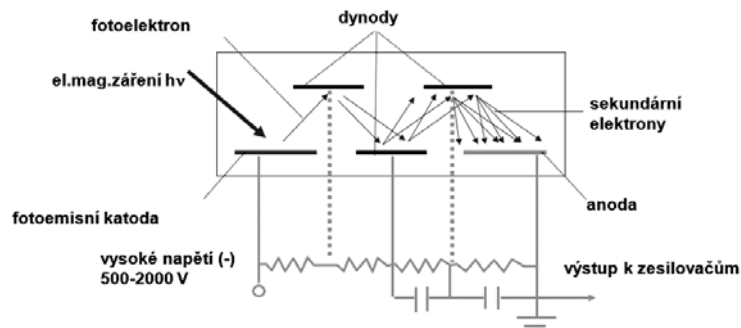
Obr. 5. Násobiče fotoelektronů

vstup zesilovače, je lepší odstup signálu od šumu při kmitočtovém rozsahu až do 1 GHz.

### 3.3.1. Násobiče s diskretními dynodami

Fotoelektrický násobič (obr. 6) pracuje tímto způsobem: Fotoelektrony uvolněné dopadem záření z fotokatody jsou urychleny elektrickým polem mezi fotokatodou a následující elektrodou (dynodou)

s povrchem emitujícím sekundární elektrony. Nárazem urychlených fotoelektronů jsou emitovány sekundární elektrony, které jsou opět urychleny elektrickým polem a dopadají na druhou dynodu, kde se proces opakuje. Elektrony jsou tedy násobeny a výsledný proud



Obr. 6.: Schéma fotonásobiče

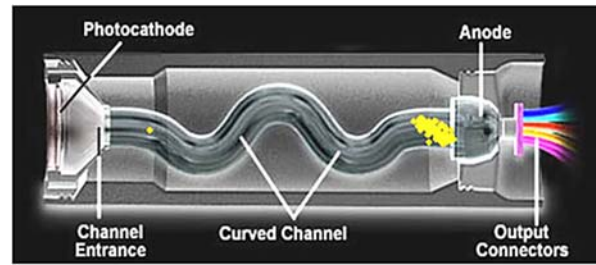
elektronů se odebírá z anody. Dynody jsou vhodně tvarované elektrody z plechů nebo sítěk, na kterých jsou nanесeny vrstvy s dostatečnou sekundární emisí elektronů (CsSb, BeCu, GaP, GaAsCs.). Ve fotonásobiči jich bývá 8 – 14. Průměrná hodnota koeficientu sekundární emise  $\delta$  bývá 3-4 a řídí se urychlovacím napětím na dynodách. Celkové zesílení  $G$  fotonásobiče je pak  $G=(\delta)^n$ , kde  $n$  je počet dynod. Zesílení fotonásobiče závisí exponenciálně na urychlovacím napětí (př.: 14 dynod,  $U = 800 \text{ V} - G=10^3$ ;  $U = 2200 \text{ V} - G=10^8$ ) a proto je požadována vysoká stabilita napájecího zdroje s minimálním šumem.

Elektronové násobiče se dělí na nefokusované (žaluziové, síťkové) a fokusované (obr. 5 A, B) podle toho, jestli je použito elektrické nebo magnetické pole k fokusaci proudu elektronů na další dynodu. Nefokusované fotonásobiče jsou obvykle rychlejší a méně citlivé na vnější magnetické a elektrické pole, která ovlivňují dráhu a rychlost elektronů. Snížení zesílení o 50% může způsobit již magnetické pole  $10^{-4} \text{ T}$  (permanентní feritový magnet má na povrchu kolem 1T). Odstínění magnetických polí je značně obtížné. Proti běžným slabým magnetickým polím se stíní fotonásobiče kryty z materiálů s vysokou permeabilitou, např. z permalloy nebo mu-metalu, které jsou ve spektrometrech vždy používány. Je vhodné upozornit, že tyto speciální slitiny většinou ztrácejí své výhodné magnetické vlastnosti dodatečným mechanickým zpracováním, např. pilováním či ohýbáním. Tyto stínící kryty nejsou ale dostatečné pro odstranění vlivu silnějších magnetických polí, zvláště indukovaných ze silnoproudých vedení a elektromagnetů, obsahujících často navíc značné šumové složky. Externí elektrická pole jsou vcelku dokonale odstíněna kovovým krytem fotonásobiče.

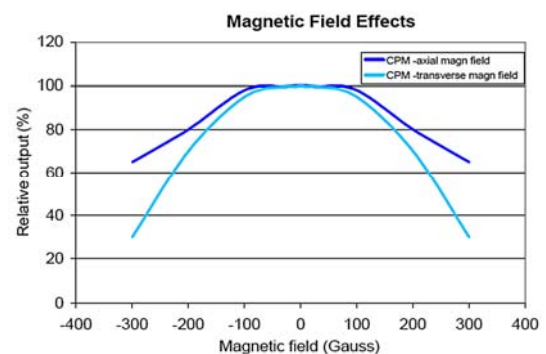
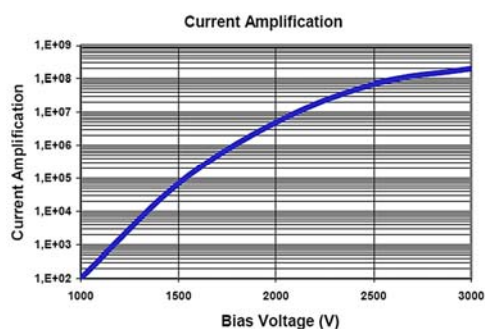
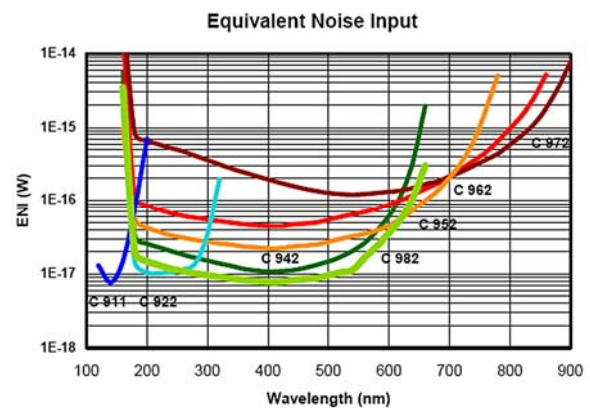
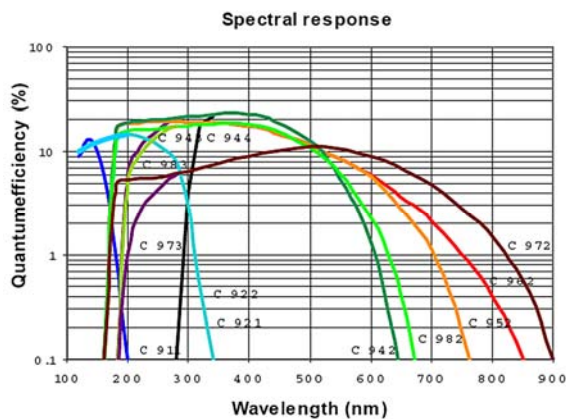
Helium velmi snadno difunduje z atmosféry do vakua detektoru sklem, zvláště křemenným, a zhoršuje činnost fotonásobiče. Jsou známy případy, kdy tlak helia v detektoru dosáhl tlaku přes 0,1 Pa a vyřadil jej z činnosti.

### 3.3.2 Kanálové fotonásobiče

Kanálové fotonásobiče, anglicky Channel Photo Multiplier, reprezentují nový design tradičně používaného fotonásobiče, anglicky označovaného Photo Multiplier Tube. Kanálové fotonásobiče jsou unikátní robustní detektory se semitransparentní fotokatodou napařenou na vnitřní straně vstupního sklička fotonásobiče. Fotony dopadající na fotokatodu emitují elektrony, které vlivem potenciálu dále putují do zakřiveného kanálu, jehož vnitřní polovodivý povrch funguje jako „kontinuální dynoda“. Podél kanálu je potenciální spád 1000 – 3000 V se záporným pólem na fotokatodě. Pokaždé když elektron narazí na vnitřní stěnu zakřiveného kanálu, dojde k jeho znásobení (viz obr 7.). Míra násobení je přímo úměrná potenciálu, tedy napětí, které na kanálový fotonásobič přivádíme. Kanál je navržen tak, aby při průchodu elektronu došlo k maximálnímu možnému počtu kolizí se stěnou kanálu. Tento nový revoluční design přináší řadu technologických a analytických výhod. Konstrukce CPM umožňuje detekovat každý dopadající foton, a CPM tak mají zcela výjimečnou citlivost při zachování enormně širokého dynamického rozsahu, linearity a se zesílením v řádu až  $10^9$  při až 3x nižším temném proudu než PMT. Výhodou CPM je také menší vliv magnetických polí na citlivost než u fokusovaných klasických fotonásobičů. Níže jsou uvedeny některých 1/3'' kanálových násobičů Perkin-Elmer.



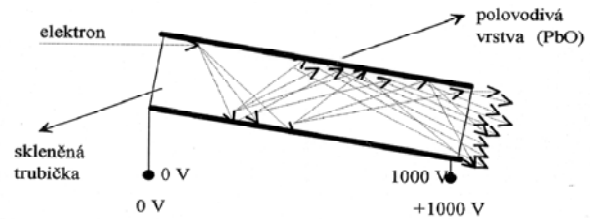
Obr. 7. Kanálový fotonásobič



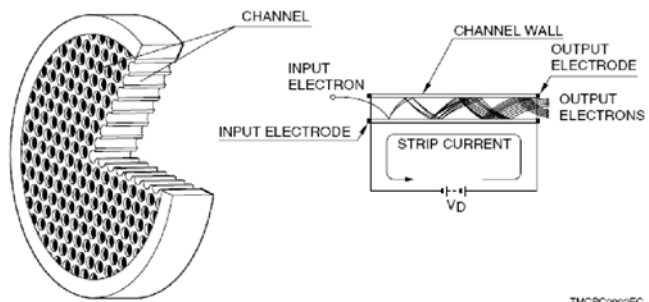
### 3.3.3. Mikrokanálové násobiče

Do kapitoly fotonásobiče je možné zařadit i mikrokanálové násobiče elektronů, i když v praxi se většinou používají v kombinaci s obrazovým detektorem CCD (nábojově vázané obvody, Charge-Coupled Device) označované jako intenzifikované CCD snímače (ICCD). Základem je mikrokanálový násobič elektronů (podobný je používán v hmotnostní spektrometrii k detekci iontů). Je to obvykle skleněná trubička o vnitřním průměru několika setin až tisícin milimetru a délce kolem desetin a jednotek milimetru. Používá se polovodivé sklo a vnitřní povrch trubičky je pokryt vrstvou s vysokou sekundární emisí elektronů (obr. 8). Na trubičku je připojeno vysoké napětí řádu kV, při čemž vstupní otvor je na nulovém potenciálu a výstupní otvor má vysoký kladný potenciál. Podél polovodivé vrstvy (či polovodivé skleněné trubičky) je potenciální spád kolem 1000 V který urychluje elektrony. Ty dopadají na vrstvu uvnitř trubičky a vyrážejí sekundární elektrony a vnitřní povrch trubičky působí jako dynoda s plynule proměnným potenciálem, podobně jako u kanálových fotonásobičů. Při dostatečně velkém poměru délka/průměr trubičky (obvykle 1:1000) je výstupní svazek elektronů, na rozdíl od schématu na obr. 8, úzký s malou divergencí. Kanálový násobič (microchannel plate, intensifier, obr. 9) se pak skládá z velkého množství trubiček, průměr aktivní zóny se pohybuje v rozmezí 1 – 50 mm, tloušťka intensifieru je dána délkou trubiček, obvykle 0,2 – 1 mm.

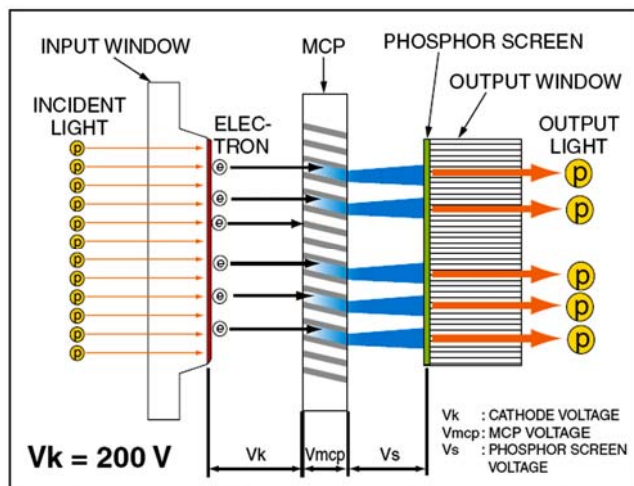
Zesilovač obrazu pak pracuje následovně: Fotoelektrony emitované fotokatodou (její vlastnosti určují spektrální charakteristiku, šum a temný proud celého zařízení) jsou homogenním polem mezi fotokatodou a kanálovým násobičem (MCP) urychlovány potenciálním spádem stovek voltů (obvykle 200 V), který je klíčován, takže je možné přesně určit počátek a dobu měření s časovým rozlišením jednotek nanosekund (obr. 11). Fotoelektrony dopadnou na rastr kanálových násobičů, kde jsou zesíleny, a po výstupu z násobiče jsou elektrony urychleny dalším homogenním elektrickým polem (jednotky kV, obvykle 4 kV) a



Obr. 8. Mikrokanálový násobič elektronů



Obr. 9 Microchannel plate

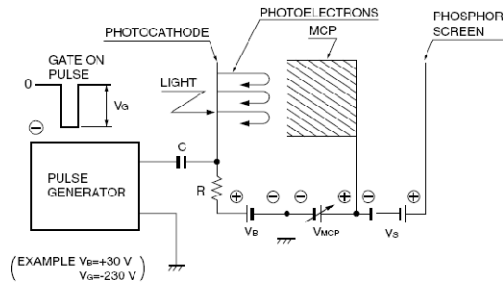


Obr. 10. Mikrokanálový zesilovač obrazu

dopadají na luminofor. Záření luminoforu je pak vazební vláknovou optikou na klasický CCD řadový nebo plošný detektor, kde se zpracuje na elektrický signál. Celý detekční systém je standardně chlazen Peltierovými články nebo kapalným dusíkem.

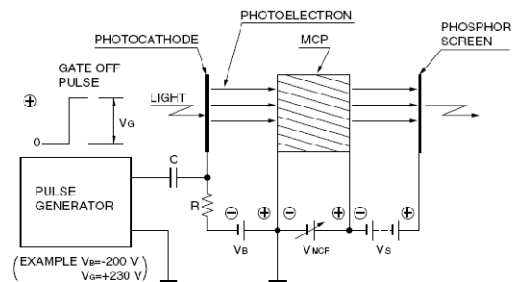
#### Normally-OFF mode

The  $V_B$  is constantly applied as a reverse bias to the photocathode, so no image appears on the phosphor screen. An image appears only when a gate pulse ( $V_G$ ) is applied to the photocathode.

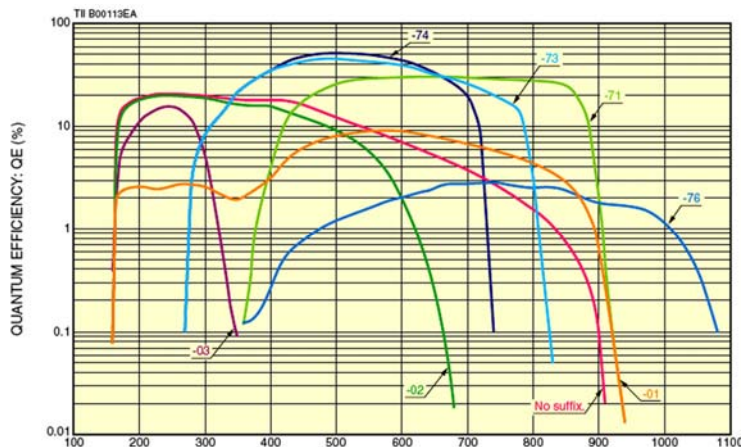


#### Normally-ON mode

The  $V_B$  is constantly applied as a forward bias to the photocathode, so an image is always seen on the phosphor screen during operation. The image disappears only when a gate pulse ( $V_G$ ) is applied to the photocathode.



Obr. 11. Schéma klíčování MCP zesilovače obrazu.



Suffix	Photo Cathode	Input Window
-71	GaAs	Borosilicate Glass
-73	Enhanced Red GaAsP	Borosilicate Glass
-74	GaAsP	Borosilicate Glass
-76	InGaAs	Borosilicate Glass
Non	Multialkali	Synthetic Silica
-01	Enhanced Red Multialkali	Synthetic Silica
-02	Bialkali	Synthetic Silica
-03	Cs-Te	Synthetic Silica

The sensitivity at short wavelengths changes with typical transmittance of window materials. Please refer to figure 4 (P6).

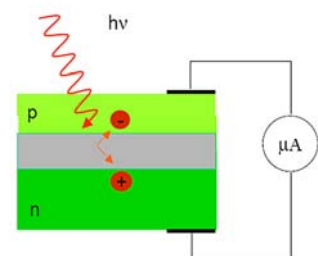
**NOTE:** Gate operation types may have slightly lower sensitivity in the ultraviolet region.

Obr. 12. Průběhy spektrální citlivosti několika MCP zesilovačů obrazu (Hamamatsu)

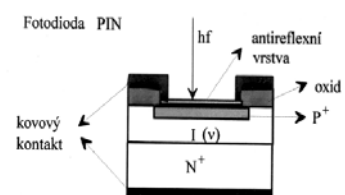
## 4. Vnitřní fotoelektrický jev

### 4.1. Fotodiody

Polovodičové diody se obvykle realizují jako PIN diody z křemíku nebo i jiných polovodičů. U křemíkových diod se na podložce s velkou vodivostí typu N vypěstuje intrinziční vrstva I a tato se pokryje tenkou, dobře vodivou vrstvou P. Okraj této vrstvy se spojí s kovovým kontaktem (většinou Au) a její povrch se pokryje antireflexní vrstvou např.  $\text{SiO}_2$  o tloušťce  $\lambda/4$  dopadajícího záření. V polovodiči vzniká při absorpci fotonu dvojice elektron – díra, které difundují k příslušným elektrodám. Tímto procesem, kterému se říká **vnitřní fotoefekt**, vznikne elektrický **fotoproud**. Důležitou roli zde hraje i závislost absorpce na  $\lambda$ .

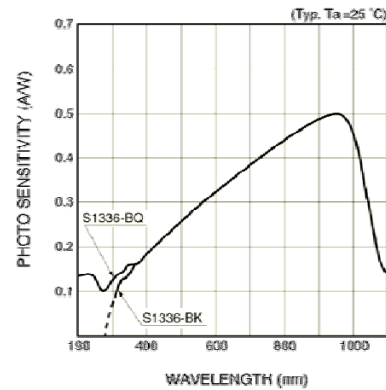


Obr. 13. Fotodioda



Obr. 14. Fotodioda PIN

Spektrální charakteristika fotodiody je určena závislostí absorpce záření v polovodiči na vlnové délce záření. Dopadající záření je tlumeno v polovodiči exponenciálně, při čemž každý absorbovaný foton v driftové oblasti vytváří jeden pár nosičů náboje. Pro záření, které má energii fotonů menší než je energie zakázaného pásu polovodiče (tj. nad absorpční hranou), je polovodič průzračný a absorpce fotonů velmi nízká. Těsně pod absorpční hranou polovodiče (Si 1000 nm, GaP 550 nm, GaAs 900 nm, Ge 1500 nm) je záření absorbováno především v driftové oblasti a vzniká velké množství párů elektron-díra a kvantová účinnost se blíží jedné. S klesající vlnovou délkou je záření absorbováno již v povrchové vrstvě polovodiče a kvantová účinnost klesá. Pro krátkovlnné záření se pro zvýšení kvantové účinnosti pokrývá fotodioda fluorescenční vrstvou a dioda detekuje fluorescenční záření ve spektrální oblasti její citlivosti. Kvantová účinnost takové fotodiody se pohybuje kolem 10% až do VUV oblasti spektra.

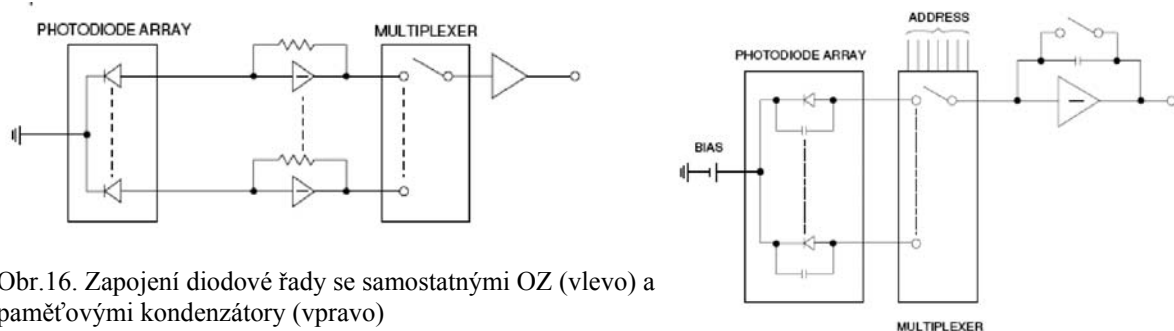


Obr. 15. Spektrální charakteristika křemíkové fotodiody Hamamatsu

Fotodiodu je možné do obvodu zapojit jako odporovou nebo hradlovou. V zapojení jako odporová dioda je dioda polarizována pomocným napětím v závěrném směru. Základním nedostatkem tohoto zapojení je průtok temného proudu, který protéká v důsledku polarizace diody a zhoršuje šumové parametry obvodu, i když u moderních fotodiody je efektivní odpor v závěrném směru za laboratorní teploty v řádu GΩ. V zapojení jako hradlová fotodioda je dioda zdrojem elektromotorické síly. Proud, generovaný diodou, je lineárně úměrný ozáření diody v rozsahu až 11 řádů za předpokladu, že dioda pracuje se zatěžovacím odporem blížícím se nule. Tato podmínka je obvykle řešena převodníkem proud – napětí s operačním zesilovačem. U fotodiody pro měřicí účely bývá operační zesilovač integrován přímo na křemíkovém čipu společně s diodou. Temný proud za laboratorní teploty takové diody se pohybuje v jednotkách pA, NEP pak kolem  $10^{-15}$  W/Hz<sup>1/2</sup>. Při chlazení diody na teploty -30°C až -180°C klesá temný proud o několik řádů až na desítky aA. Výhodou fotodiody je vynikající poměr signál/šum pro vysoké signály.

#### 4.2. Diodové řady

Velkou výhodou polovodičových diod, v praxi především křemíkových, je technologie výroby integrovaných obvodů v pevné fázi s možností integrace až milionů diod do jednoho elektronického celku. První možností je integrace jednotek až desítek diod společně se zesilovači, a to buď s operačním zesilovačem u každé fotodiody, nebo s paměťovým



Obr.16. Zapojení diodové řady se samostatnými OZ (vlevo) a paměťovými kondenzátory (vpravo)

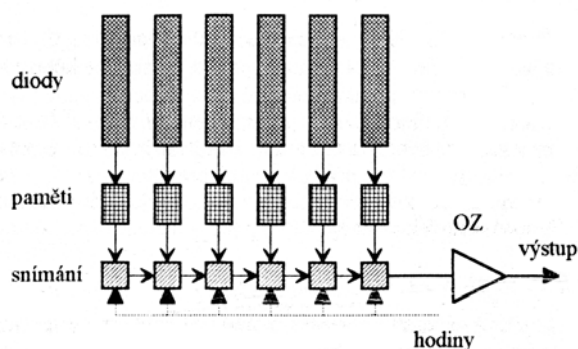
kondenzátorem s postupným snímáním náboje. Na rozdíl od níže popsaných CCD obvodů mají nižší rušivé signály a detektivita odpovídá vlastnostem integrovaných diod. Počet diod bývá 4 – 64, tvar diod bývá přizpůsoben předpokládané aplikaci. Ve spektrometrech mohou být použity jako řada výstupních štěrbin monochromátoru pro současné měření profilu emisní čáry a jejího okolí (pozadí), jak je tomu u některých spektrometrů Jobin-Yvon.

#### 4.3. Snímače CCD (nábojově vázané obvody, charge coupled devices)

CCD obvody představují složité integrované struktury tvořené fotocitlivými prvky, obvody pro zpracování signálu a pomocnými obvody. CCD pracují na dynamickém principu, tedy zavedení optického signálu do struktury, jeho přeměna na elektrický náboj, zpracování náboje a jeho převedení na napětí (signál) musí být uskutečněno v určitém časovém intervalu. To je zajištěno pomocnými obvody, které mimo jiné dodávají pro obrazový snímač řídicí pulzy.

##### 4.3.1. Řadové CCD detektory (diode array)

Jako řadových detektorů se používá CCD struktur konstrukčně uspořádaných tak, aby záření dopadající na fotodiodu mohlo generovat páry elektron-díra v polovodičovém substrátu. Principiální funkční schéma je na obr. 17: Každá z integrovaných fotodiod s rozměry např. kolem 0,01x2 mm generuje fotoproud, úměrný ozáření diody. Tento se integruje v kapacitách, spojených s diodami. Kapacity fungují jako analogové paměti. Akumulované náboje se postupně čtecími obvody převádí na vstup operačního zesilovače, na jehož výstupu dostáváme postupně napěťové impulzy odpovídající velikosti náboje u jednotlivých diod. Celý cyklus se opakuje 10 – 100 000 x za vteřinu.

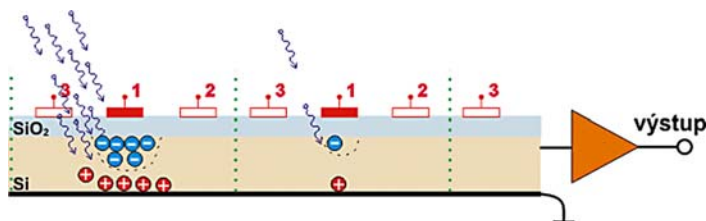


Obr. 17. Princip CCD diodové řady

Činnost typického CCD se skládá obvykle ze tří fází (existují i CCD se čtyřfázovým nebo dvoufázovým čtením).

##### I. Expozice obrazu

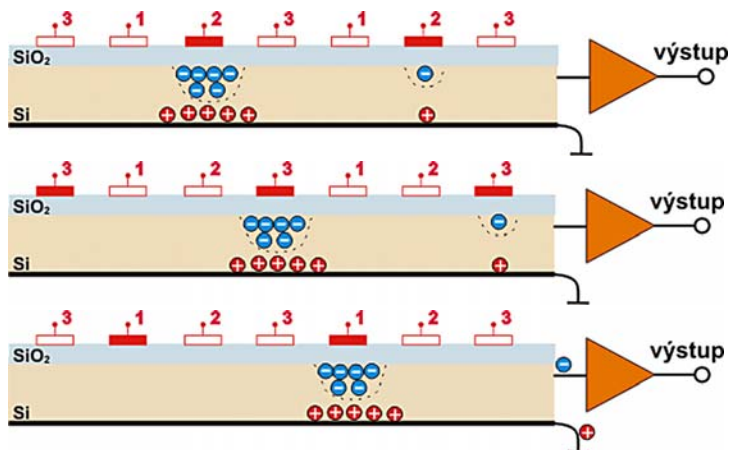
Na elektrody označené na obrázku číslem 1 se přivede kladné napětí a na CCD se nechá působit světlo. Dopadající fotony excitují v polovodiči elektrony, které jsou pak přitahovány ke kladně nabitým elektrodám. Po elektronech zbudou v polovodiči díry, které vůči svému okolí vykazují kladný náboj a ty jsou naopak přitahovány elektrodou na spodku CCD. Hranice pixelů jsou na obrázku znázorněny svislými tečkovanými čarami. Protože na pixel vlevo dopadlo více fotonů, je u jeho elektrody shromážděno více elektronů než u pixelu vpravo.



Obr. 18. Expozice CCD

## II. Snímání obrazu

Po uzavření závěrky se začne na množiny elektrod 1, 2 a 3 přivádět trojfázový hodinový signál. To v praxi znamená, že na elektrodách 2 se začne pozvolna zvyšovat napětí, zatímco na elektrodách 1 se souběžně snižuje. Díky tomu jsou shluky elektronů přitahovány pod elektrody 2. Následně se celý děj opakuje mezi elektrodami 2 a 3, dále mezi 3 a 1 a tak stále dokola. Shluky elektronů z jednotlivých pixelů se tak posouvají přes sousední pixely směrem k výstupnímu zesilovači (na obrázcích vpravo). Tento zesilovač pak zesílí malý proud odpovídající počtu akumulovaných elektronů v jednotlivých pixelech na napěťové úrovni vhodné pro další zpracování obrazu.



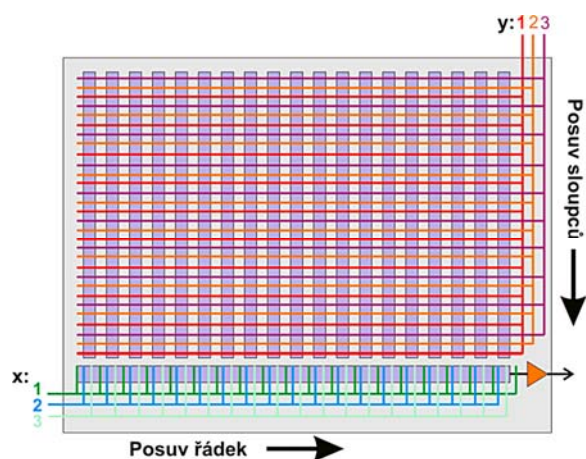
Obr. 19. Čtení CCD

### 4.3.2. Plošné CCD detektory

Základní konstrukce dvojrozměrného CCD je pouhým spojením mnoha lineárních CCD na jediném čipu. Namísto toho, aby náboje na koncích řad vstupovaly do obrazových zesilovačů, vstupují ovšem do dalšího lineárního CCD, které je k řadám kolmé a tímto CCD teprve postupují k jedinému zesilovači na jeho konci.

Příklad takového uspořádání je na obrázku 20. Obraz se snímá tak, že se nejprve trojfázovým posuvem  $y$  vysune první pixel ze všech svislých CCD do spodního vodorovného. Z toho se pak opakovaným trojfázovým posuvem  $x$  celý řádek naposouvá k obrazovému zesilovači. Poté se dalším trojfázovým posuvem  $y$  posune druhý pixel ze všech sloupců do vodorovného CCD. Celý tento cyklus se opakuje, dokud nejsou ze sloupců vyprázdněny všechny pixely.

Existuje ovšem celá řada daleko složitějších konstrukcí dvourozměrných CCD snímačů, jejichž cílem je zlepšení užitečných vlastností součástky (například zrychlení čtení).



Obr. 20. Plošný CCD snímač



Pro charakterizaci CCD obvodů se kromě výše uvedených vlastností fotodiod udávají specifické parametry, a to maximální čas uchování informace (1 – 100 ms), minimální (0,01 – 1 kHz) a maximální (0,1 – 100 MHz) taktovací frekvence, efektivita přenosu náboje, šum přenosu náboje, temný proud, dynamický rozsah a další. Celkový nábojový balík elektronů při napětí 10 V se pohybuje kolem 1 pC.

CCD detektor představuje komerčně nejdéle dostupný polovodičový detektor, který se masivně prosadil zejména ve spotřební elektronice, tedy ve faxech, scannerech, digitálních fotoaparátech a kamerách. Někteří výrobci ICP-OES spektrometrů tento typ polovodičového detektoru zvolili jako primární detekční technologii. Technologie CCD bohužel trpí některými zásadními nedostatky. Za zmínku stojí tzv. blooming efekt, který představuje nekontrolované přelévání náboje mezi jednotlivými pixely detektoru v momentě, kdy je některý z pixelů saturován. K tomuto jevu dochází, zejména pokud sousedí silné a slabé spektrální čáry, tedy u reálných vzorků. V takovémto případě dojde k „rozlití“ elektrického náboje z pixelu silné spektrální čáry směrem k pixelu slabé spektrální čáry, což má za následek nadměřování. Tento jev nelze na úrovni kalibrační křivky podchytit, protože reálné vzorky mají téměř vždy jiné poměry analytů než použité standardy. Někteří výrobci se snaží bloomingu alespoň zčásti zamezit použitím modifikovaných CCD (S-CCD atp.) čipů. Nejedná se však o 100% řešení, ale o zmírnění blooming efektu. Jednou z dalších nevýhod CCD technologie je nutnost destruktivního vyčtení signálu z celého CCD detektoru najednou, tedy nemožnost náhodného přístupu na kterýkoliv pixel a nedestruktivní přečtení úrovně signálu. Tento jev má za následek delší reakční časy a nemožnost použití adaptabilního simultánního módu pro různé vlnové délky.

#### 4.3.3. CID detektory (*charge injected device*)

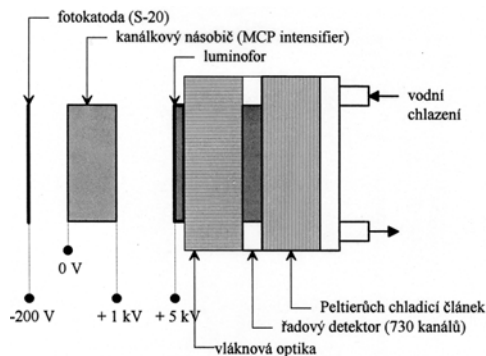
CID detektor (Charge Injected Device) představuje nejmodernější dostupnou technologii v oblasti polovodičových detektorů. CID detektory mají na fyzikální úrovni 100% odstraněn blooming efekt, mají možnost náhodného přístupu na kterýkoliv pixel bez nutnosti destrukce signálu. Funkce řízené integrace jednotlivých pixelů CID umožňuje nastavit integrační doby optimální pro různou intenzitu měřených čar, která aktivně zabraňuje saturaci pixelů. Např. při měření v ICP emise intenzivní čáry Ba 493,409 nm je možné nastavit integrační dobu 0,1 s a současně pro slabou měřenou čáru As 193,759 nm integrační dobu 30 s. Na jiných čarách je při tom možné provést během této doby např. 10 třísekundových expozic. Výsledkem je dobrá citlivost a přesnost na všech čarách během 30 sekundové expozice. Další výhodou nedestruktivního čtení signálu je při měření rychle se měnících signálů, např. při spojení s kapalinovou chromatografií nebo jinými separačními technikami. U těchto metod je nutné dostat data signálových bodů u každé analytické čáry v intervalech kolem 0,1 s. To je u CID možné, protože systém pouze odečítá signál jednotlivých pixelů, čtení je nedestruktivní a při tom v době expozice. U CCD prvků je nutné přečíst vždy celý obvod, tedy všechny pixely, které se čtením vynulují.

CID detektory představují budoucnost v oblasti detekce v ICP-OES. Tato technologie je patentována a vzhledem k výši licenčních poplatků a pořizovací ceně ji zatím používá jen několik málo výrobců ICP-OES spektrometrů. Analyticky je CID nejvýkonnější polovodičový detektor s těmi nejlepšími parametry, který je v současné době komerčně dostupný.

#### 4.3.4. Intenzifikované CCD detektory (ICCD)

Tento typ detektorů kombinuje výhodné vlastnosti CCD řadových a plošných detektorů (multikanálová detekce) s výhodami fotonásobičů (citlivost a především rychlost). V podstatě jde o fotokatodu emitující fotoelektrony, jejichž proud je zesílen v MCP zesilovači (obr. 10) a obraz na fluorescenční vrstvě se snímá klasickým CCD snímačem opticky vázaným na luminiscenční destičku vláknovou optikou. Detektory se chladí buď Peltierovými články nebo kapalným dusíkem.

Spektrální charakteristika a detektivita je dána fotokatodou, efektivní počet pixelů pak MCP zesilovačem a CCD snímačem. Ostrost zobrazení je nižší než při přímé detekci CCD detektorem, udávané prostorové rozlišení jsou 2-3 pixely o šířce 0,01 mm. ICCD detektory jsou nutné pro měření rychlých průběhů emise, např. při metodách LIBS nebo časově rozlišené fluorescenci. Šířku časového okna měření je možné nastavit od několika nanosekund (klíčování viz obr. 11), zatím co u CCD snímačů se jedná o milisekundy. Mezní opakovací frekvence měření je pak dána rychlostí čtení CCD snímače, obvykle kolem tisíců měření za sekundu.



Obr. 21. Klasický intenzifikovaný řadový detektor (firma PAR)

#### Literatura:

1. Jedlička M.: Fotelektrický jev. SNTL Praha 1975.
2. Hábovčík P.: Lasery a fotodetektory. Alfa Bratislava 1989.
3. Otruba V., Kanický V., editoři: Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Spektroskopická společnost JMM, Praha 1997.
4. Kubáň V., Otruba V., Kanický V.: Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS, sborník Automatická spektrometrie I, str. 129-147,2 THETA 2007, Český Těšín
5. Saleh B.E.A., Teich M.C.: Základy fotoniky. Matfyzpress Praha 1994.
6. Vrbová M., editor: Lasery a moderní optika Prometheus Praha 1994
7. Ševčík P.: Automatická spektrometrie I, 2THETA Český Těšín 2007.
8. Firemní literatura BAS Rudice, Spectro CS Ostrava, Hamamatsu Japonsko, Perkin-Elmer USA, PAR USA, EMI Velká Británie, Hilger Velká Británie; Wikipedia.

# Zavádění vzorku do plazmatu

*Viktor Kanický*

*Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.*

## 1 Úvod

Zavádění vzorku do spektrochemického budicího zdroje bylo a doposud je vždy spojeno s řadou problémů, které spočívají v ovlivnění stability výboje, v neúplném vypaření materiálu vzorku a v důsledku toho se vznikem interferencí a tedy degradace přesnosti a správnosti měření. Nejinak tomu je v případě ICP. Z publikovaných prací je zřejmé, že výzkum se zaměřuje na optimalizaci podmínek stávajících experimentálních uspořádání při vývoji metody pro konkrétní typy vzorků a současně na vývoj nových „sample introduction devices“.

Vzhledem k tomu, že ICP je přednostně využíváno pro analýzu roztoků, vzniká celá řada nových zmlžovačů, které jsou určeny speciálně pro ICP-OES nebo ICP-MS a pro spojení (kapitoly XI a XII) ICP-MS se separačními technikami. Jejich konstrukce a funkce zohledňují rozdílnou toleranci ICP-OES a ICP-MS k obsahu rozpuštěných látek, potřebu zvýšit účinnost generování aerosolu při nízkých průtocích vzorku u spojení separačních technik a ICP-MS a dále odolnost vůči agresivitě různých roztoků.

Samostatnou problematiku představuje generování aerosolu z pevných vzorků působením laserového záření (kapitoly XIII, XIV a XXI), elektrického (zpravidla jiskrového) výboje na vodivých materiálech, případně elektrotermickým vypařováním. Tyto techniky jsou v menšině vzhledem k analýze roztoků a z hlediska rutinních normovaných analytických metod představují v současné době nadstavbu, určenou spíše pro velmi specializované obory, jako je geochronologie, archeologie, stanovení stabilních i nestabilních izotopů a podobně.

Jak již bylo řečeno, vzorek je do ICP výboje transportován v podobě vlhkého či suchého aerosolu. Transport, atomizace, excitace nebo ionizace plyných vzorků se týkají generování těkavých sloučenin, jako jsou kovalentní hydridy zejména metaloidů (HG-ICP-MS) a těkavé organokovové sloučeniny získané derivatizací při speciální analýze prováděné pomocí GC-ICP-MS. Tato témata budou pojednána v samostatných kapitolách (VII, XI a XII).

K získání spolehlivých analytických výsledků je třeba, aby technika generování aerosolu vykazovala tyto vlastnosti:

- i)* nezávislost účinnosti generování aerosolu na vlastnostech vzorku,
- ii)* stejné chemické složení aerosolu a vzorku,
- iii)* dominantní podíl malých částic aerosolu ( $< 1 \mu\text{m}$ ),
- iv)* stabilitu generování a transportu aerosolu do výboje,
- v)* dobrou účinnost transportu aerosolu,
- vi)* minimální interference osnovy vzorku.

## 2 Systémy zmlžování a transportu aerosolu

Vývoj zmlžovače pro spektrální analýzu spadá již od druhé poloviny 19. století. Následující přehled obsahuje základní typy zmlžovačů s datem jejich první konstrukce (včetně originálního názvu) a se jmény autorů. Z těchto principiálních uspořádání byly později odvozeny komerční zmlžovače uvedené dále.

### 2.1. Přehled principů zmlžovačů

#### a) Pneumatické zmlžovače – zmlžování závislé na průtoku nosného plynu

##### i) Kapilární zmlžovače - se sacím účinkem / bez sacího účinku:

- koncentrický zmlžovač (Concentric nebulizer), sací účinek, (Gouy 1879 pro plamenovou spektroskopii, Meinhard 1977),
- úhlový zmlžovač (Cross-flow nebulizer) s/bez sacího účinku (Kniseley 1974).

##### ii) Zmlžovače na Babingtonově principu - bez sacího účinku (Babington 1973):

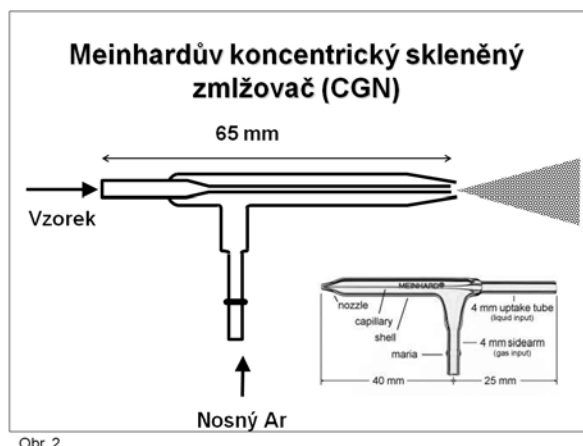
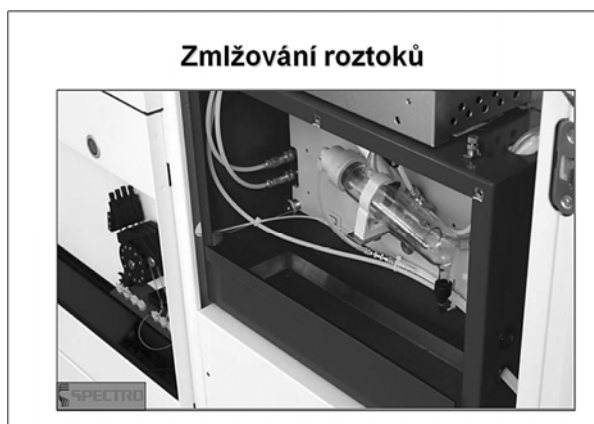
- žlábkový (Vee-groove nebulizer; Wolcott a Sobel, Suddendorf, 1978),
- síťkový (Grid nebulizer; Hildebrand, 1986),
- fritový (Fritted disc nebulizer; Apel a Bieniewski 1977, Suddendorf a Boyer 1978).

#### b) Zmlžování nezávislé na průtoku nosného plynu:

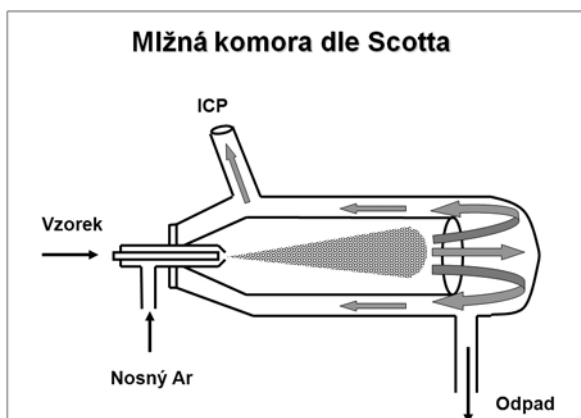
- vysokotlaká tryska (Jet-impact nebulizer, Doherty a Hieftje 1984),
- hydraulický vysokotlaký zmlžovač (Hydraulic high-pressure nebulizer; Berndt a Schaldach, 1989, Knauer),
- tepelný zmlžovač - termosprej (Koropchak 1988),
- ultrazvukový zmlžovač (Ultrasonic nebulizer; Dunken a Pforr 1963).

### 2.2. Podmínky správné funkce systémů zmlžování a transportu aerosolu

Zmlžovacím a transportním systémem Obr. 1 se kapalný vzorek zavádí do ICP v podobě aerosolu. Tento systém zavádění vzorku obsahuje zmlžovač, například dle Meinharda Obr. 2, mlžnou komoru (Obr. 1 a 3), peristaltické čerpadlo s pružnou hadičkou napojenou na nasávací kapiláru opatřenou filtrem zabraňujícím ucpání zmlžovače případnými pevnými nečistotami,



dále spojovací kapilárou mezi zmlžovačem a peristaltickou hadičkou (Obr. 1 a 4). Peristaltické čerpadlo je nutné nejen při použití zmlžovačů bez sacího efektu, ale i pro zmlžovače s tzv. Venturiho efektem. Při volném sání je totiž rychlost nasávání kapaliny ovlivňována nejen



Obr. 3



Obr. 4

tlakem plynu, ale i výškou zmlžovače nad hladinou, specifickou hmotností roztoku a jeho viskozitou. Peristaltické čerpadlo slouží též k odčerpávání nezmlženého roztoku z komory. Na Obr. 3 je schéma nejběžnější mlžné komory dle Scotta s dvojitým průchodem aerosolu, při němž se odstraní velké částice (o průměru několika mikrometrů), které by se v plazmatu nevypařily a byly by příčinou interferencí. Další funkcí mlžné komory je tlumení pulsů tvorby aerosolu, vyvolané pulsacemi peristaltického čerpadla. Mlžná komora je charakterizována hodnotou mezního průměru částice (cut-off diameter). Částice s průměrem větším než je tato hodnota komorou neprojdou.

Pro správnou funkci zmlžovacího a transportního systému je třeba volit vhodnou kombinaci zmlžovače a mlžné komory. Materiál mlžné komory i zmlžovače musí odpovídat použitému rozpouštědлу a kyselinám. Mlžené komory mohou být celoskleněné, skleněné v kombinaci s plastovým víčkem pro uchycení zmlžovače, případně plastové. Materiál komory má vliv na dobu promytí mezi vzorky. Nejkratší časy promytí vykazují celoskleněné mlžné komory; u plastových je třeba počítat s delším promýváním. Různé kombinace zmlžovačů a mlžných komor poskytují různou citlivost signálu a meze detekce. Přes řadu omezení, jako je nízká účinnost zmlžování, nízká tolerance k obsahu rozpuštěných látek, křehkost a náchylnost k ucpávání, poskytuje klasický Meinhardův skleněný zmlžovač se skleněnou komorou nejnižší hodnoty RSD přesnosti (0,2 až 0,5 %).

S ohledem na vlastnosti rozpouštědla je třeba vybrat také peristaltickou hadičku z přiměřeného materiálu tak, aby nenastalo její poškození vlivem naleptání povrchu. Pro požadovaný průtok roztoku je třeba zvolit vhodnou kombinaci vnitřního průměru peristaltické hadičky a rychlosti otáčení rotoru peristaltického čerpadla. Je třeba vzít v úvahu, že peristaltická hadička se používáním deformuje a mění se její vnitřní průměr a tedy i průtok kapaliny; proto je třeba dbát na její včasnou výměnu. Kontrola odběru roztoku čerpadlem se provádí měřením úbytku objemu v odměrném válečku za vhodnou dobu. Kontrola přítlaku čelisti peristaltického čerpadla zabrání hrubým chybám při měření. Nedostatečný přítlak má za následek nepravidelný transport roztoku (pohyb „tam a zpět“), příliš velký přítlak vyvolává pulsování aerosolu a předčasné opotřebení peristaltické hadičky, obvykle prodření a popraskání v ostrém přehybu hadičky. Odvod roztoku z mlžné komory musí být zajištěn tak, aby se nehromadil. Pozornost je třeba věnovat těsnosti spojů PTFE kapilár a peristaltické hadičky na jejím vstupu a výstupu, těsnosti napojení kapiláry na zmlžovač, spojení mlžné komory s plazmovou hlavicí a s odvodem odpadu. Často unikne pozornosti případné prosakování roztoku na spoji mezi komorou a odpadní kapilárou. Nejchoulostivější součástí je

zmlžovač, zejména koncentrický. Zde je třeba zkontrolovat odběr roztoku volným sáním (tj. bez pumpy) a srovnat jej s hodnotou platnou pro daný typ zmlžovače při nominální hodnotě tlaku nosného argonu a vizuálně prověřit pravidelnou tvorbu aerosolu a symetrii tvaru kužele rozprášeného aerosolu (bez mlžné komory).

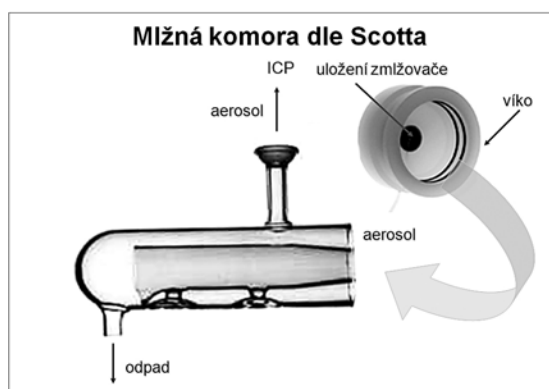
Významným rizikem pro správnost měření jsou paměťové efekty a kontaminace mezi po sobě následujícími vzorky. Příčinami jsou:

- kapky nebo kapalinový film předchozího vzorku na vnějším povrchu konce nasávací kapiláry,
- sorpce a desorpce analytů v hadičkách,
- mrtvý objem transportní trasy včetně mlžné komory,
- tvorba kapalinového filmu na stěnách mlžné komory,
- kapalinový film nebo kapka při trysce zmlžovače,
- tvorba kapalinového filmu na vnitřním povrchu injektoru (řešeno v případě JY přidávkem plynu „sheath gas“ který izoluje proud nosného plynu s aerosolem od stěny kapiláry injektoru),
- vliv změny koncentrace kyselin a solí v jednotlivých vzorcích – „adaptation effect“.

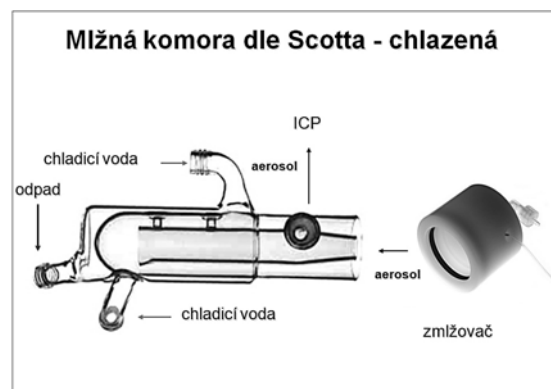
### 2.3. Mlžné komory

V současné době se používají 3 typy mlžných komor: Scottova, cyklonová a konická s impaktorem. Tyto komory mají řadu modifikací v závislosti na výrobci, použití (ICP-MS, ICP-OES) a chemickém složení roztoku vzorku (rozpouštědla, kyseliny). Některé jsou k dispozici ve variantách s chladicím pláštěm umožňujícím také teplotně stabilizovat tvorbu a transport aerosolu. Při zmlžování těkavých organických rozpouštědel je vhodné použít chlazenou komoru, aby se snížilo odpařování rozpouštědla a zatížení plazmatu. Páry rozpouštědla totiž na rozdíl od aerosolu vstupují nejen do analytického kanálu, ale i do prostoru pod základnou výboje, kde nastává disociace molekul rozpouštědla na úkor energie výboje, který se tím destabilizuje. Pro zvýšení stability signálu je vhodné mlžnou komoru termostatovat i při zmlžování vodných roztoků. Snižuje se také tvorba iontů oxidů v ICP-MS.

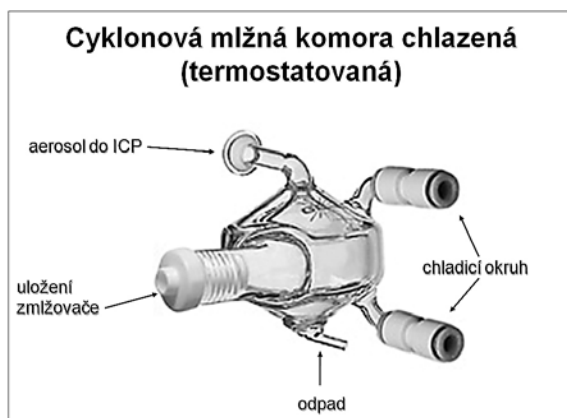
Nejběžnější mlžnou komorou je komora podle Scotta „double-pass“, (Obr. 3, 5, 6). Dvojitý průchod aerosolu se změnou směru proudění o 180° vyvolaný usměrněním proudu nosného plynu s aerosolem vnitřní trubicí proti stěně má za následek odstranění větších částic převážně: *i*) gravitační ztrátou; *ii*) setrvačnou (inerciální) ztrátou nárazem na stěnu komory při změně směru proudění; *iii*) ztrátou v turbulentním proudění (Stokesovo kritérium).



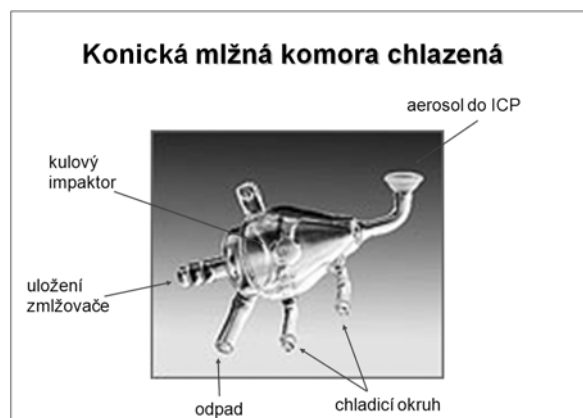
Obr. 5



Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8

Mlžná komora cyklonová se vyznačuje tangenciálním vstupem nosného plynu s aerosolem. Aerosol je modifikován převážně centrifugální a inerciální ztrátou (Obr.7). Komora bývá termostatována /chlazena, podobně jako komora Scottova. Ve srovnání se Scottovou komorou má cyklonová komora zpravidla vyšší účinnost přenosu vzorku a kratší dobu promývání.

Dalším typem komory, která se historicky vyvinula z mlžné komory pro FAAS či FAES, je konická komora (Obr.8). Je opatřena kulovitým impaktorem, na němž se částice aerosolu tříští na menší, případně velké částice zde zanikají nárazem. Jedná se o tzv. sekundární modifikaci aerosolu.

## 2.4. Zmlžovače

Nejpoužívanější prostředky ke generování aerosolu z roztoků jsou pneumatické zmlžovače se zmlžováním závislým na průtoku nosného plynu. Aerosol vzniká účinkem plynu proudícího malým otvorem na kapalinu přiváděnou před tuto trysku při poměru rychlostí proudění plynu a kapaliny přibližně  $10^3$ . Desintegrace proudu kapaliny za tvorby malých částic probíhá ve třech formách v závislosti na rychlosti proudění plynu vzhledem k proudění kapaliny. Nejběžnější zmlžovače jsou kapilární, vhodné pro zmlžování roztoků bez mechanických nečistot a s nižším obsahem solí.

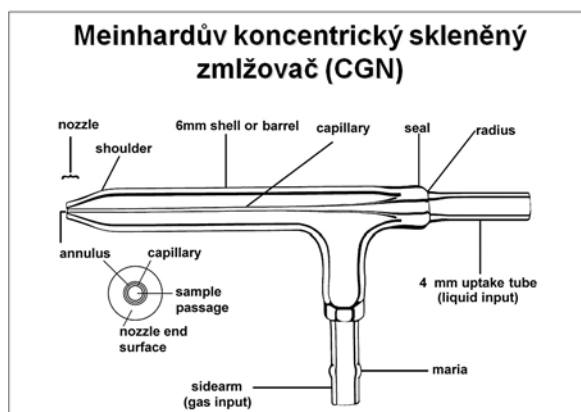
Zmlžovače lze rozdělit do dvou základních skupin podle jejich použití. Pro ICP-OES jsou určeny zmlžovače schopné zmlžovat roztoky s vysokým obsahem TDS; typicky 1-2%, v extrémních případech až 20%. Tyto zmlžovače nejsou vhodné pro ICP-MS. Typy komerčně vyráběných zmlžovačů lze shrnout do následujícího přehledu:

- Concentric glass
- Concentric PFA
- Fixed Cross-Flow
- Lichte (modified)
- Micro-concentric glass
- Adjustable Cross-Flow
- High-Pressure Fixed Cross-Flow (MAK)
- Babington V-Groove (high solids)
- GMK Babington (high solids)

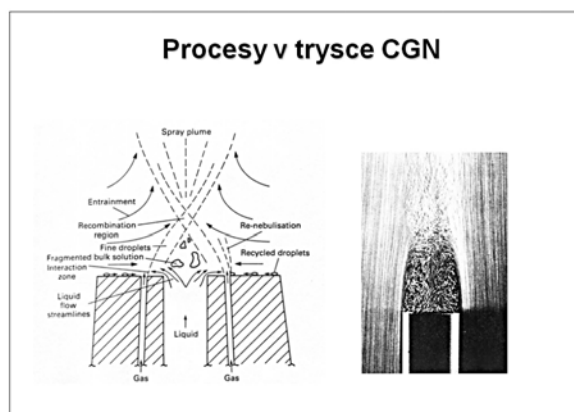
- Hildebrand dual grid (high solids)
- Ebdon slurry (high solids)
- Cone Spray (high solids)

Jako materiál slouží sklo nebo polymery (podobně jako u mlžných komor) v případech, kdy se vyžaduje zmlžování roztoků s obsahem kyseliny fluorovodíkové.

Nejstarší zmlžovač dle Gouye byl modifikován o sto let později J. E. Meinhardem do



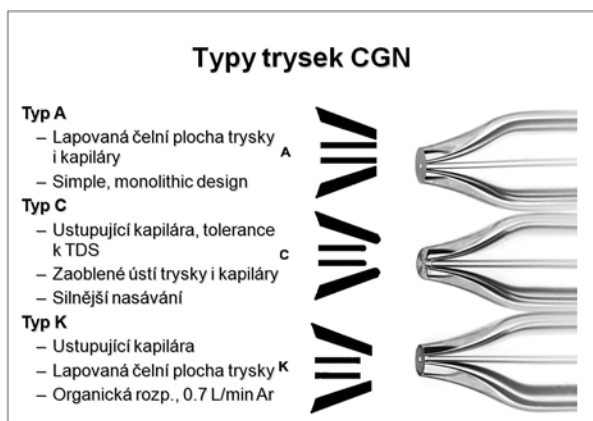
Obr. 9



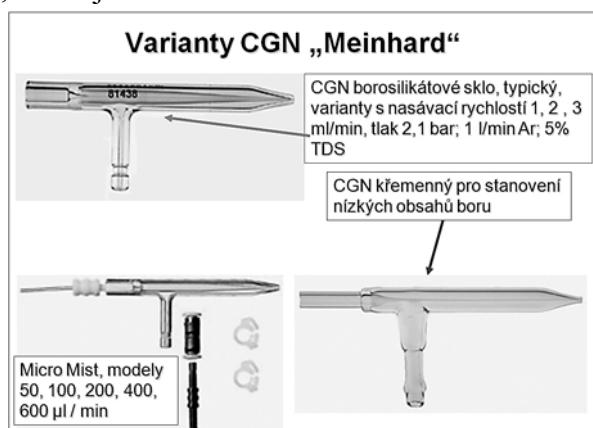
Obr.10

podoby znázorněné na Obr. 9. Tento zmlžovač, označovaný zkratkou CGN (Concentric Glass Nebulizer), vykazuje v důsledku Venturiho efektu sací účinek, který je popsán Hagen-Poiseuillovým zákonem. Zmlžovač má roztokovou kapiláru o vnitřním průměru 200 až 300  $\mu\text{m}$  a šířku mezikruží (annular separation) v ústí trysky obvykle 10 až 35  $\mu\text{m}$ . Mrtvý objem zmlžovače je přibližně 0,1 ml. Schéma procesů v trysce spolu se snímkem proudění je znázorněno na Obr. 10. Meinhardův zmlžovač je vyráběn ve třech základních variantách, které od sebe liší provedením trysky (Obr 11). Nejběžnější typ A je určen pro analýzu málo koncentrovaných roztoků, typ C je vhodný pro zmlžování roztoků s vyšším obsahem rozpuštěných látek (TDS) a typ K je určen pro zmlžování organických rozpouštědel. Účinnost Meinhardova zmlžovače ve standardním provedení je nejvýše 5% a maximální přípustný obsah solí je 20 až 40 g/l. Ústí zmlžovače je náchylné k ucpání krystalizujícími solemi. Příčinou je vznik přesyceného roztoku v ústí zmlžovače při poklesu okolní teploty následkem adiabatické expanze argonu vytékajícího z trysky. Doporučuje se proto nosný argon před přivedením do zmlžovače zvlhčovat.

Pro speciální požadavky lze použít různé varianty Meinhardova zmlžovače. Kromě standardního provedení z borosilikátového skla, zmlžujícího s účinností 5% a konstruovaného



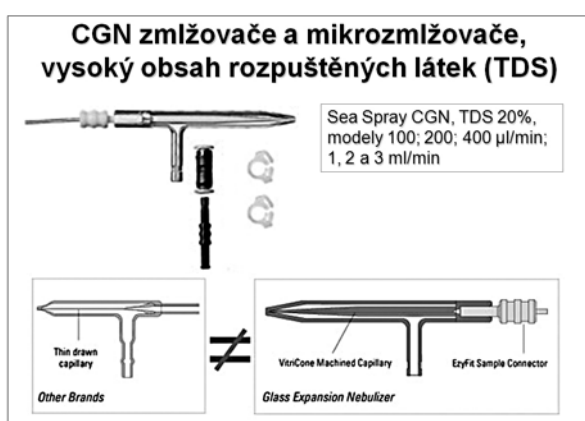
Obr.11



Obr. 12



s nasávacími průtoky 1,2 a 3 ml/min, se nabízí varianta z křemenného skla pro stanovení nízkých obsahů bóru a model *MicroMist* pro nízké průtoky ve variantách 50, 100, 200, 400 a 600  $\mu\text{l}/\text{min}$ , určený zejména pro spojení s HPLC (Obr. 12). Tento model může zmlžovat roztoky s obsahem TDS až 15% s fyzikální reprodukovatelností 1% RSD. Model *SeaSpray* je určen pro zmlžování roztoků s obsahem TDS až 20% při fyzikální reprodukovatelnosti 1% RSD a vyrábí se ve variantách pro „mikro“ průtoky 100, 200 a 400  $\mu\text{l}/\text{min}$  i pro průtoky 1, 2 a 3 ml/min (Obr. 13). Kromě společnosti J E Meinhard Associates, Inc., vyrábí zmlžovače Meinhardova typu firma Glass Expansion. Její robustní konstrukce Meinhardova zmlžovače VitriCone<sup>®</sup> se vyznačuje masivní silnostěnnou roztokovou kapilárou. Na rozdíl od tenkostěnné tažené kapiláry Meinhard<sup>®</sup> je kapilára VitriCone<sup>®</sup> vyrobena vrtáním a přesným obrobením. Mechanické vlastnosti takto konstruované kapiláry eliminují vibrace při zmlžování, které existují u kapiláry tažené. Důsledkem takto konstruovaného zmlžovače je jednak vysoká reprodukovatelnost jednotlivých výrobků, jednak vyšší přesnost signálu (Obr. 13). Některé vzorky obsahují pevné částice, které běžný zmlžovač ucpávají. Pro tento účel jsou vhodné zmlžovače *Conikal*, které dovolují zmlžovat roztoky při průtocích 1, 2 nebo 3 ml/min s obsahem TDS do 5% a částicemi do velikosti 75  $\mu\text{m}$  s fyzikální reprodukovatelností

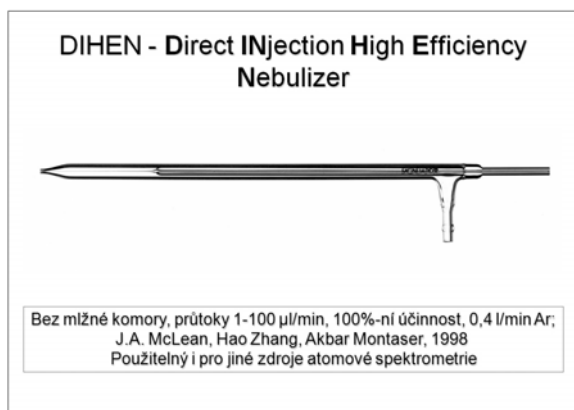


Obr.13

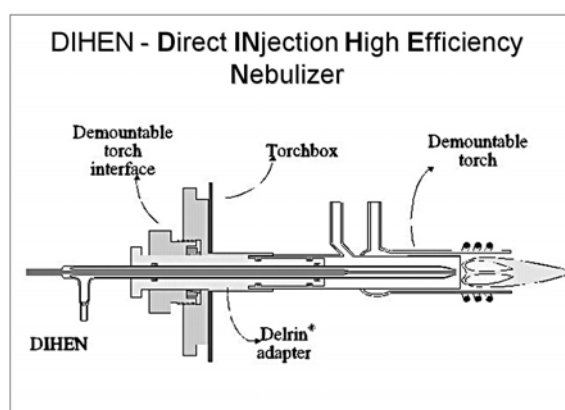


Obr. 14

1% RSD. Analýza některých vzorků je prováděna zmlžováním suspenzí vzorků. Zmlžovač *Slurry* umožňuje zavádění suspenzí s velikostí částic do 150  $\mu\text{m}$  s ostatními parametry shodnými se zmlžovačem *Conikal* (Obr. 14). Pro spojení s HPLC a FIA je vhodný zmlžovač Meinhard<sup>®</sup> označovaný jako *HEN* (High Efficiency Nebulizer). Při spotřebě roztoku 25x menší než klasický CGN poskytuje srovnatelné meze detekce. Liší se průměrem roztokové kapiláry (7,9  $\mu\text{m}$ ) ve srovnání s běžným CGN (340  $\mu\text{m}$ ). Vyžaduje vyšší tlak (170 psig) proti 30 až 50 psig u klasického CGN, protože plocha anulární štěrby je pouze 0,0072  $\text{mm}^2$ , kdežto klasický CGN má anulární plochu 0,034  $\text{mm}^2$ . Pro spojení s HPLC byl zkonstruován zmlžovač *DIHEN* (Direct Injection High Efficiency Nebulizer), Obr.15. Zmlžovač *DIHEN* zmlžuje objem 1 – 100  $\mu\text{l}/\text{min}$  s účinností 100%. Aerosol s vysokým podílem velmi malých částic je se stejnou účinností dopraven do plazmatu, neboť není napojen na mlžnou komoru, ale vsunut namísto injektoru do rozebíratelné plazmové hlavice (Obr. 16). Kromě HPLC je zmlžovač určen pro zmlžování malých množství a toxických nebo drahých vzorků.



Obr. 15



Obr. 16

Zmlžování roztoků obsahujících kyselinu fluorovodíkovou vyžaduje zmlžovače z resistantních materiálů. Takový představuje například koncentrický zmlžovač *PolyCon*, (Glass Expansion) vyrobený z materiálu Polyimid (Obr. 17). Je dodáván pro průtoky 50, 100, 200, 400, 600 a 800  $\mu\text{l}$ , dále pro 2 a 5 ml/min. Při toleranci 5% TDS a v závislosti na průtoku schopnosti propustit částice o průměru až 75  $\mu\text{m}$  vykazuje fyzikální reprodukovatelnost cca



Obr. 17

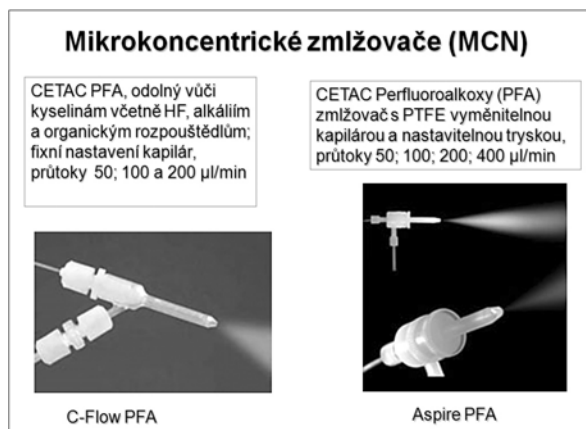


Obr. 18

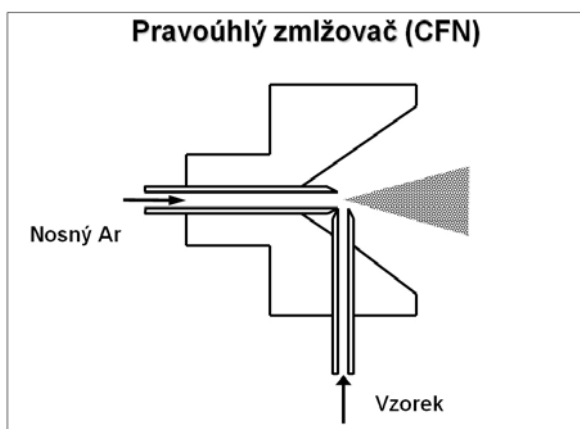
2% RSD. Je určen pro použití v průmyslu polovodičů. K dalším zmlžovačům odolným vůči HF patří řada zmlžovačů *MicroFlow* z materiálu PolyPro od firmy ESI (Elemental Scientific Inc.) s vyměnitelnou nebo integrovanou kapilárou Obr. 18. Umožňuje nasávání těkavých i netěkavých organických rozpouštědel bez použití peristaltického čerpadla. Zmlžovač *OpalMist* (Glass Expansion) z materiálu PFA je ideální zmlžovač pro ICP-MS i pro použití s ICP-OES. Vyznačuje se odolností vůči organickým rozpouštědlům, HF a alkalickým roztokům. S tolerancí vůči částicím do velikosti 75  $\mu\text{m}$  a vůči TDS do 30% vykazuje fyzikální reprodukovatelnost cca 3% RSD (Obr. 18). K dalším zmlžovačům, odolným vůči organickým rozpouštědlům, HF a alkáliím patří mikrokoncentrické zmlžovače (MCN) firmy CETAC Technologies, modely C-Flow PFA a *Aspire PFA* z polymerního materiálu perfluoroalkoxy (Obr. 19).

Zmlžovače mají mnoho variant, které jsou rozlišeny označením. Například koncentrické zmlžovače Glass Expansion jsou specifikovány ve formátu **ARxx-yy-ZZnnnE**. Symbol **AR** značí pracovní plyn (Ar), číslo vyjadřuje **xx** nominální tlak Ar v jednotkách *psig* (**p**ound **p**er **s**quare **i**nch, **g**as), číslo **yy** průtok Ar při nominálním tlaku (např. **07** znamená 0.7 l/min), **ZZ** je dvojice písmen označující konstrukci zmlžovače (materiál, určení, např. pro

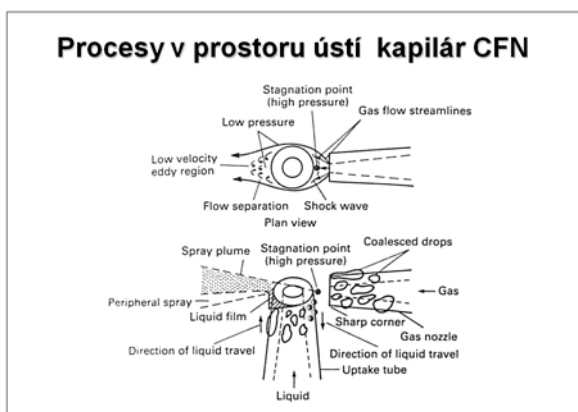
zmlžování), **nnn** je odběr zmlžovače v ml/min volným nasáváním při nominálním tlaku Ar a vodorovném umístění zmlžovače ve výšce 5 cm nad hladinou kapaliny v zásobníku (vliv hydrostatického tlaku). Druhou skupinu pneumatických zmlžovačů tvoří zmlžovače křížové či



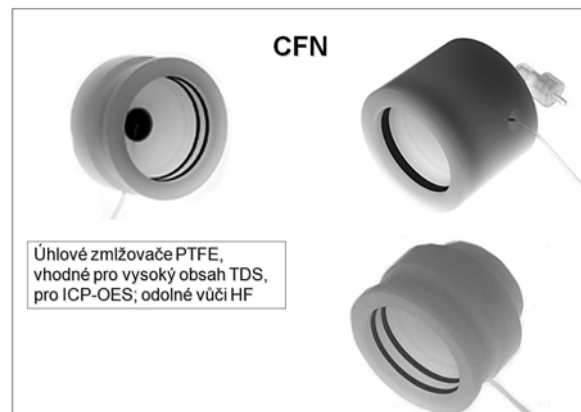
Obr. 19



Obr. 20



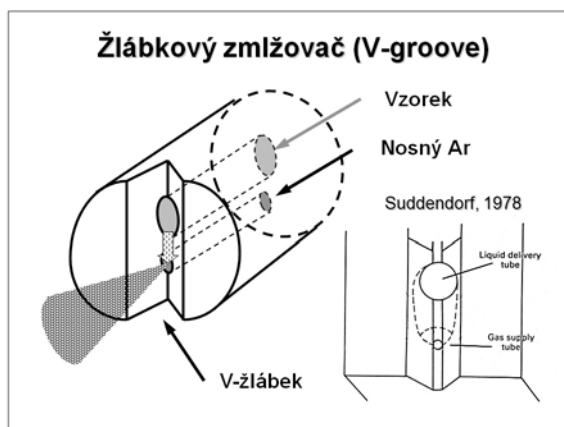
Obr. 21



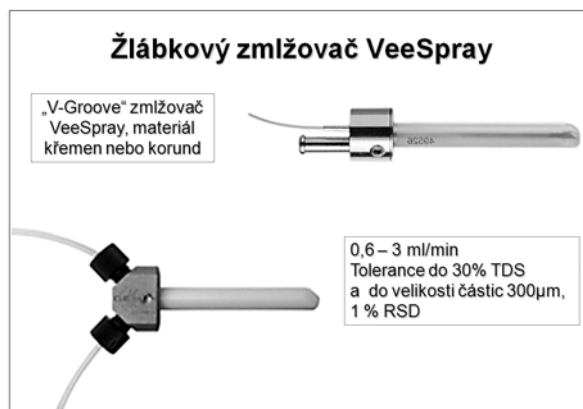
Obr. 22

úhlové, označované v originálu jako „cross-flow“ (Obr. 20). Schéma procesů v prostoru ústí obou kapilár je znázorněno na Obr. 21. Pravouhlé zmlžovače jsou méně náchylné k zarůstání krystalizujícími solemi než koncentrické, neboť vzájemnou polohu a tvar ústí kapilár lze snadněji optimalizovat. Kapiláry fixované v teflonovém bloku jsou obvykle z inertních materiálů (platina, safír), což umožňuje ve spojení s teflonovou mlžnou komorou analýzu roztoků obsahujících kyselinu fluorovodíkovou. Pravouhlé zmlžovače mohou, ale také nemusí vykazovat Venturiho efekt. Ukázky zmlžovačů firmy Perkin Elmer jsou na Obr. 22.

Nedostatky kapilárních zmlžovačů, zejména jejich náchylnost k zablokování plynové trysky, se podařilo odstranit konstrukcí pneumatických zmlžovačů pracujících na principu Babingtonova zmlžovače. Aerosol zde vzniká narušováním kapalinového filmu stékajícího po kulovém povrchu nebo žlábkem tvaru písmene V. Druhý typ, žlábkový neboli V-groove, podle Suddendorfa (1978), má roztokovou kapiláru o průměru 1 mm, která umožňuje zmlžování koncentrovaných roztoků (100 g/l) i suspenzí. Plynová kapilára o průměru 100-200  $\mu\text{m}$  je při zmlžování trvale smáčena roztokem a není proto náchylná ke krystalizaci solí a následnému zarůstání (obr. 23). Komerční variantou je zmlžovač *VeeSpray*, (Glass Expansion) zhotovený z křemene nebo korundu, který při průtocích 0,6 až 3,0 ml/min s zmlžuje roztoky s obsahem až 30% TDS a s částicemi o velikosti do 300  $\mu\text{m}$  s fyzikální reprodukovatelností 1% RSD. Na principu Babingtonova zmlžovače je založen i Burgenerův



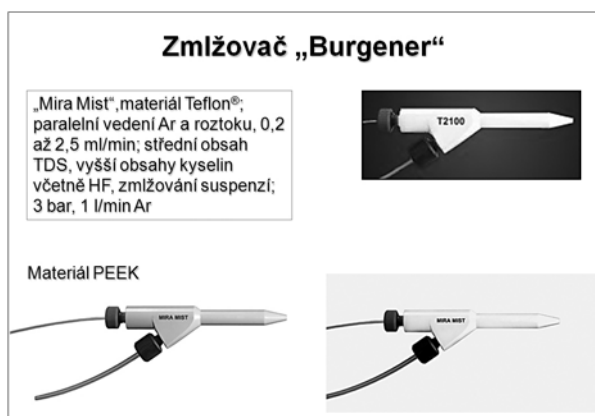
Obr. 23



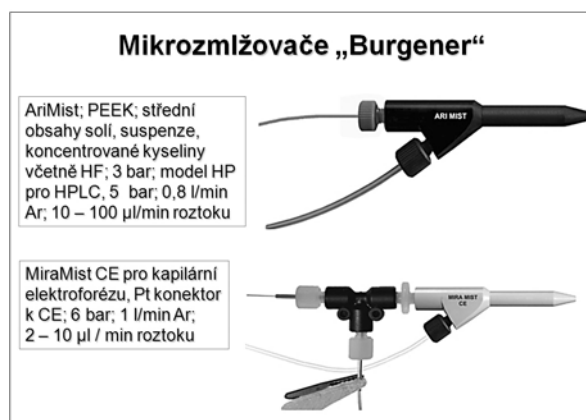
Obr. 24

zmlžovač s téměř paralelním vedením pracovního plynu a roztoku k ústí. Tento PTFE zmlžovač má vyšší účinnost a lepší stabilitu než některé komerční varianty Babingtonova zmlžovače. Zmlžovače firmy Burgener Research Inc., například modely *MiraMist* včetně modelu pro spojení ICP-MS s kapilární elektroforézou jsou znázorněny na Obr. 25 a 26.

Originální využití principu Babingtonova zmlžovače představuje síťkový zmlžovač Hildebrandův (1986) znázorněný na Obr. 27. Roztok je přiváděn na platinovou síťku



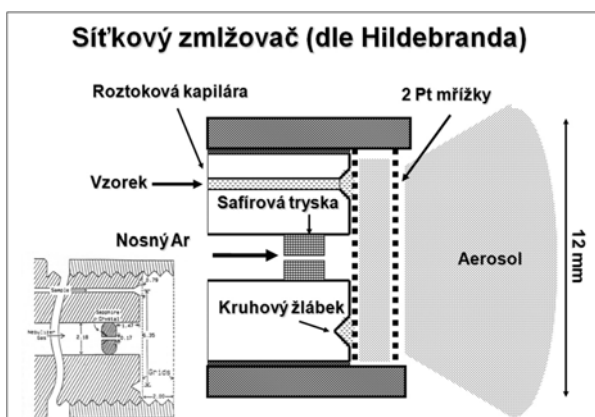
Obr. 25



Obr. 26

s rozměrem ok 100x100 µm. Stékající kapalinový film je tříštěn proudem plynu vytékajícího z trysky o průměru 170 µm. Vzniklý aerosol je vzápětí zjemňován další Pt síťkou. Vzdálenost síťky a trysky lze nastavovat a tím určovat aktuální lineární rychlost a průřez expandujícího proudu plynu v místě interakce a měnit vlastnosti zmlžovače s ohledem na vlastnosti zmlžovaného roztoku.

U fritového zmlžovače je kapalina přiváděna širokou kapilárou na povrch frity



Obr. 27

s průměrem kapilár 4-8 µm. Zmlžováním roztoku při rychlosti přívodu 10-100 µl min<sup>-1</sup> lze dosáhnout účinnosti zmlžení 60-90 %. Nevýhodou fritového zmlžovače je jeho velká paměť a tedy nutnost promývat jej mezi jednotlivými vzorky.

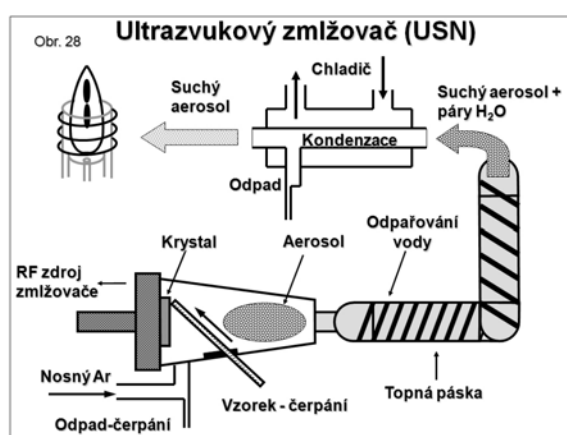
Generování aerosolu pneumatickými zmlžovači je závislé na rychlosti proudění a tedy i objemovém průtoku pracovního plynu, který plní současně funkci plynu nosného.

Tato závislost představuje omezení při optimalizaci pracovních podmínek ICP zdroje, a proto byly hledány způsoby, které by umožnily generovat aerosol nezávisle na průtoku nosného plynu.

Jedním z řešení je vysokotlaká tryska (jet impact, Doherty a Hieftje, 1978). Aerosol se tvoří z roztoku vytékajícího vysokou rychlostí z kapiláry do volného prostoru mlžné komory nebo proti nárazové kuličce díky setrvačným účinkům, jež jsou větší než povrchové síly v kapalině. Zmlžovač vyžaduje přívod roztoku vysokotlakou pumpou (HPLC) pod tlakem 10-40 MPa do kapiláry o průměru 10-30  $\mu\text{m}$ .

Tepelný zmlžovač – termosprej, využívá k vytváření aerosolu nárazového ohřevu roztoku nad bod varu v nerezové nebo křemenné kapiláře. Při expanzi jeho přehřátých par v kapiláře vnitřního průřezu 150  $\mu\text{m}$  s výtokovým ústím o průměru 25-150  $\mu\text{m}$  vzniká aerosol s účinností až 60%. Roztok je transportován do kapiláry pístovým čerpadlem (HPLC) a vznikající aerosol prochází vyhřívanou desolvatační částí, aby se minimalizoval přísun rozpouštědla do ICP.

Generování aerosolu pomocí ultrazvuku bylo poprvé popsáno v roce 1927. Ultrazvukový zmlžovač byl použit pro zmlžování roztoků do mikrovlnného plazmového



Obr. 29

výboje ve spojení s emisní spektrometrií již začátkem 2. poloviny 20. století a v samotných počátcích ICP spektrometrie. Roztok je čerpán peristaltickou pumpou na transduktor tvořený piezoelektrickým krystalem, který je buzen oscilátorem v rozsahu frekvencí 200 kHz – 10 MHz, nejčastěji 1,345 MHz, obr. 28. Podélná stojatá vlna se šíří kolmo k rozhraní kapalina-plyn a tlakové pulsy vyvolávají tříštění kapalinového filmu na jemné částice aerosolu. Vlnová délka  $\lambda$  povrchové vlny je dána vztahem

$$\lambda = \left( \frac{8\pi\sigma}{\rho f^2} \right)^{1/3}$$

kde  $\sigma$  je povrchové napětí,  $\rho$  je hustota roztoku a  $f$  je frekvence ultrazvuku. Střední průměr částic aerosolu pak závisí na vlnové délce povrchové vlny podle vzorce

$$D = 0,34\lambda$$

Podle způsobu přenosu ultrazvukových kmitů na roztok se rozlišují dva typy zmlžovačů. V prvním případě je transduktor oddělen od agresivního roztoku vzorku kapalinovou lázní. Transduktor je opatřen konkávní čočkou, která zaostřuje ultrazvukové vlny přes oddělovací vrstvu kapaliny na povrch roztoku vzorku, který je umístěn v nádobce s pružným dnem

(mylarová fólie) ponořené do lázně. Ultrazvukové kmity bývají přenášeny také vlnovodem. Jiná konstrukce zmlžovače používá přívod roztoku na transduktor chráněný proti korozi křemennou destičkou.

Ultrazvukový zmlžovač produkuje aerosol s malou střední hodnotou průměru částic (1-5  $\mu\text{m}$ ) a s úzkou distribuční křivkou velikostí. Přiváděný nosný plyn neovlivňuje sice tvorbu aerosolu, avšak řídí rychlost jeho transportu do ICP. Vzhledem k vysoké účinnosti generování byly pozorovány v případě některých prvků až 10 $\times$  vyšší hodnoty S/B ve srovnání s konvenčním pneumatickým zmlžováním, avšak zlepšení mezi detekce závisí také na šumu systému a nedosahuje v některých případech této hodnoty. Vysoká účinnost tvorby aerosolu způsobuje nadměrnou zátěž výboje rozpouštědlem, projevující se zhasínáním výboje nebo zhoršenými excitačními vlastnostmi. Komerční zmlžovače jsou proto vybaveny desolvatační jednotkou, v níž je aerosol nejdříve vysušen v odporově nebo mikrovlnně vyhřívané trase a posléze jsou páry rozpouštědla odstraněny z transportní trasy kondenzací ve vodním chladiči nebo v potrubí chlazeném Peltierovými články (Obr. 29).

V kombinaci s axiálním pozorováním ICP výboje umožňují v některých případech dosáhnout mezi detekce srovnatelných s ICP-MS. Optimální je použití pro roztoky s nízkým obsahem solí, zejména vzorky povrchových vod nebo mineralizátů některých biologických materiálů. Vyšší obsahy solí se mohou projevit zvýšenými nespektrálními interferencemi osnova, paměťovým efektem, případně sníženou stabilitou.

### ***3 Mechanismy zmlžování roztoků a transportu aerosolu***

Účelem zmlžovacího zařízení je vytvořit z analyzovaného roztoku s maximální účinností aerosol, který je tvořen maximálním podílem částic menších než 1  $\mu\text{m}$ . Generování a transport aerosolu do výboje lze rozdělit na tři fáze, při nichž se mění střední velikost částic v důsledku následujících procesů.

- Primární proces: generování polydisperzního aerosolu ve zmlžovači, při němž se uplatňuje kinetická energie proudícího plynu nebo vibrující destičky. Výsledkem je primární distribuce velikostí částic aerosolu.
- Sekundární procesy: modifikování aerosolu ztrátami nárazem a zmenšováním částic tříděním na pevné překážce (impaktoru) umístěné v mlžné komoře. Výsledkem je sekundární distribuce aerosolu. Vzhledem ke skutečnosti, že se v současné době používají zejména komory cyklonové a Scottova typu, v řadě zmlžovacích a transportních systémů tento stupeň chybí.
- Terciární procesy: další modifikování aerosolu v transportní trase odpařováním rozpouštědla, gravitačním usazováním, ztrátami nárazem na stěny mlžné komory, odstředivými ztrátami a ztrátami v turbulentním toku. Výsledná distribuce aerosolu se označuje jako terciární.

#### ***3.1 Primární procesy***

Aerosol vzniká účinkem plynu proudícího malým otvorem na kapalinu přiváděnou před tuto trysku. Rychlost proudění plynu je přibližně o 3 řády vyšší než rychlost přívodu kapaliny. Desintegrace proudu kapaliny za tvorby malých částic probíhá ve třech formách v závislosti na rychlosti proudění plynu vzhledem k proudění kapaliny. Při rychlostech do 5 m/s vznikají

kapky, při rychlostech do do 50 m/s vznikají strunovité útvary a při vyšších rychlostech ploché a kapsovité útvary (kapalinový film). U pneumatických zmlžovačů pro ICP je pozorován zejména posledně jmenovaný mechanismus.

Přestože koncentrický zmlžovač vykazuje sací (Venturiho) efekt, dává se přednost čerpání roztoku do zmlžovače peristaltickou pumpou. Odběr roztoku volným sáním závisí totiž na tlaku nosného plynu, viskozitě a hustotě roztoku a výšce hladiny v zásobníku. Sací účinek koncentrického zmlžovače je popsán Hagen-Poiseuillovým zákonem

$$Q_L = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8 \eta L} \quad (1)$$

kde  $Q_L$  je odběr kapaliny volným sáním (objemový průtok),  $r$  je poloměr kapiláry,  $\Delta P$  je tlakový spád na přírodní kapiláře zmlžovače,  $\eta$  je viskozita roztoku a  $L$  je délka kapiláry.

Distribuce velikostí částic aerosolu je charakterizována středním Sauterovým průměrem částic,  $d_0$  ( $\mu\text{m}$ ), což je průměr částic pro něž platí, že poměr jejich objemu k povrchu je roven poměru objemu k povrchu veškerého aerosolu. Závislost Sauterova průměru na podmínkách zmlžování koncentrickým zmlžovačem je popsána semiempirickou rovnicí odvozenou autory S. Nukiyamou a Z. Tanasawou [258].

$$d_0 = \frac{585}{\Delta v (\sigma / \rho)^{1/2}} + 597 \left[ \frac{\eta}{(\sigma \rho)^{0.5}} \right]^{0.45} \left( \frac{1000 Q_L}{Q_G} \right)^{3/2} \quad (2)$$

kde  $\Delta v$  ( $\text{m s}^{-1}$ ) je rozdíl lineárních rychlostí proudu kapaliny a plynu,  $\sigma$  ( $\text{N m}^{-1}$ ) je povrchové napětí kapaliny,  $\rho$  ( $\text{g cm}^{-3}$ ) je hustota kapaliny,  $\eta$  ( $\text{N s m}^{-1}$ ) je dynamická viskozita,  $Q_L$  a  $Q_G$  ( $\text{cm}^3 \text{s}^{-1}$ ) jsou průtoky kapaliny a plynu. Vztah (48) byl odvozen pro kapaliny s hustotou 0,8 až 1,2  $\text{g cm}^{-3}$ , s povrchovým napětím  $3 \times 10^{-6}$  až  $7,3 \times 10^{-6}$   $\text{N m}^{-1}$ , dynamickou viskozitou 0,1 až 3,0  $\text{N s m}^{-1}$ , a pro podzvukovou rychlost proudění plynu. Jak je ze vztahu (2) zřejmé, vliv viskozity se však přesto při zmlžování uplatňuje, neboť prostřednictvím druhého členu rovnice (2) ovlivňuje Sauterův průměr  $d_0$ .

### 3.2 Sekundární procesy

Sekundární modifikace aerosolu spočívá v interakci primárního aerosolu s překážkou umístěnou v blízkosti ústí zmlžovače, obvykle ve vzdálenosti do 1 mm, kde se ještě neuplatňuje expanze nosného plynu s následným vytvořením turbulentního pole. V této oblasti je příčná složka rychlosti proudění zanedbatelná vůči axiální složce a prakticky všechny částice aerosolu se nacházejí v balistické fázi pohybu. Částice interagují se stagnujícím tokem plynu a viskózní vrstvou rozhraní na povrchu přepážky. Schopnost částice sledovat proud nosného plynu je určena Stokesovým číslem

$$S_{ik} = \frac{\rho_a K_{sa} d_a^2 v}{9 \mu w} \quad (3)$$

kde  $\rho_a$  je specifická hmotnost aerosolu a  $d_a$  je průměr částice aerosolu,  $K_{sa}$  je smykový korekční faktor (pro částice  $> 1 \mu\text{m}$  je  $K_{sa} \approx 1$ ),  $w$  je průměr obtékané překážky (koule) nebo šířka trubice, kterou částice prochází (síťka Hildebrandova zmlžovače),  $v$  je rychlost částice a  $\mu$  je absolutní viskozita plynu. Výpočtem podle vztahu (3) lze ukázat, že částice s  $d_a \leq 1 \mu\text{m}$  budou překážku obtékat, částice s  $d_a > 10 \mu\text{m}$  budou na překážce zachyceny a částice v

intervalu  $1 \mu\text{m} < d_a \leq 10 \mu\text{m}$  mohou být na nárazovém tělísku buď roztrženy, nebo mohou překážku obtéci. Pro mezní průměr částic schopných obtékat kulovou plochu byl navržen empirický vztah

$$d_c = \frac{1,5\mu w}{\rho_a v} \quad (4)$$

který poskytuje odhad v dobré shodě s experimentálně zjištěnou hodnotou  $d_c = 2,6 \mu\text{m}$  pro pravoúhlý zmlžovač s kulovým impaktorem ( $w = 2 \text{ mm}$ ). Mezní průměr je definován pro 50%-ní ztrátu aerosolu.

### 3.3 Terciární procesy

K terciární modifikaci aerosolu dochází v mlžné komoře a navazující transportní trase. Tou může být spojovací hadice, ale v současné době je většina plazmových hlavic spojena pevně zábrusem nebo fixací ve výstupní trubici mlžné komory s těsněním pomocí O-kroužků.

a) Odpařování rozpouštědla je základní proces terciární modifikace aerosolu. Ovlivňuje účinnost a rychlost transportu analytu i rozpouštědla do plazmatu. Odpařování kapek aerosolu se řídí rychlostní rovnicí

$$d_t = \sqrt[3]{(d_0^3 - Et)} \quad (5)$$

kde  $d_t$  je průměr kapky v čase  $t$  uplynulším od počátku odpařování,  $d_0$  je průměr kapky na počátku a  $E$  je rychlostní konstanta zvaná odpařovací faktor. Tento faktor závisí na tenzi nasycených par  $p_s$  rozpouštědla molekulové hmotnosti  $M$  o povrchovém napětí  $\sigma$ , specifické hmotnosti  $\rho_a$  a s difúzním koeficientem par  $D_v$  podle vztahu

$$E = \frac{48D_v \sigma p_s M^2}{(\rho_a RT)^2} \quad (6)$$

kde  $R$  je univerzální plynová konstanta a  $T$  je absolutní teplota.

b) Gravitační ztráty se uvažují zejména v horizontálních částech vedení aerosolu a mají význam při generování aerosolu laserovou nebo jiskrovou ablací. Ustálená rychlost klesání  $v_s$  částice o průměru  $d_a$  a specifické hmotnosti  $\rho_a$  v laminárním toku plynu absolutní viskozity  $\mu$  dle Stokesova zákona je popsána vztahem

$$v_s = \frac{d_a^2 \rho_a g}{18\mu} \quad (7)$$

kde  $g$  je tíhové zrychlení. Mezní průměr částic  $d_c$ , které budou z 50-ti % v trubici zachyceny, je roven

$$d_c = 3 \sqrt{\frac{\mu w}{\rho_a g t}} \quad (8)$$

kde symboly mají výše uvedený význam. Mezní průměr vypočtený pro Scottovu mlžnou komoru při zmlžování roztoků je roven  $35 \mu\text{m}$ , z čehož při experimentálně zjištěné hodnotě  $d_c = 2,5 \mu\text{m}$  vyplývá, že gravitační ztráty hrají okrajovou úlohu.

c) Ztráty nárazem byly již zmíněny v souvislosti se sekundární modifikací aerosolu na impaktorech a jako terciární proces se odehrávají na zakončení mlžné komory. Výpočet, při němž se předpokládá laminární proudění plynu, poskytuje hodnotu mezního průměru 35



$\mu\text{m}$  stejně jako v případě gravitačních ztrát. Volně expandující tryska však dává vzniknout turbulentnímu proudění a zjednodušený laminární model je vzdálen realitě.

d) Odstředivé ztráty se uplatňují ve větší míře u mlžných komor cyklonového typu a mezní průměr je dán vztahem

$$d_c = \sqrt{\frac{9\mu w_i}{2\pi n v_i (\rho_a - \rho_g)}} \quad (9)$$

kde  $w_i$  je průměr vstupu proudu nosného plynu,  $v_i$  je vstupní lineární rychlost toku plynu a  $\rho_g$  je specifická hmotnost plynu.

e) Ztráty v turbulentním toku se uplatňují většinou jako dominantní mechanismus u válcových a kónických mlžných komor ve spojení s pneumatickými zmlžovači, které vytvářejí postupně se rozvíjející turbulentní tokové pole. Na základě zjednodušujících úvah lze vyjádřit podíl  $P_a$  částic průměru  $d_a$  prostupujících turbulentním polem jehož stupeň turbulence je charakterizován faktorem  $k$  vztahem

$$P_a = \exp\left(-\frac{k d_a^4 L}{Q_g}\right) \quad (10)$$

kde  $L$  je délka trubice a  $Q_g$  je objemový průtok plynu.

Z uvedených vztahů i prostého názoru je zřejmé, že v případě dominantního významu turbulentních ztrát bude prostup aerosolu systémem růst s průtokem nosného plynu podobně jako u gravitačních ztrát, na rozdíl od ztrát nárazem a ztrát odstředivými silami, kdy s průtokem ztráty vzrůstají a transportovány jsou jen jemnější částice.

Na základě uvedených mechanismů modifikace aerosolu je patrné, že existují optimální kombinace zmlžovačů a mlžných komor, při nichž je dosaženo nejvhodnějšího rozdělení velikostí částic při zachování dostatečné účinnosti transportu aerosolu do výboje.

# Analytické vlastnosti ICP-OES

*Viktor Kanický*

*Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.*

## 1 Úvod

Technika ICP-OES je založena na měření emise excitovaných atomů a iontů. V prvním přiblížení lze říci, že signál analytu z ICP nezávisí na jeho speciaci v roztoku vzorku. U většiny analytů lze dále nalézt společné optimální/kompromisní podmínky zdroje ICP pro víceprvkovou analýzu. Tím se metodologie analýzy s ICP-AES podstatně liší od chemických metod, u nichž je většinou třeba pro každý analyt nastavovat specifické podmínky (pH, iontovou sílu, přidávat maskovací činidla) a používat selektivní, případně specifická činidla (molekulová absorpční spektrofotometrie). Tato skutečnost však neznamená, že uvedené metody jsou zcela nahrazeny ICP emisní spektrometrií. Při stanovení hlavních složek se uplatňují významně titrační a gravimetrické metody, neboť poskytují v této koncentrační oblasti výsledky s přesností a správností jen obtížně dosažitelnou při použití ICP-AES. Spektrofotometrie je levnější než ICP-AES a může sloužit jako nezávislá srovnávací metoda pro stanovení zejména doprovodných složek a stopových obsahů.

Při stanovení minoritních a stopových obsahů ICP-OES obvykle splňuje požadavky na přesnost a správnost měření. Stanovení těchto obsahů je tradiční doménou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou (FAAS) i bezplamenovou technikou atomizace (AAS s elektrotermickou atomizací ETAAS, AAS s technikou studených par CV-AAS, AAS s technikou generování těkavých hydridů HG-AAS) a v řadě aplikací také stále polem specializovaný předpis pro rozklad vzorku známého typu a pro přípravu roztoku k analýze zajišťuje, aby obsah analytu ležel uvnitř poměrně úzkého kalibrovaného rozsahu. Široký lineární koncentrační rozsah ICP-OES naproti tomu klade menší nároky na ředění vzorku a současně umožňuje stanovovat obsah daného analytu v různých typech vzorků s použitím působnosti molekulové absorpční spektrofotometrie UV-Vis („spektrofotometrie“). Určitá spektrofotometrická metoda je obvykle vypracována pro konkrétní typ materiálu a jediné analytické čáry a většinou i stejné metodiky. Při vyšších nárocích na přesnost a správnost měření je však třeba volit vhodný počet bodů na kalibrační přímce a jejich rozložení. Ve srovnání s FAAS má ICP-OES výhodu v tom, že nevyžaduje přídavky uvolňovacích činidel, spektrochemických tlumičů a ochranných komplexotvorných činidel. ETAAS umožňuje stanovení stopových koncentrací o jeden až dva řády nižších než ICP-AES. V případě ICP-AES jsou však na druhé straně podstatně častěji pozorovány spektrální interference než v AAS nebo plamenové emisní spektrometrii. S ICP-OES lze jako víceprvkovou metodu srovnávat rentgenovou fluorescenční spektrometrii XRF. Tato nevyžaduje rozpouštění vzorku, i když příprava pevných vzorků k analýze XRF rovněž zahrnuje řadu operací a přídavků látek. Analytické vlastnosti ICP-OES lze shrnout do těchto bodů:

- Stanovení 73 prvků včetně P, S, Cl, Br, I.
- Rychlé simultánní a flexibilní sekvenční stanovení.
- Vysoká selektivita při adekvátním rozlišení spektrometru.
- Nízké meze detekce (0.1-10 ng/ml).
- Lineární dynamický rozsah 5-6 řádů u spektrálních čar nezatížených samoabsorpcí.
- Minimální interference osnovy při analýze roztoků za optimalizovaných podmínek zdroje ICP i bez použití porovnávacího prvku nebo přizpůsobené kalibrace „matrix-matched“ ( $< \pm 10\%$  rel.).
- Přesnost měření (0.5 - 2 % RSD).
- Správnost měření ( $\sim 1\%$  RSD).
- Možnost zavádění kapalných, plyných i pevných vzorků.
- Běžné průtoky vzorku (ml/min) i průtoky s použitím mikrozmlžovačů ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) při zachování mezí detekce.
- Vysoká rychlost analýz u simultánních systémů ( $10^2 - 10^3$  /hod).
- Automatizovaný provoz s použitím programovatelných podavačů vzorků.
- 

## 2 Optimalizace podmínek měření s ICP-OES

V současné době využívají dva směry měření záření vzhledem k výboji ICP:

- a) kolmo k ose výboje, neboli *side-on view*, v současné době označovaný jako *radiální*;
- b) podél osy výboje, neboli *end-on view*, označovaný jako *axiální*.

Na trhu existují přístroje, které umožňují buď radiální nebo axiální měření, případně spektrometry poskytující obě možnosti, tz. *dual view*. Signál se měří při optimálních podmínkách zdroje ICP. Pracovní parametry zdroje ICP jsou: příkon do plazmatu  $P$ , průtok vnějšího plazmového plynu  $F_p$ , průtok středního plazmového plynu  $F_a$ , průtok nosného plynu  $F_c$ , rychlost čerpání (průtok) vzorku do zmlžovače a v případě radiálního měření výška pozorování  $h_p$ . Při axiálním pozorování je clonou vymezen průřez analytického kanálu. Optimální poloha se pak získá vystředěním polohy kanálu (plazmové hlavice) v souřadnicích  $xy$  vůči poloze clony. Přesnost měření je ovlivněna integrační dobou  $t_{int}$ . Parametry  $P$  a  $F$  ovlivňují emisi a její prostorové rozdělení v závislosti na energii ionizace  $E_{il}$  a excitace  $E_{exc}$ , resp. v případě iontových čar (II) na  $E_{sum} = E_{il} + E_{exc}$ . Pro nastavení analytických podmínek je třeba rámcově znát závislosti axiálního rozdělení intenzity emise čáry a pozadí na uvedených parametrech. Podrobně jsou tyto závislosti popsány v publikaci *4. kurs ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2008, ISBN 80-903732-4-0*.

Cílem optimalizace parametrů ICP výboje je nalezení podmínek měření, kdy je dosaženo nejlepších hodnot poměru signál/pozadí ( $S/B$ ) a nejvyššího poměru signál/šum ( $S/N$ ), tj. nejnížší relativní standardní odchylky měření  $s_r$ , ( $RSD_B$ ,  $RSD_S$ ). Tato oblast je označována jako normální analytická zóna ( $NAZ$ ). Blíže k indukční cívice, pod  $NAZ$ , se nachází počáteční zářivá zóna ( $IRZ$ ), v níž jsou pozorovány výrazné nespektrální interference.

Axiální a radiální rozdělení intenzity emise čar a pozadí při obvyklém průtoku  $F_c \sim 1 \pm 0,1$  l/min a obvyklém příkonu  $P \sim 1- 1,3$  kW pro analýzu vodných roztoků je popsáno v následujících podkapitolách 2.1 a 2.2.

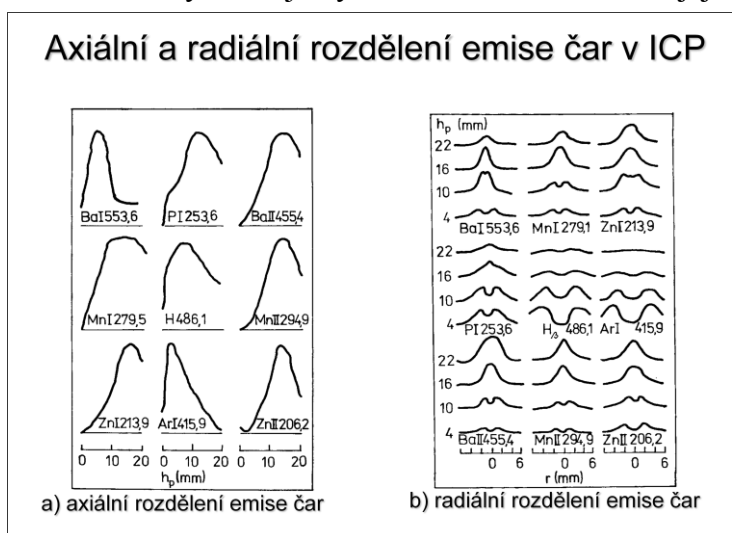
## 2.1 Axiální rozdělení intenzity emise čar a pozadí

Při radiálním pozorování výboje jsou z celého analytického kanálu nejdůležitější 2 oblasti, totiž *NAZ* a *IRZ*. Analytická měření se provádějí v *NAZ*, avšak nesprávným nastavením podmínek měření může nastat situace, kdy se měření provádí částečně v *IRZ*. Chování spektrálních čar v této zóně je zmíněno proto, aby bylo zřejmé, jaké problémy mohou vzniknout při neoptimálních podmínkách.

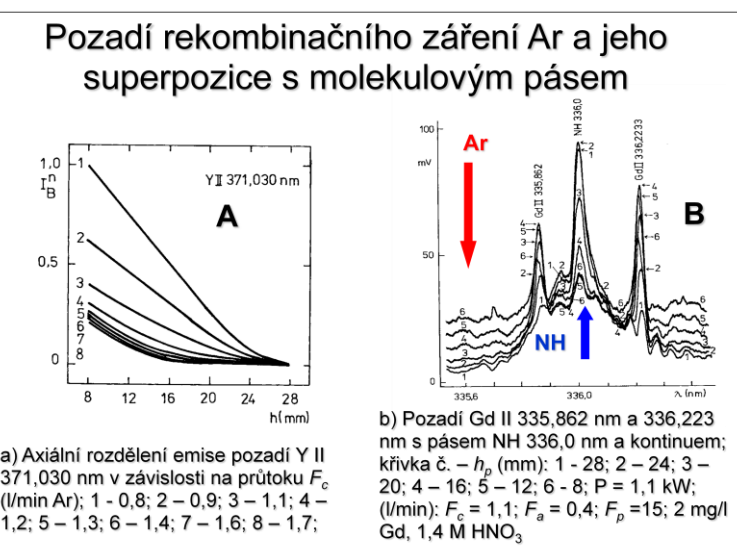
- V *NAZ* převažuje excitace atomů s vysokými hodnotami prvních ionizačních energií  $E_{i1}$  a excitace iontů. Polohy maxim axiálních rozdělení intenzity emise odpovídajících atomových čar (např. Cd I 228,802 nm, Zn I 213,856 nm) a iontových čar (např. Ba II 455,403 nm, Mn II 294,920 nm, Zn II 206,200 nm) nad indukční cívku příliš nezávisí na  $E_{sum}$  spektrálního přechodu, ani na  $E_{i1}$  atomů nebo  $E_{i2}$  jedenkrát nabitých iontů. Při optimálních podmínkách zpravidla nepřesahuje rozdíl vzdáleností těchto maxim od cívky hodnotu 4 mm. Optimální  $h_p$  obvykle odpovídá poloze maxim axiálního rozdělení intenzity iontových čar (obr. 1a). Intenzita takových čar je výrazně závislá na  $F_c$  a  $P$  a jejich chování neodpovídá koncepci normových teplot (normová teplota viz kap. II.5).

V závislosti na instrumentaci je střed *NAZ* obvykle lokalizován mezi  $h_p = 12$  až 18 mm. Některé atomové čáry prvků s vysokými hodnotami  $E_{exc}$  (P I 253,6 nm, S I 469,4 nm, C I 247,9 nm, H $\beta$  486,1 nm a některé čáry Ar) se excitují v indukční oblasti v blízkosti cívky (obr. 1a) a  $h_p$  maxim axiálních rozdělení jejich intenzit závisí na  $E_{exc}$  a je nepřímo úměrná normové teplotě, neboť teplota v indukční oblasti roste směrem k cívce.

- V *IRZ* převažuje excitace atomů s nízkými a středními hodnotami  $E_{i1}$ . Zde leží maxima axiálních rozdělení intenzity odpovídajících atomových čar, např. Ca I 422,673 nm, Cu I 324,754 nm, Ni I 341,476 nm, Ba I 553,548 nm a Pb I 283,306 nm a  $h_p$  těchto maxim jsou úměrné normovým teplotám. Emise těchto čar se mění s  $F_c$  a  $P$  jen málo. Příkladem je Ba I 553,548 nm (Obr. 1a). *IRZ* je nevhodná



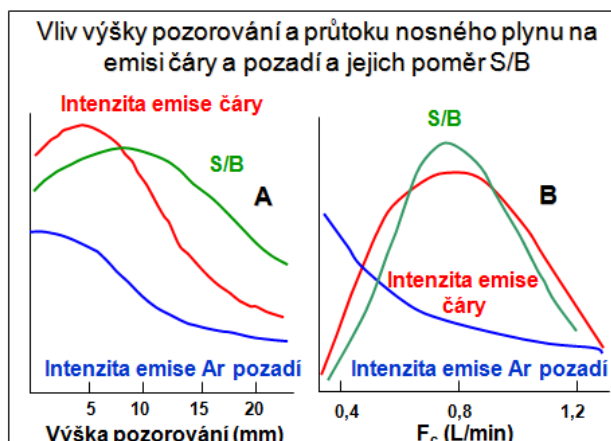
Obr. 1



Obr. 2

pro analýzu z důvodu nízkých hodnot  $S/B$  iontových čar a v případě všech čar kvůli nespektrálním interferencím. Na druhé straně emise atomových čar prvků s nízkými a středními  $E_{il}$  a jejich  $S/B$  jsou v NAZ pro analýzu dostatečné.

- **VIRZ i NAZ klesá axiální rozdělení intenzity emise rekombinačního kontinua Ar s rostoucí  $h_p$**  (Obr. 2a). Díky tomu  $S/B$  všech čar s rostoucí  $h_p$  roste, dosahuje maxima při vyšší  $h_p$  než emise čary a po dosažení maxima klesá pozvolněji (Obr. 3a).



Obr. 3

Naproti tomu *molekulová emise* má průběh opačný, jak je zřejmé ze srovnání trendu pozadí v maximu pásu NH 336 nm a pozadí při vzdálenějších vlnových délkách, kde převládá spojitě záření argonu (Obr. 2b). Tuto skutečnost je třeba mít na paměti při měření pozadí v okolí čary za účelem korekce pozadí.

Je zřejmé, že při radiálním (laterálním) měření hraje výška pozorování při níž je snímán signál z NAZ významnou roli.

## 2.2 Radiální rozdělení intenzity emise čar a pozadí

Radiální rozdělení intenzity emise (emisivity) atomových i iontových čar vykazuje jeden ze dvou průběhů:

- ✓ jediné maximum ve středu kanálu,
- ✓ prstencovité maximum na rozhraní indukční oblasti a analytického kanálu.

V osovém řezu tedy dostáváme buď jedno nebo dvě maxima (obr. 1b). Je zřejmé že tvar radiálního rozdělení závisí na  $h_p$ , a podobně jako v případě axiálního rozdělení, i na  $P$  a  $F$ , zejména na  $F_c$  a dále na  $E_{exc}$  a  $E_i$  a na mechanismech excitace. Jak již bylo řečeno, zde uvedená radiální rozdělení odpovídají obvyklému průtoku  $F_c \sim 1 \pm 0,1$  l/min a obvyklému příkonu  $P \sim 1-1,3$  kW pro analýzu vodných roztoků.

- **Radiální rozdělení intenzity emise atomových čar s nízkými a středními hodnotami  $E_{il}$**  (např. Ba I 553,6 nm, Ca I 422,7 nm) mají jediné maximum v ose kanálu s výjimkou oblasti IRZ ( $h_p \leq 10$  mm), kde jsou 2 maxima na rozhraní kanál – indukční oblast, (obr. 1b).

- **Radiální rozdělení intenzity emise atomových čar s vysokými hodnotami  $E_{exc}$  některých prvků** (P I 253,6 nm, S I 469,4 nm, C I 247,9 nm, H $\beta$  486,1 nm a např. Ar I 415,9 nm) mají 2 maxima při  $h_p = 4$  až 10 mm, která jsou širší než v případě atomových čar s nízkými a středními hodnotami  $E_{il}$ . Jejich emise v NAZ je velmi nízká (obr. 1b). Je tomu tak proto, že se uvedené přechody excitují *indukční oblasti v blízkosti cívky* ( $h_p \leq 10$  mm), tedy, měřeno v radiálním směru, dále od analytického kanálu.

- **Radiální rozdělení intenzity emise iontových čar** jsou podobná radiálním rozdělením intenzity emise atomových čar s nízkými a středními  $E_{il}$ , avšak maximum v NAZ je širší a dvojitě maximum v IRZ je podstatně méně intenzivní, (obr. 1b).

- **Radiální rozdělení intenzity emise rekombinačního kontinua Ar** má naopak v ose kanálu minimum (je chladnější) a prstencovité maximum obklopující kanál.

Při měření v axiálním uspořádání je tedy zásadní správné vystředění osy výboje (analytického kanálu) vůči optické ose a odclonění záření pozadí z indukční oblasti.

### VI.2.3 Závislosti emise čar a pozadí na pracovních parametrech zdroje ICP

Rozdíly v prostorovém rozdělení intenzity emise různých spektrálních čar a jejich odlišnosti v chování při změně pracovních podmínek zdroje ICP vedly k jejich klasifikaci do dvou skupin. V literatuře 80. let bylo zavedeno rozdělení na „hard lines“ a „soft lines“.

- **Soft lines** jsou *atomové čáry prvků s nízkými a středními  $E_{i1}$* .
- **Hard lines** jsou:
  - ✓ *atomové čáry prvků s vysokými  $E_{i1}$*
  - ✓ *iontové čáry* - převážná většina.
- **Přechod mezi soft lines a hard lines** tvoří *iontové čáry s nízkými a středními  $E_{i2}$* , např. Ba II 455.403 nm a La II 408.672 nm; tyto prvky se ionizují v ICP do 2. stupně na  $X^{2+}$ .

Změny emise lze popsat následujícími trendy, přičemž mezi čarami *soft* a *hard* je plynulý přechod.

#### a) Intenzita emise čar typu *soft*:

- i) při  $h_p$  odpovídající  $NAZ$  a při konstantním  $F_c$  se s rostoucím  $P$  nemění nebo klesá, což je v prvním případě způsobeno tím, že zvýšení populace excitovaného stavu je právě kompenzováno úbytkem neutrálních atomů v důsledku zvýšení stupně ionizace, ve druhém případě pak převažujícím vlivem ionizace a tedy úbytkem neutrálních atomů emitujících *soft* čáru,
- ii) při  $h_p$  odpovídající  $NAZ$  a při konstantním  $P$  s rostoucím  $F_c$  roste, což je způsobeno zvýšením počtu excitovaných atomů prošlých pozorovanou oblastí za jednotku času, aniž by se významně uplatnilo zvýšené ochlazování kanálu.

#### b) Intenzita emise čar typu *hard*:

- i) při  $h_p$  odpovídající  $NAZ$  a při konstantním  $F_c$  s rostoucím  $P$  vzrůstá a to tím výrazněji,
  - ✓ čím vyšší je  $E_{sum}$  iontových čar  $X^+$  a současně čím vyšší je ionizační energie  $E_{i2}$  pro ionizaci iontu  $X^+$  do druhého stupně  $X^{2+}$ ,
  - ✓ čím vyšší je  $E_{exc}$  atomových čar a  $E_{i1}$  pro ionizaci do prvního stupně  $X^+$ .
- ii) při  $h_p$  odpovídající  $NAZ$  a při konstantním  $P$  se u závislosti na  $F_c$  objevuje maximum, které se s rostoucí *normovou teplotou* (tj. s přibývajícím charakterem *hard*) posouvá k nižším  $F_c$ .

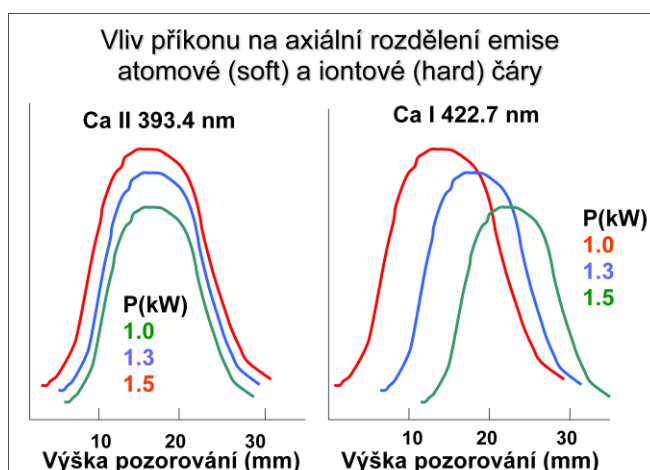
Parametry  $P$  a  $F_c$  ovlivňují prostorové rozdělení intenzity prostřednictvím teplotních a tokových polí. Roli průtoku nosného plynu lze závěrem shrnout do úvahy o kokurenci procesů transportu analytu a energie v analytickém kanálu. S rostoucím  $F_c$  se zvyšuje koncentrace analytu v kanálu a proto intenzita emise čar roste. Nad určitou hodnotu  $F_c$  však převládne ochlazování kanálu a intenzita emise čar klesá. Sledujeme-li intenzitu emise čar v závislosti na  $F_c$  a  $P$  podél celého axiálního rozdělení, pozorujeme změny ve velikosti a poloze maxim axiálních rozdělení intenzit emise.

- a) S rostoucím  $F_c$  se maxima posouvají k větším  $h_p$ . Tento posun závisí na:
  - i) lineární rychlosti transportu vzorku analytickým kanálem,
  - ii) době potřebné k odpaření a atomizaci
  - iii) excitačních a ionizačních energiích,
- b) S rostoucím  $P$  se maxima
  - i) atomových čar posouvají k menším  $h_p$ ,
  - ii) iontových čar příliš neposouvají a rozšiřují se k menším i větším  $h_p$ .

Vliv  $F_c$  v NAZ na průběh emise čáry, rekombinačního pozadí Ar a výsledného poměru  $S/B$  je zřejmý z Obr. 3b. Rozdílný vliv příkonu na axiální rozdělení intenzity emise atomové (soft) a iontová (hard) čáry vápníku (Ca I 422,7 nm a Ca II 393,4 nm) je znázorněn na obr. 4.

Také průtoky vnějšího plazmového plynu  $F_p$  a středního plazmového plynu  $F_a$  ovlivňují axiální rozdělení intenzity čar a pozadí. Volba průtoku  $F_p$  je vázána na příkon a provádí se s ohledem na dosažení stabilního výboje. Střední plazmový plyn se částečně mísí s nosným plynem a proto závisí intenzita emise čar, především typu *hard*, na jeho průtoku. Intenzita emise rekombinačního kontinua Ar s rostoucím  $F_a$  klesá. Změny intenzity jsou však menší než v případě změn vyvolaných  $F_c$ .

Z uvedených trendů intenzit čar a pozadí v závislosti na podmínkách zdroje ICP vyplývají i průběhy axiálních rozdělení hodnot poměrů  $S/B$ , případně průběhy jejich reciprokých hodnot  $BEC$  (Background Equivalent Concentration). Jak již bylo nekolikrát konstatováno, *optimální výška pozorování*  $h_p$  závisí především na příkonu do plazmatu  $P$  a průtoku nosného plynu  $F_c$ . Optimalizačním kritériem je obvykle poměr signálu  $S$  čáry (při jednotkové koncentraci analytu) k pozadí  $B$ , tedy  $S/B$ , nebo jeho převrácená hodnota *koncentrace ekvivalentní pozadí* (*Background Equivalent Concentration - BEC*), viz obr. 5.



Obr. 4

$$BEC = \frac{1}{(S/B)} = \frac{I_B}{(I_L/c_A)} \quad (1)$$

kde  $I_B$  je intenzita emise pozadí,  $I_L$  je intenzita emise čáry a  $c_A$  je koncentrace analytu, při níž je intenzita  $I_L$  naměřena. Toto kritérium má význam především pro stanovení nízkých koncentrací, neboť mez detekce  $c_L$  definovaná jako koncentrace odpovídající trojnásobku standardní odchylky pozadí je vyjádřena pomocí  $BEC$  vztahem

$$c_L = 3RSD_B \times BEC \quad (2)$$

kde  $RSD_B$  je relativní směrodatná odchylka pozadí ve formě zlomku. Nejnížší meze detekce je tedy dosaženo při maximálním poměru  $S/B$ , resp. při minimální hodnotě  $BEC$ . Pro požadovanou vysokou přesnost a opakovatelnost měření signálu při stanovení koncentrací hlavních složek je vhodnější optimalizovat podmínky měření s ohledem na dosažení maximální hodnoty poměru signálu čáry k jeho šumu,  $S/N$ . Při pracovních podmínkách ICP pro maximální hodnoty poměru  $S/B$  jsou také pozorovány pouze malé nespektrální

interference osnovy; změny signálu analytu vlivem osnovy bývají menší než 10 %. Maximálního poměru  $S/B$  se dosahuje při měření v analytické zóně.

Průběhy poměrů  $S/B$  lze zobecnit pro případy, kdy se uplatňuje jako pozadí jen spojitě rekombinační záření argonu takto:

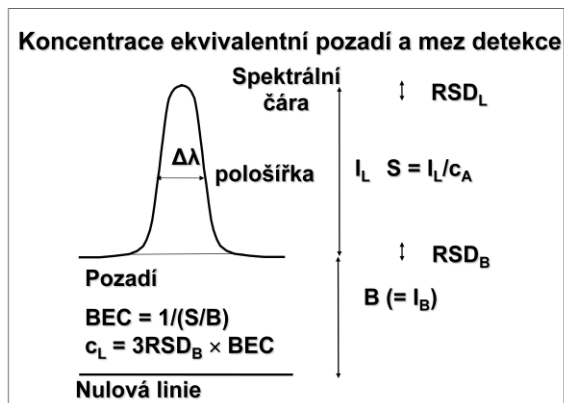
- Poměr  $S/B$  čar typu *soft* s rostoucí  $h_p$  vzrůstá podél celého analytického kanálu při daném  $P$  a  $F_c$ .
- Poměr  $S/B$  čar typu *hard* s rostoucí  $h_p$  prochází maximum v analytické zóně při daném  $P$  a  $F_c$ . Toto maximum je při optimálních hodnotách  $P$  a  $F_c$  vhodné pro analytická měření.
- Poměr  $S/B$  se s rostoucí hodnotou  $P$  obvykle snižuje.

Průtok nosného plynu, příkon do plazmatu a výška pozorování jsou označovány za hlavní faktory ovlivňující intenzitu čar a pozadí. U některých systémů je přidáván k nosnému plynu v trase mezi mlžnou komorou a injektorem „přídavný plyn“ (fr. *gaz de gainage*) neboli také „stínící plyn“ (angl. *sheath gas*). Tento tangenciálně zaváděný proud Ar obklopuje proud nosného plynu a minimalizuje tak usazování aerosolu v injektoru (paměťový efekt), současně však ovlivňuje podmínky v analytickém kanálu.

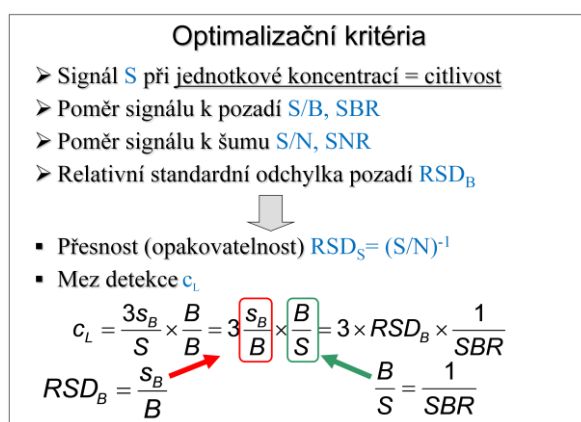
Menším vlivem se uplatňují průtoky vnějšího a prostředního plazmového plynu. K těmto dvěma vedlejšími faktorům se řadí také rychlost transportu roztoku do pneumatického zmlžovače pumpou. Zvyšováním průtoku roztoku nad hodnotu tzv. volného odběru určenou sacím efektem zmlžovače (týká se především koncentrického zmlžovače Meinhardova typu) se mírně snižuje intenzita signálu a vzrůstá šum. Omezením průtoku roztoku pod hodnotu volného odběru (tzv. *starving nebulizer*) lze dosáhnout zvýšení intenzity a zlepšení poměru  $S/N$ .

## 2.4 Postup optimalizace a používané metody

Optimalizační kritéria a odvození veličiny  $BEC$  jsou uvedeny na Obr. 6. Optimalizace podmínek ( $h_p$ ,  $F_c$ ,  $F_a$ ,  $F_p$ ,  $P$ ) relaxační metodou (změna jednoho parametru při zachování konstantních hodnot ostatních) za účelem dosažení maximální hodnoty  $S/B$  (minimální hodnoty  $BEC$ ) nebo maximální hodnoty intenzity emise čáry  $I_L$  je poměrně pracná a nezajišťuje spolehlivé nalezení optima. Efektivní je Nelder-Meadova varianta metody simplexu, která využívá změny tvaru a velikosti simplexu v závislosti na strmosti růstu účelové funkce.



Obr.5



Obr. 6



Při optimalizaci podmínek měření pro stanovení středních a vyšších obsahů složek, u nichž je kladen důraz na přesnost a správnost stanovení, jsou účelovými funkcemi poměr  $S/N_S$  signálu  $S$  k šumu signálu  $N_S$ , velikost signálu  $S$  (citlivost), a velikost nespektrálních (multiplikatивních) interferencí osnovy.

Při optimalizaci podmínek měření pro stanovení nízkých a stopových obsahů je účelovou funkcí poměr signálu k pozadí  $S/B$ , jehož souvislost s mezí detekce vyplývá ze vztahů 1 a 2. Z uvedených vztahů je také zřejmé, že další účelovou funkcí je relativní standardní odchylka intenzity pozadí,  $RSD_B$ , nebo její převrácená hodnota, t.j. poměr  $B/N_B$  pozadí  $B$  k jeho šumu  $N_B$ .

Vzhledem k rozdílnému průběhu závislostí intenzity čáry a intenzity pozadí na pracovních parametrech ICP (především na  $P$ ,  $F_c$  a  $h_p$ ) lze očekávat, že při dosažení maximálního poměru  $S/B$  je velikost signálu  $S$  (čistě intenzity  $I_L$ ) zpravidla mimo své maximum a tedy měření není robustní. V takovém případě je třeba rozhodnout, zda není výhodnější snížit riziko driftu signálu za cenu poněkud horší meze detekce. Při optimalizaci pro víceprvkovou analýzu se obvykle klade důraz na klíčový prvek a volí se kompromisní podmínky (jednotná  $h_p$ ,  $F_c$  a  $P$ ). Je-li například stanovována skupina tzv. toxických kovů, pak se optimalizují podmínky pro dosažení nejnižší meze detekce olova, neboť ta při přímé analýze s ICP-AES obtížně splňuje normativní požadavky.

Objektivní přístup k optimalizaci pro víceprvkovou analýzu představuje použití kombinované účelové funkce tvořené váženým průměrem účelových funkcí jednotlivých prvků. Statistické váhy jednotlivých prvků odrážejí jejich relativní důležitost a dále rozdíl mezi skutečnými a požadovanými parametry stanovení.

Řada přístrojů je vybavena optimalizačními programy nebo nabídkou standardních podmínek pro určité typy analýz (vodné roztoky, organická rozpouštědla). Protože výška pozorování  $h_p$  měřená od indukční cívky je údaj charakteristický jen pro konkrétní přístroj (a to navíc jen s konkrétní plazmovou hlavicí), byl zaveden tzv. *vnitřní vztahový bod* (*Internal Reference Point*). Tento bod obvykle udává rozhraní mezi *IRZ* a *NAZ*. Pro jeho vizuální indikaci bylo využíváno intenzivní červené emise molekul YO nebo emise čar Na a v případě organických rozpouštědel zelených Swanových pásů ( $C_2$ ) v *IRZ*. Měřením se tento bod určuje jako průsečík axiálních rozdělení intenzity atomové a iontové čáry. Optimální výška pozorování je pak udávána 5 mm nad tímto vztahovým bodem. Pro diagnostiku ICP se používá poměr intenzit čar Mg II 280.270 nm a Mg I 285.213 nm.

### 3 Analytické spektrální čáry, korekce spektrálních interferencí a pozadí

Výběr analytických čar pro stanovení v konkrétní osnově vzorku se provádí

- i) s ohledem na obsah stanovované složky;
- ii) s uvážením možných spektrálních interferencí.

Při použití spektrometrů s axiálním pozorováním výboje je pravděpodobné, že při stanovení hlavních složek, například v silikátových surovinách (Si, Al, Ca, Mg, Na, K) na citlivých čarách dojde k saturaci detektorů záření. Čáry některých prvků (Mg, Ca) kromě toho vykazují samoabsorpci a kalibrační závislosti pak zakřivení. Kromě použití méně citlivých čar je řešením měření signálů hlavních složek při radiálním (laterálním)

pozorování výboje a měřením signálů stopových obsahů při axiálním pozorování, což umožňují spektrometry označované jako „dual view“.

Spektrální interference lze klasifikovat takto:

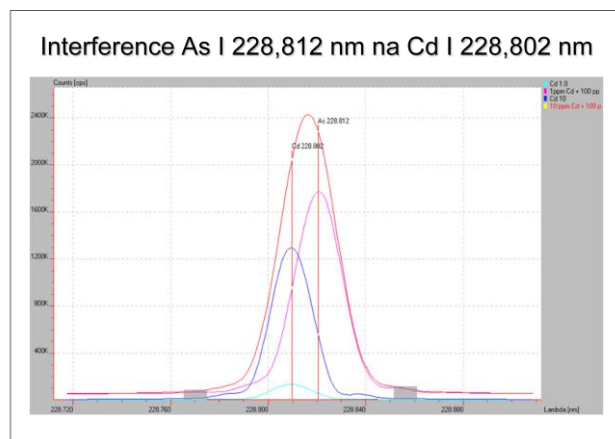
- i) přímá koincidence spektrálních čar nerozlišitelná ve spektrálním přístroji;
- ii) překryv čar závislý na propouštěném spektrálním intervalu spektrometru;
- iii) překryv křídlem rozšířené čáry;
- iv) interference vyvolaná strukturním pozadím;
- v) rozptýlené záření.

Interference typu *i)* až *iii)* lze eliminovat volbou alternativních čar analytů, které danými typy interferencí nejsou ovlivněny. Tuto možnost plně poskytují simultánní spektrometry typu echelle se zkříženou optikou a plošnými polovodičovými detektory. Většina prvků má alespoň jednu citlivou analytickou čaru, která není spektrálně rušena. Teprve v případech, kdy tato možnost selhává, lze provést matematické korekce spektrálních interferencí. Tato varianta však v sobě skrývá riziko výrazného zvýšení nejistoty měření v důsledku platnosti Gaussova zákona o hromadění chyb. Ukázka překryvu čáry Cd I 228,802 nm, čarou As I 228,812 nm při různých koncentračních poměrech je uvedena na Obr. 7.

Korekce spektrální interference je obvykle kombinací korekce pozadí a korekce překryvu čarou. Při korekci pomocí korekčních faktorů se od nekorigované koncentrace  $j$ -tého analytu  $c_{xj}$  vypočtené z kalibrační přímky odečítá zdánlivá koncentrace analytu vyjádřená jako součin korekčního faktoru  $a_{ij}$  a koncentrace  $c_i$   $i$ -tého rušícího prvku, stanovené na jeho analytické čáře. Pro  $n$  interferentů se vypočte korigovaná koncentrace  $j$ -tého analytu  $c_j$  podle vztahu

$$c_j = c_{xj} - \sum_{i=1}^n c_i a_{ij} \quad (3)$$

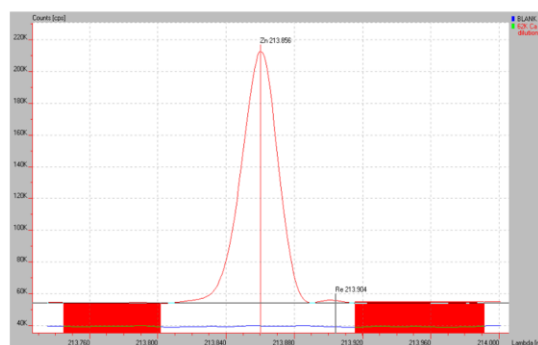
Korekční faktor je zdánlivá koncentrace analytu vyvolaná spektrálním rušením za přítomnosti jednotkové koncentrace interferentu. Korekční faktor je tedy poměr citlivostí analytické a rušící čáry při vlnové délce maxima analytické čáry. Tato korekce vychází z předpokladu lineární závislosti signálu na koncentraci analytu i rušících složek. Při víceprvkovém vzájemném ovlivnění se sestaví soustava rovnic (3) pro  $j = 1$  až  $n$ -tý analyt, která se po úpravě řeší např. Gauss-Jordanovou eliminační metodou. Bylo navrženo také měření intenzity na odvráceném křídle profilu rušící čáry symetricky vzhledem k poloze rušené čáry. Naměřená intenzita pozadí je pak rovna intenzitě pozadí při vlnové délce maxima analytické čáry. Další postupy pro korekci interferencí jsou založeny na dekonvoluci spekter, Kalmanově filtraci a multikomponentním přístupem.



Obr. 7

Při korekci pozadí se volí obvykle 2 korekční body nebo jeden korekční bod v blízkosti čáry v případě, že pozadí nezávisí na vlnové délce, Obr.8. Dva korekční body se volí po obou stranách spektrální čáry v případě, že pozadí lineárně roste nebo klesá s vlnovou délkou a hodnotu intenzity emise pozadí v maximu analytické čáry lze vypočítat lineární interpolací Obr. 9. Roste-li pozadí nelineárně monotónně (vliv křídla intenzivní čáry), lze průběh pozadí při vlnové délce maxima rušené čáry vypočítat na základě aproximace například polynomem druhého stupně Obr.10. V případě strukturního pozadí je jeho průběh obvykle složitý a při jednoduché jednobodové nebo dvoubodové korekci pozadí dochází k překompensování nebo nedokompensování pozadí. Systematický rozdíl pak odpovídá absolutnímu úseku na kalibrační přímce.

Korekce pozadí nezávislého na  $\lambda$  „flat background“



Obr.8

Spektra spojitě registrovaná v okolí analytické čáry mohou být počítačově dále zpracovávána. Derivační spektrometrie odhaluje přítomnost spektrálních interferencí, které nemusí být v nederivovaném spektru dobře patrné. Integrovaním plochy profilu spektrální čáry a porovnáním růstu tohoto integrálu v závislosti na koncentraci analytu s růstem intenzity v maximu čáry lze odhalit samoabsorpci. Odečítání spekter je výhodné při analýze vysoce čistých látek. Spektrální čáry hlavních složek se anulují a objeví se pouze čáry nečistot.

Korekce pozadí lineárně proměnného s  $\lambda$  „sloping background“ lineární interpolací

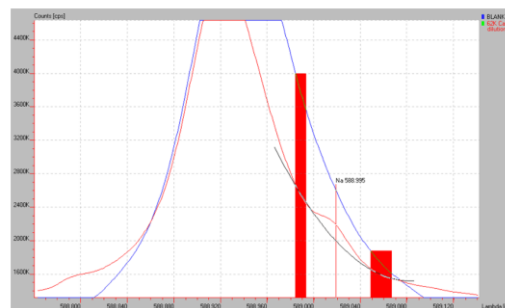


Obr. 9

Vliv spektrálních čar hlavních složek vzorku lze demonstrovat například na geologických a příbuzných materiálech. Nejvýznamnějšími interferenty při analýze geologických materiálů, silikátových surovin, skel a keramických materiálů jsou vápník a hořčík.

*Rozptýlené záření* intenzivních čar těchto prvků se může významně podílet na zvýšení pozadí. Příčinu rozptýleného záření lze odstranit pásmovým interferenčním filtrem, například BRF Ca 395, který nepropouští do spektrometru záření nejintenzivnějších čar vápníku Ca II 393.366 nm a Ca II 396.847 nm.

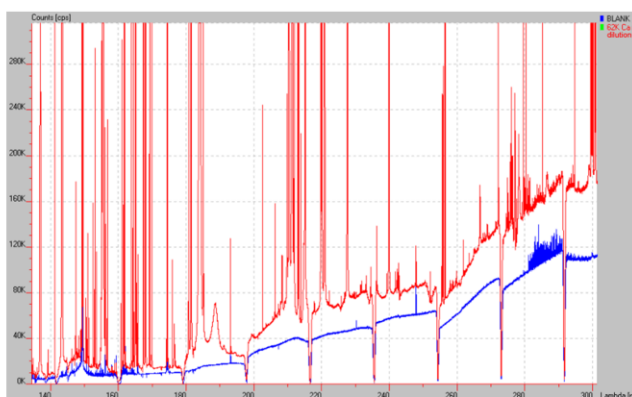
Korekce pozadí nelineárně proměnného s  $\lambda$  „sloping background curved“ aproximací parabolickým průběhem



Obr. 10

Vápník a hořčík vykazují i významná rekombinační kontinua, která mohou značně zhoršit meze detekce. Spojité rekombinační záření vápníku je pozorováno při vlnových délkách okolo 202 nm a dále nad 302 nm. Rekombinační kontinuum hořčíku zaujímá spektrální oblasti pod 162 nm, pod 255 nm a dále v intervalu 257-274 nm. Také hliník vykazuje rekombinační kontinuum kolem 210 nm.

Srovnání pozadí v HNO<sub>3</sub> a v 6% roztoku Ca



Obr. 11

Složité spektrum v přítomnosti koncentrovaného roztoku vápníku (6 %) ve srovnání s pozadím při zmlžování pouze kyseliny dusičné ukazuje Obr. 11, na němž je zřejmý zdvih pozadí a přítomnost velkého počtu čar vápníku.

Jako příklady tzv. prominentních analytických čar jsou uvedeny spektrální čary prvků stanovených ve sklech a sklářských surovinách jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1 Prominentní analytické čáry některých prvků stanovovaných ve sklech a sklářských surovinách,  $c_L$  – mez detekce

Prvek	s. čára (nm)		$c_L$ (mg/l)	Prvek	s. čára (nm)		$c_L$ (mg/l)	Prvek	s. čára (nm)		$c_L$ (mg/l)
Si	I	251,611	0,012	Zn	I	213,856	0,0018	Mn	II	257,610	0,0014
Si	I	212,412	0,016	Zn	II	202,548	0,0040	Mn	II	259,373	0,0016
Si	I	288,158	0,027	Zn	II	206,200	0,0059	Mn	II	260,569	0,0021
B	I	249,773	0,0048	Cd	II	214,438	0,0025	Co	II	238,892	0,0060
B	I	249,678	0,0057	Cd	I	228,802	0,0027	Co	II	228,616	0,0070
B	I	208,959	0,010	Cd	II	226,502	0,0034	Co	II	237,862	0,0097
P	I	213,618	0,076	Al	I	309,271	0,023	Ni	II	221,647	0,010
P	I	214,914	0,076	Al	I	396,152	0,028	Ni	II	231,604	0,015
P	I	253,565	0,272	Al	I	308,215	0,045	Ni	II	216,556	0,017
Na	I	588,995	0,029	Ti	II	334,941	0,0038	Cu	I	324,754	0,0054
Na	I	589,592	0,069	Ti	II	336,121	0,0053	Cu	II	224,700	0,0077
Na	I	330,237	1,875	Ti	II	337,280	0,0067	Cu	I	327,396	0,0097
K	I	766,491	0,20	Zr	II	343,823	0,0071	Au	I	242,795	0,017
K	I	404,721	42	Zr	II	339,198	0,0077	Au	I	267,595	0,031
K	I	404,414		Zr	II	349,621	0,010	Au	I	197,819	0,038
Li	I	670,784	0,003	Fe	II	238,204	0,0046	Pt	II	214,423	0,030
Li	I	610,362	0,033	Fe	II	239,562	0,0051	Pt	II	203,646	0,055
Li	I	460,286	0,857	Fe	II	259,940	0,0062	Pt	I	265,945	0,081
Mg	II	279,553	0,00015	Cr	II	205,552	0,0061	Ce	II	413,765	0,048
Mg	II	280,270	0,00030	Cr	II	206,149	0,0071	Ce	II	413,380	0,050
Mg	II	285,213	0,0016	Cr	II	267,716	0,0071	Ce	II	418,660	0,052
Ca	II	393,366	0,00019	Pb	II	220,353	0,042	Pr	II	390,844	0,047
Ca	II	396,847	0,00050	Pb	I	216,999	0,090	Pr	II	414,311	0,037
Ca	II	317,933	0,010	Pb	I	283,306	0,142	Pr	II	417,939	0,041
Ca	I	422,673	0,010	Sn	II	189,989	0,025	Nd	II	401,225	0,050
Sr	II	407,771	0,00042	Mo	II	202,030	0,0079	Nd	II	430,358	0,075
Sr	II	421,552	0,00077	Mo	II	203,844	0,012	Nd	II	406,109	0,096
Sr	II	216,596	0,0083	Mo	II	204,598	0,012	Er	II	337,271	0,010
Ba	II	455,403	0,0013	V	II	309,311	0,0050	Er	II	349,910	0,017
Ba	II	493,409	0,0023	V	II	292,402	0,0075	Er	II	323,058	0,018
Ba	II	233,527	0,0040	V	II	290,882	0,0088				

#### 4 Nespektrální interference

Přes veškeré pozitivní vlastnosti, kterými se budicí zdroj ICP odlišuje od řady dalších, v něm existují *nespektrální interference* (interference osnova vzorku) Nespektrální interference se často vyjadřuje jako poměr

$$X = \frac{I_L^M}{I_L} \quad (4)$$

kde  $I_L$  je čistá, tj. na pozadí korigovaná intenzita čáry analytu naměřená s čistým roztokem a  $I_L^M$  je čistá intenzita naměřená za přítomnosti interferentu o určité koncentraci. Běžné je také vyjádření rozdílu (zvýšení, snížení) v %:

$$X = \left( \frac{I_L^M}{I_L} - 1 \right) \times 100 \quad (5)$$

Nespektrální interference jsou *multiplikativní*. Při konstantní koncentraci interferentu  $X$  zpravidla *nezávisí* na koncentraci analytu a vyjadřuje tak poměr směrnic kalibračních závislostí analytu v čistém roztoku a za přítomnosti interferentu. Při konstantní koncentraci analytu však  $X$  zpravidla *závisí* na koncentraci interferentu. Tyto interference ovlivňuje řada parametrů ICP:

- konstrukce a frekvence oscilátoru,
- konfigurace plazmové hlavice,
- složení a průtoky plynů,
- příkon do plazmatu,
- zobrazení výboje a výška pozorování.

Při optimálních podmínkách (*NAZ*) nejsou pozorovány *vypařovací interference* známé z plamenové fotometrie, například depresivní vliv fosforu nebo hliníku při stanovení vápníku. Podle místa vzniku lze pozorované nespektrální interference rozdělit na:

- a) interference transportní (zmlžovač, mlžná komora, trasa transportu aerosolu),
- b) interference v plazmatu.

Vliv těchto interferencí na správnost výsledků lze minimalizovat optimalizací podmínek měření s využitím vhodných kritérií ( $S/B$ ,  $MgII/MgI$ ) vhodnou přípravou analyzovaných vzorků, přibližným modelováním kalibračních roztoků a použitím *porovnávacího prvku* („vnitřního standardu“). K nejčastěji uváděným a nejvíce studovaným interferentům patří *snadno ionizovatelné prvky* (Easily Ionizable Elements EIE) a *minerální kyseliny*. Byl studován také vliv *ostatních kationtů* a *aniontů*. Je zde zřejmá souvislost s rozklady vzorků tavením nebo působením kyselin. Podrobně je o nespektrálních interferencích pojednáno ve sborníku *4. kurs ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2008, ISBN 80-903732-4-0*.

## 5 Přesnost a správnost stanovení složek vzorku

Stanovení hlavních složek klade extrémní nároky na kompenzaci matričních interferencí (nespektrálních interferencí osnova vzorku), instrumentálního driftu i šumu s velkým podílem vyšších frekvencí. Podmínky měření s ICP-AES jsou nastaveny tak, aby bylo dosaženo maximální citlivosti (směrnice kalibrační přímky), maximálního poměru signálu k šumu a minimálního matričního efektu (minimální deprese signálu v přítomnosti matričního prvku ve srovnání s čistým roztokem bez matrice). Z instrumentálních parametrů zdroje ICP se nejvíce uplatňuje výška pozorování, průtok nosného plynu a příkon do plazmatu. Pro stabilitu signálu je zásadní, aby jeho změna způsobená odchylkou od nastavení těchto parametrů byla minimální. Obvykle největší měrou se z komponent ICP zdroje uplatňuje zmlžovač a mlžná komora. U vlastního spektrometru je rozhodující reprodukovatelnost nastavení vlnových délek v případě monochromátoru a tepelně-mechanická stabilita polychromátoru. Stanovení hlavních složek vyžaduje kontrolu optimálního nastavení spektrometru pomocí diagnostiky s měřením čar Zn, Mg, Ba a Ar, kalibrování roztoky s přizpůsobenou osnovou, použití porovnávacího prvku a kontrolu pomocí známého vzorku. Při stanovení vysokého obsahu v materiálu, který obsahuje jen jednu hlavní komponentu (například SiO<sub>2</sub> ve sklářském písku), je třeba vypočítat také horní mez stanovitelnosti a obsah vyšší než je tato hodnota určovat odečtením součtu obsahů minoritních složek od 100%. Při kontrole výsledků kompletní analýzy, kdy se stanoví všechny hlavní, vedlejší a doprovodné složky, se obvykle sečtou všechny výsledky a jejich součet se porovná s teoretickou hodnotou 100%. Jsou-li známy rozptyly pro jednotlivá stanovení, pak je celkový rozptyl součtu všech výsledků vypočítán jako součet rozptylů jednotlivých výsledků a rozdíl součtu výsledků od 100% lze brát jako statisticky významný na dané hladině pravděpodobnosti  $P = 0,997$  jen tehdy, leží-li vně intervalu,

$$100 - \frac{3\sigma_c}{\sqrt{n_A}} \leq \sum_{j=1}^m x_j \leq 100 + \frac{3\sigma_c}{\sqrt{n_A}} \quad (6)$$

kde  $\sigma_c$  je standardní odchylka součtu výsledků  $\sum_{j=1}^m x_j$ .

Dopočítávání výsledků kompletní analýzy do známé sumy (například 100%) používané například v silikátové analýze rentgenfluorescenční spektrometrií nelze v ICP-AES obecně doporučit bez předchozího experimentálního sledování trendů všech analytických signálů v čase, tj. v případě driftu. V závislosti na spektrochemických vlastnostech analytů mohou být tyto trendy u různých analytických čar protichůdné a „korekce na sumu“ způsobuje závažné systematické chyby.

Přesnost stanovení obsahů doprovodných a stopových složek je závislá zejména na velikosti těchto obsahů (koncentrací) vzhledem k mezím detekce příslušných prvků. Hodnota meze detekce je přímo úměrná koncentraci ekvivalentní pozadí (tj. nepřímo úměrná poměru signálu k pozadí) a vzrůstá s rostoucí standardní odchylkou pozadí. Méně se uplatňuje změna směrnice kalibrační přímky v důsledku matriční interference (obvykle je v rozmezí  $\pm 5\%$  RSD) nebo driftu přístroje. Použití porovnávacího prvku přináší proto jen nevýznamná zlepšení. Maximálního poměru signálu k pozadí se obvykle (zejména v případě iontových čar)

dosahuje ve stejné výšce pozorování a při stejném průtoku nosného plynu jako v případě minimálních matričních interferencí. Směrodatnou odchylku pozadí (stejně jako směrodatnou odchylku signálu analytu) lze snížit prodloužením doby měření signálu. Doba měření signálu, označovaná u přístrojů s detekcí záření fotonásobiči jako integrační čas a u spektrometrů s detektory CCD jako vzorkovací čas (sampling time), se obvykle pohybuje od jednotek sekund až do cca 30 s. Relativní standardní odchylka pozadí i signálu analytu je obvykle nepřímo úměrná integrační době nebo její druhé odmocnině. Hodnoty RSD < 1 % se dosahuje při měřicích časech delších než 3 až 5 s. Přesnost a správnost měření je však výrazně ovlivněna zejména spektrálními pozadími a jeho korekcí, a dále přítomností spektrálních interferencí a jejich korigováním. Nekorigovaný, případně chybně korigovaný signál analytu je zatížen systematickou chybou. Korigovaný signál je naopak zatížen náhodnou chybou, která je dána kumulací náhodných odchylek při matematických operacích s korekčním algoritmem. Výsledná chyba vypočítaná podle Gaussova zákona o skládání chyb může být v některých případech tak velká, že korigovaný signál (čistá intenzita čáry analytu) je statisticky nevýznamně odlišný od nuly, i když svou velikostí dostatečně převyšuje signál odpovídající tzv. instrumentální mez detekce. Instrumentální mez detekce je vyjádřena jako trojnásobek standardní odchylky pozadí při zmlžování destilované vody a představuje ideální minimum, jehož nelze za podmínek rutinní analýzy reálných vzorků dosáhnout. Není vzácností, že reálné meze detekce jsou o jeden až dva řády vyšší než tyto instrumentální meze detekce. Důležitější než mez detekce je však mez kvantifikace (také mez stanovitelnosti), definovaná jako koncentrace, která je stanovena s relativní směrodatnou odchylkou 10 % (případně 5 %). Stejně jako mez detekce i mez kvantifikace je odlišná pro čisté roztoky a reálné vzorky. Aktuální hodnota meze detekce, resp. meze stanovitelnosti, se obvykle mění v čase a pohybuje v určitém intervalu hodnot. Nelze proto spoléhat na hodnotu vypočítanou z jedné série měření a je naopak třeba provádět kontrolu před zahájením analýz. Mez detekce je dále závislá na hodnotě slepého pokusu.

Stanovení obsahu vedlejších složek ICP-AES je méně kritické než stanovení hlavních složek nebo stopových obsahů. Koncentrace vedlejších složek představují hodnoty přibližně 3 až 4 řády nad mezemi detekce a proto vliv pozadí a jeho korekce je málo významný. Povolené tolerance (např. u některých silikátových surovin) jsou v dané koncentrační oblasti příznivější ve vztahu k dosažitelné přesnosti analytického signálu. Kompenzace matričních interferencí, krátkodobých fluktuací i driftu pomocí porovnávacího prvku má větší význam než při stanovení doprovodných nebo stopových složek. Nadbytek hlavní složky (hlavních složek) je nižší než vůči doprovodným a stopovým složkám, a proto i příspěvky případných spektrálních interferencí způsobených hlavními složkami jsou menší a nejistota plynoucí z provedení matematické korekce nepřispívá příliš významně k celkové nejistotě výsledku.

## **6 Použití porovnávacího prvku**

Použití porovnávacího prvku („vnitřního standardu“) má ve spektroskopii tradici od poloviny 20. let 20. století. V roztokové analýze s ICP-AES se od porovnávacího prvku očekává: *i*) zlepšení přesnosti měření, tj. kompenzace šumu vyšších frekvencí; *ii*) zlepšení správnosti měření kompenzací driftu (nízkofrekvenčního šumu); *iii*) zlepšení správnosti měření



kompensací nespektrálních vlivů osnova. Pro správnou funkci porovnávacího prvku musí být současně splněny 4 podmínky:

1) signály analytu a porovnávacího prvku musí korelovat v závislosti na malé změně pracovních podmínek ICP zdroje (simulace driftu); přičemž korelační koeficient musí být blízký jedničce;

2) poměr relativních směrodatných odchylek  $b = \sigma_{P,r} / \sigma_{A,r}$  signálů  $I_P$  a  $I_A$  porovnávacího prvku a analytu musí být blízký jedničce;

3) pokud není hodnota pozadí zanedbatelná vzhledem k signálům  $I_P$  a  $I_A$ , je nutno provést před výpočtem poměru  $I_A/I_P$  korekci pozadí;

4) šum detekčního systému musí být zanedbatelný vůči šumu zdroje ICP. Zlepšení  $R_P$  dosažené použitím porovnávacího prvku je definováno vztahem

$$R_P = \frac{\sigma_{A,r}}{\sigma_{(A/P),r}} \quad (7)$$

kde  $\sigma_{A,r}$  a  $\sigma_{(A/P),r}$  jsou relativní směrodatná odchylka signálu analytu  $I_A$  a relativní směrodatná odchylka podílu  $I_{(A/P)} = I_A/I_P$ . Je-li splněna podmínka 1) a současně  $b \neq 1$ , lze vypočítat  $R_P$  podle vztahu

$$R_P = \left| \frac{b}{b-1} \right| \quad (8)$$

Pro platnost podmínky 2) a  $r < 1$  je zlepšení přesnosti dáno vztahem

$$R_P = \frac{1}{\sqrt{2(1-r)}} \quad (9)$$

Porovnávací prvek musí splňovat následující podmínky: a) přirozený obsah porovnávacího prvku ve vzorcích musí být nižší než jeho mez detekce metody ICP-AES; b) preparát porovnávacího prvku musí být dostatečně čistý, aby jeho přídavek nezvyšoval slepý pokus pro analyty; c) spektrum porovnávacího prvku nesmí obsahovat příliš mnoho spektrálních čar, aby nedocházelo ke spektrálnímu rušení čar analytů; d) porovnávací čára prvku musí být přiměřeně citlivá, aby koncentrace vnitřního standardu mohla být co nejnižší; e) porovnávací prvek musí být v roztoku stálý, tj. nesmí tĕkat, tvořit nerozpustné hydrolytické produkty nebo tvořit sraženiny s ionty analytů či se složkami osnova vzorku.

V normální analytické zóně ICP převažují zejména prvkově nespecifické nespektrální interference (snížení signálu), obvykle interference zmlžování. V takovém případě jediný porovnávací prvek kompenzuje deprese signálů všech analytů. Složitější je otázka driftu parametrů ICP, zejména průtoku nosného plynu a příkonu do plazmatu, protože signály analytů reagují na tyto změny různě podle ionizačních a excitačních energií. Důsledkem je pak často protichůdný trend; intenzita některých čar s časem roste, jiných klesá. Diagnostiku driftu lze provádět měřením čar vybraných prvků (Ba II 455,4 nm, Zn II 206,2 nm, Ar I 404,4 nm, Mg I 285,2 nm, Mg II 280,2 nm). Teoretickým, avšak nikoli příliš praktickým řešením je použití několika vhodných porovnávacích prvků. Pro rutinní analýzy se nejčastěji jako porovnávací prvek používá skandium nebo ytrium a referenční čára je iontová (II).

Porovnávací prvek lze dávkovat buď při přípravě roztoků před doplněním odměrné baňky nebo dodatečně s využitím funkce podavače vzorků.

## *7 Postup při vývoji metodiky a závěr pro správnou laboratorní praxi*

Při vývoji metodiky stanovení je vhodné postupovat podle určitého schématu. Postup optimalizace měření s ICP může být zachycen v následujících bodech:

1. Na základě známého složení typu vzorku se zvolí vhodné spektrální čáry. Kritériem jsou požadované meze detekce, citlivost čar a případné spektrální interference.
2. Ověří se linearita kalibrace k vyloučení případné samoabsorpce.
3. Pro očekávané koncentrace a koncentrační poměry jednotlivých složek se měřením jednoprvkových roztoků interferentů ověří předpokládané spektrální interference a zvolí se body pro korekci pozadí.
4. Optimalizují se parametry ICP: příkon do plazmatu, průtok nosného plynu, rychlost čerpání roztoku do zmlžovače v případě radiálního ICP výška pozorování, v případě axiálního ICP centrování kanálu vůči optické ose. Optimalizace se provede s čistými roztoky s cílem dosáhnout obvykle maximálního poměru signál/pozadí a minimálního poměru signál/šum. Čistým roztokem se rozumí roztok obsahující analyt v prostředí pouze zředěné kyseliny (k zabránění hydrolýze) a odpovídající slepý roztok. Měření se provádí s vypnutou korekcí pozadí, aby se neztratily informace o změnách pozadí, měřeného on-peak při zmlžování slepého roztoku.
5. Za optimalizovaných podmínek se ověří vliv kyselin a tavidel používaných k rozkladu vzorku na směrnice kalibračních závislostí. Změří se velikost nespektrální interference osnovy (obvykle deprese signálu ve srovnání s čistými roztoky) a závislost této nespektrální interference na koncentraci tavidel a kyselin v přiměřeném rozmezí. Ověří se linearita kalibračních závislostí pro požadovaný koncentrační rozsah. Vyhodnotí se kompenzace efektu osnovy porovnávacími prvky. Vyvodí se závěry pro přípravu kalibračních roztoků z hlediska obsahu tavidel a kyselin, zejména rozmezí obsahů těchto reagentů, při nichž není pozorována změna analytických signálů.
6. Jestliže byly zjištěny podle bodu 2 spektrální interference, které nelze korigovat měřením a odečtem pozadí, změří se hodnoty korekčních faktorů v přítomnosti tavidel a kyselin používaných k rozkladu. Korekční faktory takto zjištěné mají obvykle mírně odlišné hodnoty ve srovnání s hodnotami naměřenými s čistými roztoky. Určí se meze detekce v přítomnosti osnovy.
7. Řízenou změnou parametrů ICP v definovaném malém rozmezí (průtoky, příkon, výška pozorování) se změří trendy signálů jednotlivých analytů v úplné osnově (včetně tavidla a kyselin) a zjistí se, zda jsou tyto trendy kompenzovány porovnávacími prvky. Tyto trendy lze pak předpokládat v případě driftu přístroje.
8. Vyhodnotí se kompenzace skutečného driftu porovnávacím prvkem v průběhu měření modelového nebo vybraného sériového vzorku v delším časovém úseku. Zvolí se optimální porovnávací prvek. Odhadne se nutný časový interval mezi provedením kalibrací (rekalibrací).

9. Zjistí se opakovatelnost měření a shodnost s certifikovanými hodnotami referenčních materiálů případně modelových vzorků, pokud nejsou referenční materiály k dispozici. Přiměřenou pozornost je třeba věnovat přípravě roztoků pro optimalizaci i kalibračních roztoků a modelových vzorků. Je prokázáno, že nezanedbatelná část problémů měření s ICP je způsobena právě hrubými chybami v této pracovní fázi. Při přípravě multielementárních pracovních roztoků z několika zásobních roztoků mohou proběhnout nežádoucí chemické reakce mezi ionty a ovlivnit tak správnost složení pracovních roztoků. Příkladem může být přidavek zásobního roztoku prvku (Ti, Nb, Ta) obsahujícího malé množství kyseliny fluorovodíkové do skleněné odměrné baňky. Zásobní roztoky obsahující analyty ve formě síranů nejsou vhodné pro přípravu některých multielementárních roztoků.

Při měření je třeba brát v úvahu paměťové efekty. Sérii měřených roztoků je vhodné uspořádat tak, aby byly nejdříve zmlžovány roztoky obsahující stopové koncentrace daného prvku a posléze roztoky obsahující daný prvek jako hlavní složku. Tímto opatřením se podstatně zkrátí čas potřebný pro vypláchnutí hadiček, zmlžovače, mlžné komory, a transportní trasy do ICP.

Závěrem lze konstatovat, že pro zavedení správné laboratorní praxe s ICP-OES je třeba spojit informace chemické a informace fyzikální. Spolehlivých analytických výsledků lze dosáhnout jen se znalostí problematiky reakcí iontů v roztocích a principů činnosti jednotlivých částí ICP analyzátoru.

# Generování těkavých par do indukčně vázaného plazmového výboje

*Jiří Machát*

*Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 3, 625 00 Brno – Bohunice*  
[machat@chemi.muni.cz](mailto:machat@chemi.muni.cz)

## *Způsoby vnášení vzorků do ICP, princip generování těkavých par*

Indukčně vázaný plazmový výboj je možno využít ve spojení s různými technikami vnášení vzorků do tohoto budícího zdroje, což umožňuje analýzu vzorků kapalných, pevných i plyných. Nejrozšířenější technikou je vnášení kapalných vzorků, zpravidla vodných roztoků, prostřednictvím zmlžování vzorku zmlžovačem. Vnášení pevných vzorků je možné buď přímo do plazmového výboje, zmlžováním suspenzí nebo využitím vhodné techniky pro tvorbu suchého aerosolu vzorku (elektroabraze, laserová ablace). Plyné vzorky lze zavádět přímo do plazmového výboje, většinou ve směsi s nosným plynem. Za vhodných podmínek je tak možno vnášet například vzorek vzduchu či spalných plynů a analyzovat je na obsah kovů, síry či fosforu.

Pozornost si zasluhuje také technika generování těkavých par do plazmového výboje. V tomto případě jde většinou o stanovení analytů, které jsou původně přítomny v kapalném (nebo vhodně rozloženém pevném) vzorku a z analytu je vhodnou reakcí generován plyný či těkavý produkt, který je následně vnášen do plazmového výboje. Technika je již dlouhou dobu využívána ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií (generování těkavých hydridů, HG-AAS) a v ICP spektrometrii je v některých případech také rutinně aplikována. V případě ICP spektrometrie lze k detekci vznikající těkavé látky využít jak spektroskopie emisní (ICP-OES), tak spektroskopie hmotnostní (ICP-MS). V praxi se setkáváme s generováním těkavých hydridů do ICP (HG-ICP-OES, HG-ICP-MS), využitelné jsou však i jiné těkavé formy – obecně lze techniku v anglickém ekvivalentu označit jako „vapour-generation“ ICP spektrometrie (VG-ICP-OES, VG-ICP-MS).

Princip techniky generování těkavých par do ICP spočívá v chemické reakci analytu, který je přítomen v roztoku vzorku, s činidlem ve vhodném prostředí, uvolnění těkavé látky ze směsi a jejím vnášením do plazmatu. Obvyklým způsobem je potom měřena intenzita emise na analytické čáře analytu (OES) či množství vzniklých iontů v plazmatu (MS). Reakce analytu s činidlem musí být dostatečně rychlá, aby vedla ke vzniku těkavé látky v reálném čase, srovnatelném s dobou setrvání vzorku a činidla v reakčním prostoru generátoru těkavých par. Žádoucí je definovaný průběh reakce a její maximální výtěžnost, což lze u využitelných reakcí upravit optimalizací reakčních podmínek. Vznikající látka je buď sama plyná a nebo má za laboratorních podmínek dostatečnou tenzi par. Většina využívaných reakcí a systémů pro generování těkavých par pracuje za laboratorní teploty. Schematicky je princip techniky uveden v obrázku číslo 1. Roztok vzorku je smíšen s roztokem činidla, po proběhnutí reakce je vzniklá těkavá látka nosným plynem (zpravidla Ar) vypuzena z reakční směsi a plyná fáze obohacená o těkavou formu analytu je zaváděna do plazmového výboje. Nosný plyn je přiváděn před separátor fází či přímo do separátoru, některé systémy pracují bez separátoru fází (viz níže popsané typy generátorů).

Technika generování těkavých par má ve spojení s ICP zdrojem několik výhod:

1. **Zvýšení citlivosti** – snížení meze detekce. Při standardním způsobu zavádění vzorku do výboje (pneumatické zmlžování) je účinnost přenosu vzorku do plazmatu jen v řádu jednotek procent. Pokud probíhá reakce a přestup těkavé látky do plyné fáze

dostatečně rychle a kvantitativně, je účinnost přenosu analytu do plazmatu generováním až 100%. Tím je úměrně zvýšena citlivost v porovnání se zmlžováním. U některých systémů je také možno využít vyššího průtoku vzorku, což vede k dalšímu zlepšení přísunu analytu do ICP. Tím je možno dosáhnout zlepšení meze detekce až o dva řády.

2. **Odstranění spektrálních interferencí a matričních interferencí** v plazmatu (pouze pro systémy se separací fází – viz níže). Reakce vedoucí ke vzniku těkavé formy analytu jsou zpravidla specifické či omezené jen na několik málo dalších složek vzorku. Tím dochází k separaci matričních prvků, které se mohou jinak podílet na vzniku spektrálních a nespektrálních interferencí. Nepřítomnost matričních prvků v plazmatu se také prakticky projevuje nezávislostí hodnoty pozadí na koncentraci matričních prvků a složení matrice. To odstraňuje potřebu modelovat složení kalibračních roztoků dle složení vzorků a především není ovlivňována mez detekce prostřednictvím zvýšeného pozadí u reálného vzorku, jako tomu bývá v mnoha případech při zavádění aerosolu vzorku.
3. **Možnost speciace.** Reakce vedoucí ke vzniku těkavé látky jsou v některých případech natolik specifické, že je možno techniku využít ke stanovení určitých specií (forem) prvku (například jeden oxidační stav) vedle jiných forem, které těkavou formu analytu neposkytují.

Nevýhody techniky generování těkavých par:

1. **Chemické interference.** Složky matrice mohou rušit chemicky při tvorbě těkavé sloučeniny. Příkladem je interference těžkých kovů či oxidačních činidel při generování těkavých hydridů (Se, As aj.).
2. **Omezení na jeden prvek.** Ve většině případů lze jeden typ chemické reakce využít na generování těkavé formy jen jednoho nebo několika málo analytů. Tato skutečnost výrazně omezuje schopnosti a výhody ICP spektrometrie v oblasti multielementárních analýz.
3. **Možnost lepšího přestupu také potenciálních interferentů.** V případě, že interferent tvoří těkavou formu, dochází také k jeho účinnému vnášení do plazmatu. Ke vzniku těkavé formy interferentu nemusí nutně vést reakce využívaná pro generování těkavé formy analytu, v mnoha případech postačuje přítomnost činidel, upravujících prostředí pro reakci (např. kyseliny uvolní CO<sub>2</sub> okyselením vzorku obsahujícího uhličitany).

## *Instrumentace*

V ICP spektrometrii jsou preferovány **průtokové systémy** (kontinuální) pro generování těkavých par (průtokové generátory), poskytující konstantní přísun analytu do plazmatu a tedy i konstantní signál. Kontinuálním přívodem roztoku vzorku a činidla do generátoru je zajištěn přísun analytu do plazmatu po dobu potřebnou ke spolehlivému změření odezvy. Průtokové systémy také umožňují snadnější automatizaci měřicího procesu či využití FIA. U **vsádkového systému** je z určitého množství vzorku reakcí uvolněna těkavá forma a vypuzena do ICP. Systém poskytuje přechodové signály tvaru píku a v ICP spektrometrii se uplatňoval především v počátcích aplikací techniky generování těkavých forem analytů.

**Typy průtokových generátorů** těkavých par pro ICP spektrometrii lze rozdělit podle přítomnosti separátoru fází. Systémy se separátorem vychází ze stejných aplikací v atomové absorpční spektrometrii. Systémy bez separátoru jsou v podstatě modifikovaná standardní zařízení pro vnášení vzorků do plazmatu (zmlžovače).

1. *Generátory se separací fází.* Po chemické reakci analytu s činidlem a „extrakci“ těkavé formy do proudu nosného plynu je plynná fáze oddělena od produktů v roztoku. Do plazmatu jsou odváděny pouze těkavé látky (těkavá forma analytu, vodní páry, případně produkty rozkladu činidla). Kapalná fáze obsahující netěkavé reakční produkty, zbytky činidla, pomocná činidla a nereagující složky vzorku je odváděna do odpadu a nepřichází tudíž do plazmatu. Pouze u těchto systémů lze využít všech výhod techniky generování těkavých látek, popsaných výše. Základní typy separátorů fází jsou:
  - a) gravitační (kapalina stéká do níže položené části separátoru fází a je odsávána čerpadlem nebo odtéká přes sifon)
  - b) membránové (těkavá forma prochází semipermeabilní membránou a je unášena přiváděným nosným plynem, kapalná fáze je odváděna do odpadu)
2. *Generátory bez separace fází.* Jednoduchou modifikací běžně užívaných zmlžovačů je lze adaptovat pro generování těkavých par do plazmatu (síťkový, koncentrický, křížový aj. zmlžovač). Před zmlžovač je umístěn T-kus, kde se míchá činidlo se vzorkem a produkty reakce vstupují do zmlžovače. Zde dochází ke zmlžování kapalné fáze a k účinnému přestupu těkavých látek do plynné fáze. Do plazmatu odchází jednak plynná fáze obohacená o těkavé formy, jednak aerosol z původního vzorku a všech použitých činidel. V tomto případě již nelze uvažovat výhody techniky generování pod č. 2 (odstranění matrice), do plazmatu se naopak dostávají také další prvky – složky činidel, použitých pro generování. Tyto prvky mohou být příčinou dalších spektrálních či nespektrálních interferencí. V mnoha případech může poměrně vysoká koncentrace činidel způsobit kontaminaci systému pro vnášení vzorku (zmlžovač, komora, hlavice jsou kontaminovány např. borem při generování těkavých hydridů reakcí s tetrahydridoboritanem). Vedle analytu tvořícího těkavou formu je však možno stanovit také ostatní analyty, které jsou do ICP vnášeny prostřednictvím vzniklého aerosolu, což do jisté míry odstraňuje nevýhodu degradace multielementarity ICP spektrometrie. I zde je však třeba počítat s ovlivněním analýzy přítomnými činidly.
3. *Systém CMA<sup>®</sup> (JY).* Nevýhodu nemožnosti multielementární analýzy při aplikaci generátoru se separátorem fází do jisté míry odstraňuje systém CMA (Concomitant Metals Analyzer, Jobin-Yvon). Jde o modifikaci standardního vybavení spektrometrů JY, kdy je koncentrický zmlžovač kombinován s upravenou cyklonickou komorou. Roztok vzorku je standardním způsobem čerpán do zmlžovače a zmlžován. Komora má ve spodní části rezervoár na vzorek, který je u standardní komory odpadem ze zmlžování. Do rezervoáru je kontinuálně přiváděno činidlo (roztoky NaBH<sub>4</sub> a HCl), které reaguje se vzorkem shromážděným v rezervoáru a vznikají těkavé hydridy, které jsou uvolněny a spolu se vzniklým vodíkem a aerosolem ze vzorku jsou odváděny do plazmatu. Stanovit lze tedy všechny prvky přítomné v aerosolu s téměř nezměnou citlivostí a navíc hydridotvorné prvky se zvýšenou citlivostí díky obohacení plynné fáze o hydrid (či studené páry Hg). Vzhledem k přítomnosti všech matričních prvků v plazmatu ale nemohou být odstraněny jejich interference (oproti modifikovaným zmlžovačům však nepřichází do plazmatu činidlo). Vzorek pro stanovení celkového obsahu prvku je v mnoha případech nutno upravit ještě před generováním těkavých forem (např. As<sup>V</sup> + As<sup>III</sup>), takže při zmlžování takto upraveného vzorku opět vnášíme do ICP i další činidla (HCl, KI, kyselina askorbová). Možnost praktického využití systému záleží i na kompatibilitě podmínek pro generování různých hydridotvorných prvků, tedy na složení reakční směsi (například As vs. Se či Hg). Z těchto důvodů je využití systému omezeno opět jen na jeden či několik málo dalších analytů, které tvoří těkavé formy, a které jsou stanovitelné spolu s analyty běžně vnášenými v aerosolu.

Vnášení činidel do systému během měření „nehydridových“ analytů také zvyšuje náklady na analýzu.

### *Typy těkavých látek generovaných do ICP*

Těkavé formy analytů pro generování do ICP se většinou vytváří vhodnou chemickou reakcí. V případě (fyzikálně) rozpuštěných plynů lze využít prostého vypuzení plynu ze vzorku proudem nosného plynu (Ar). V některých případech mají dostatečnou tenzi par i samotné prvky, jak je uvedeno níže v přehledu.

Stejně typy těkavých látek, které se využívají v atomové absorpční spektrometrii, lze využít také v ICP spektrometrii. V porovnání s AAS nemá použití ICP zdroje praktických výhod – meze detekce (pro VG-ICP-OES) jsou srovnatelné a výhoda schopnosti multielementární analýzy ICP spektrometrií je ztracena použitím generátoru se separátorem fází.

- **Hydridy** – V ICP zdroji dochází k atomizaci hydridu a excitaci (ionizaci) vzniklých atomů. Meze detekce jsou srovnatelné s technikou HG-AAS. Přesto, že těkavé hydridy tvoří řada analytů, není většinou možno plně využít multielementárního stanovení vzhledem k rozdílným podmínkám při generování. Koncentrace kyseliny, redukčního činidla a podmínky ICP zdroje mohou být voleny kompromisní pro stanovované analyty, nicméně u většiny analytů je třeba zajistit přítomnost jednoho redoxního stavu, což je ve směsi těžko realizovatelné. Prakticky je společné stanovení možné například pro As + Sb (Bi) (úprava na oxidační stav III přidávkem HCl, KI a kyseliny askorbové). Společné stanovení Se s těmito prvky však již není možné, jelikož vyžaduje jinou předúpravu vzorku (KI a kyselina askorbová sráží elementární Se). Pro redukci se používá nejčastěji roztok tetrahydridoboritanu sodného, stabilizovaného přidávkem hydroxidu. Koncentrace činidla je zpravidla nižší než pro HG-AAS také vzhledem k tomu, že vodík vznikající rozkladem činidla zvyšuje šum signálu.
- **Studené páry** – Spektrometrii s ICP zdrojem lze také využít k detekci par rtuti, vzniklých redukcí roztoku vzorku vhodným redukčním činidlem. Meze detekce jsou zde opět srovnatelné s technikou CV-AAS (bez prekolekce). Prekolekce (amalgamací) je v případě ICP spektrometrie také použitelná – v tom případě se při desorpci rtuti z amalgamátoru získává přechodový signál tvaru píku. Pro redukci lze použít  $\text{NaBH}_4$  nebo roztok  $\text{SnCl}_2$ . Výhodou  $\text{SnCl}_2$  je menší citlivost k chemickým interferencím (např.  $\text{Cu}^{2+}$ ) a nepřítomnost plynných rozkladných produktů (vodíku).

V případě analytů, které nejsou stanovitelné metodou AAS (nekovy), nabývá technika generování těkavých par ve spojení s ICP zdrojem na významu. Většina takto stanovitelných prvků má při standardním způsobu zavádění vzorku do ICP relativně vysoké meze detekce. Pro excitaci / ionizaci nekovů jsou energetické poměry v plazmatu již méně příznivé. V případě OES mají nekovy významné analytické čáry ve vakuové UV oblasti, která není běžně využívána pro analytické účely. V MS se projevuje vysoká ionizační energie nekovů také horší citlivostí stanovení. Generování par do ICP v sobě spojuje již uvedené výhody – zvýšení citlivosti pro prvky s nedostatečně nízkou mezí detekce, odstranění interferencí prvků matrice a nabízí také možnost speciace.

- **Generování par nekovů** – ICP zdroj lze použít pro buzení emisních čar například jodu či bromu. Tyto prvky mají při laboratorní teplotě dostatečně vysokou tenzi par, které je možno proudem nosného plynu odvádět do plazmatu. Pro vznik elementárních halogenů slouží jednoduché a rychlé reakce – oxidace halogenidů (peroxidem vodíku, manganistanem, dichromanem, dusitanem aj.) či redukce oxoaniontů v kyselém

prostředí. Separace matrice eliminuje kritické spektrální interference v případě jodu (nejcitlivější analytická čára jodu je rušena fosforem).

- **Plynné / těkavé sloučeniny síry, uhlíku** – generování některých plynných sloučenin síry a uhlíku lze využít pro stanovení hygienicky či technologicky významných aniontů či rozpuštěných plynů. Pouhé dostatečné okyselení vzorku je použitelné například pro stanovení siřičitanů (uvolnění SO<sub>2</sub>), sulfidů (H<sub>2</sub>S), uhličitánů (CO<sub>2</sub>). Vhodnou volbou podmínek při analýze lze rozlišit formy těchto analytů.
- **Další plynné / těkavé sloučeniny** – méně běžné reakce lze použít pro generování například těkavých karbonylů, chelátů, alkylderivatů aj. některých kovů a polokovů.

### *Spojení techniky generování těkavých par se separací / prekolací*

Generování těkavých par se uplatní také ve spojení se separační technikou (kapalinová chromatografie, extrakce na pevné fázi). Zde je nutno převést rozdělené specie na formu vhodnou ke generování par (postkolonová úprava, mineralizace) a poté vygenerovat páry do ICP. Ve většině případů se spíše uplatní provozně levnější AAS či AFS.

Meze detekce techniky generování par lze ještě výrazně zlepšit vhodným způsobem nabohacení vzniklé těkavé formy. Vymrazováním, sorpcí na vhodném sorbentu nebo například amalgamací (Hg) lze zachytit těkavou formu z většího objemu roztoku vzorku. Rychlým uvolněním těkavé formy se získá odezva detektoru ve tvaru píku, jehož plocha je úměrná množství stanovovaného analytu.

### *Optimalizace pracovních podmínek pro techniku generování těkavých par*

Optimalizačními kritérii pro daný systém generování těkavých par ve spojení s ICP zdrojem jsou především poměr signál/pozadí (S/B) a směrodatná odchylka měření signálu (RSD), od kterých se odvíjí mez detekce, a v neposlední řadě je to také eliminace vlivu chemických interferentů. Při práci s technikou generování par ověřujeme vliv následujících parametrů:

- prostředí (pH, koncentrace např. kyseliny)
- redoxní stav analytu, maskování / odstranění chemických / spektrálních interferentů (úprava vzorku před generováním)
- průtoková rychlost vzorku (více vzorku = vyšší signál), průtoková rychlost / koncentrace činidla (nutný dostatečný přísun absolutního množství činidla pro reakci; má také vliv na přítomnost chemických interferencí). Vyšší průtokové rychlosti či koncentrace činidel se mohou projevovat zhoršením RSD měření (vznik bublin v separátoru, větší množství plynných vedlejších produktů, nestabilita plazmatu)
- parametry ICP zdroje – příkon, průtok nosného plynu

### *Příklady využití generování méně běžných těkavých látek v ICP-OES*

*Generování par jodu* – Metodika je použitelná pro stanovení stopových množství jodu ve vodách (i speciace jodid, jodičnan - nepřímo z rozdílu po redukci jodičnanu na jodid), celkového jodu (nutná totální mineralizace) a jodidu (po separaci na ionexu) v biologických materiálech. Ke vzniku těkavé formy (elementárního jodu) vede oxidace jodidu peroxidem vodíku v kyselém prostředí. Reakce je specifická pro jodidy (ostatní formy nutno převést na jodidy před generováním). Výhodami jsou lepší citlivost oproti zmlžování, odstranění matrice a tím i hlavního spektrálního interferentu na nejcitlivější čáře jodu 178,276 nm (ruší fosfor 178,284 nm) (obrázek č. 2). Projevují se však další spektrální interference – CO molekulové



emisní pásy v blízkosti analytických čar jodu ve VUV (původ v uhličitanech / oxidu uhličitým ve vzorku) (obrázek č. 3 a 4). Vyšší obsahy CO<sub>2</sub> je nutno odstranit povážením okyseleného vzorku s přidávkem redukčního činidla (brání ztrátám jodu). Z chemických interferentů se projevují redukční činidla, organické látky (reagují se vznikajícím jodem) – pro biologické materiály je nutná totální mineralizace (alkalické spalování, následované odstraněním uhličitánů) (obrázek č. 5).

*Generování oxidu siřičitého* – Technika byla použita pro stanovení forem oxidu siřičitého ve víně - volný, vázaný a celkový SO<sub>2</sub>. Okyselením původního vzorku (uvolnění volného SO<sub>2</sub>) či vzorku po alkalické hydrolýze (stanovení celkového SO<sub>2</sub> po hydrolýze vázaných forem) vzniká plynný SO<sub>2</sub>, který se odvádí do ICP. Měřena je intenzita emise na čarách síry ve VUV oblasti. Spektrální interference – v blízkosti analytických čar síry jsou přítomny CO molekulové emisní pásy z přítomného alkoholu, v porovnání s velikostí signálu síry je však jejich vliv zanedbatelný. Nespektrální interference – alkohol ve vzorku ovlivňuje účinnost přestupu SO<sub>2</sub> z kapalné do plynné fáze – kalibrační roztoky jsou proto namodelovány s obsahem alkoholu. V porovnání s normovanou jodometrickou titrační metodou je cena za analýzu vzorku cca poloviční, výsledky obou metod jsou ekvivalentní co do přesnosti i správnosti (obrázek č. 6).

*Generování oxidu uhličitého* – Separace v plynné fázi umožňuje stanovení forem CO<sub>2</sub> v přírodních a technologických vodách (volný CO<sub>2</sub>, celkový, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Volný CO<sub>2</sub> je pouze vypuzen z původního vzorku proudem Ar, celkový CO<sub>2</sub> je stanoven po okyselení vzorku. Koncentrace HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> je dána rozdílem (celkový – volný). Měřena je intenzita emise na uhlíkových čarách. Pro stanovení všech forem lze využít kalibračních standardů hydrogenuhličitanu (obrázek č. 7). Vzorky se analyzují bez úpravy (nutno zamezit ztrátám volného CO<sub>2</sub>).

*Generování sulfanu* – Stanovení sulfanu a rozpuštěných sulfidů ve vodách se provádí po uvolnění sulfanu z konzervovaného vzorku vody okyselením. Je nutná stabilizace vzorku při odběru přidávkem octanu zinečnatého a NaOH. Před měřením se vysrážené sulfidy / hydroxidy rozpustí přidávkem Chelatonu 3, roztok je okyselen a vzniklý H<sub>2</sub>S odveden do ICP. Měřena je intenzita emise na čarách síry ve VUV oblasti. Mez detekce pro stanovení H<sub>2</sub>S je ekvivalentní či lepší než pro metodu spektrofotometrickou s tvorbou methylenové modři (0,01 mg.l<sup>-1</sup>).

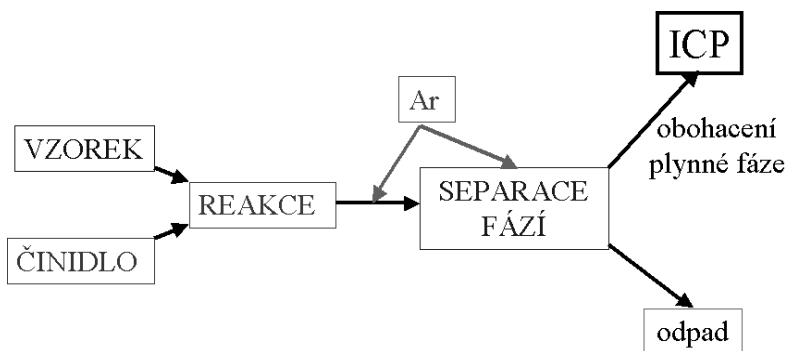
*Stanovení seleničitanů v biologickém materiálu* – Plynný selan je generován reakcí s NaBH<sub>4</sub> on-line při eluci seleničitanů z mikrokolony s anexem (separace od matrice, prekoncentrace). Seleničitany jsou ze vzorku (vodný extrakt biologického materiálu) sorbovány na koloně se silně bazickým anexem a po promytí sloupce (odstranění matrice) jsou eluovány roztokem HNO<sub>3</sub>. Kolona je přímo napojena na generátor hydridů kde je generován selan reakcí s NaBH<sub>4</sub>. Signál má tvar píku podobně jako při chromatografii (obrázek č. 8), plocha píku je úměrná množství Se<sup>IV</sup> (obrázek č. 9).

*Stanovení stopových množství jodidů ve vodách po prekoncentraci* - Páry jodu jsou generovány on-line při eluci jodidů z mikrokolony s anexem. Je možná i speciace jodid / jodičnan, stanovení jodidu v biologickém materiálu, moči. Jodidy jsou ze vzorku sorbovány na sloupci se silně bazickým anexem, matrice poté vymyta propláchnutím kolony, jodidy eluovány roztokem NaClO<sub>4</sub> a on-line generován jod reakcí s peroxidem vodíku / kyselinou sírovou. Uhličitany (hydrogenuhličitan) rušící (spektrálně) při klasické technice lze odstranit

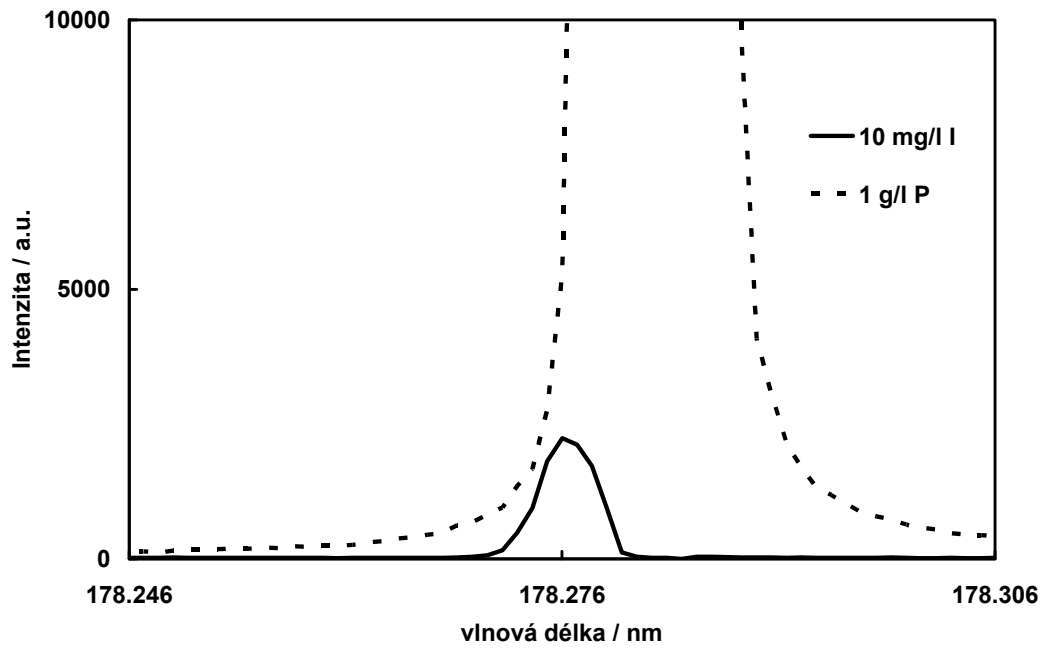
před sorpcí vzorku na anexu, vymytím ze sloupce po sorpci či oddělit od signálu jodu volbou vhodných podmínek při eluci (obrázek č. 10).

### *Použitá literatura:*

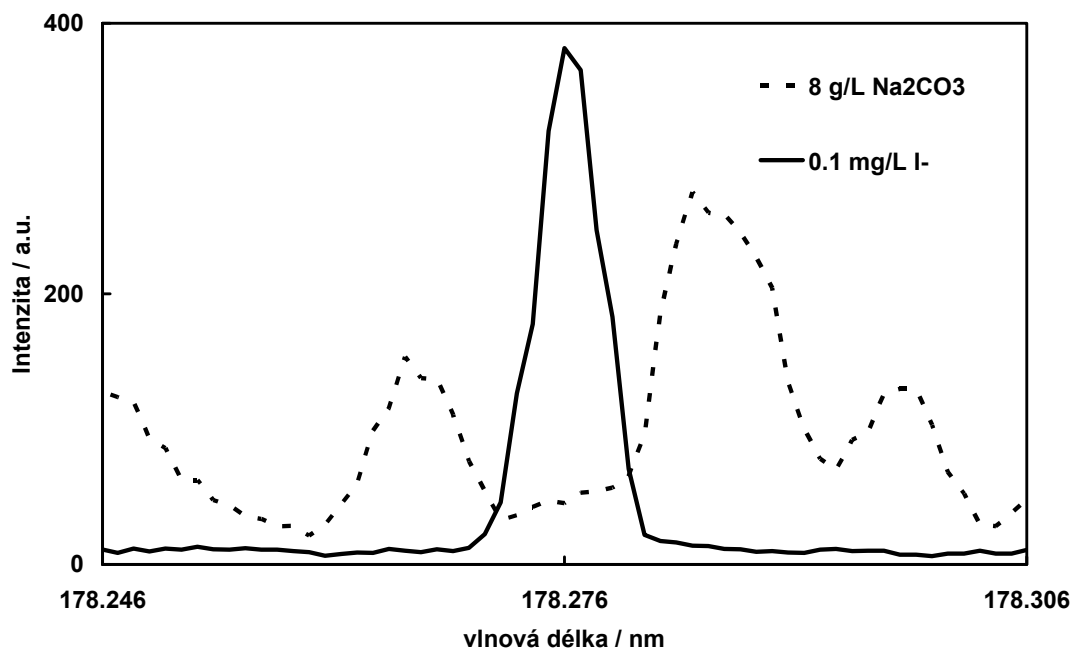
1. J. Toman: Generace plynných hydridů v ICP-OES, Spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem – Sborník příspěvků semináře 2001, 40 – 44, SSJMM
2. Firemní materiály Jobin-Yvon Horiba:  
<http://www.jobinyvon.com/usadivisions/Emission/applications/ICP13.pdf>
3. E. Niedobová, J. Machát, V. Otruba, V. Kanický: Vapour generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry in determination of total iodine in milk, J. Anal. At. Spectrom., 2005, 20, 945 – 949
4. J. Čmelík, J. Machát, E. Niedobová, V. Otruba, V. Kanický: Determination of free and total sulfur dioxide in wine samples by vapour-generation inductively coupled plasma – optical emission spectrometry, Anal. Bioanal. Chem., 2005, 383, 483 – 488
5. J. Machát, J. Čmelík, J. Doucha, V. Otruba: Selenem obohacené řasy Chlorella – frakcionace forem selenu, Mikroelementy 2005, 71 – 75, 2 THETA
6. J. Machát, I. Havelková, E. Niedobová, J. Doucha, V. Kanický: Frakcionace forem jodu v jodem obohacených řasách Chlorella, Mikroelementy 2004, 57 – 63, 2 THETA



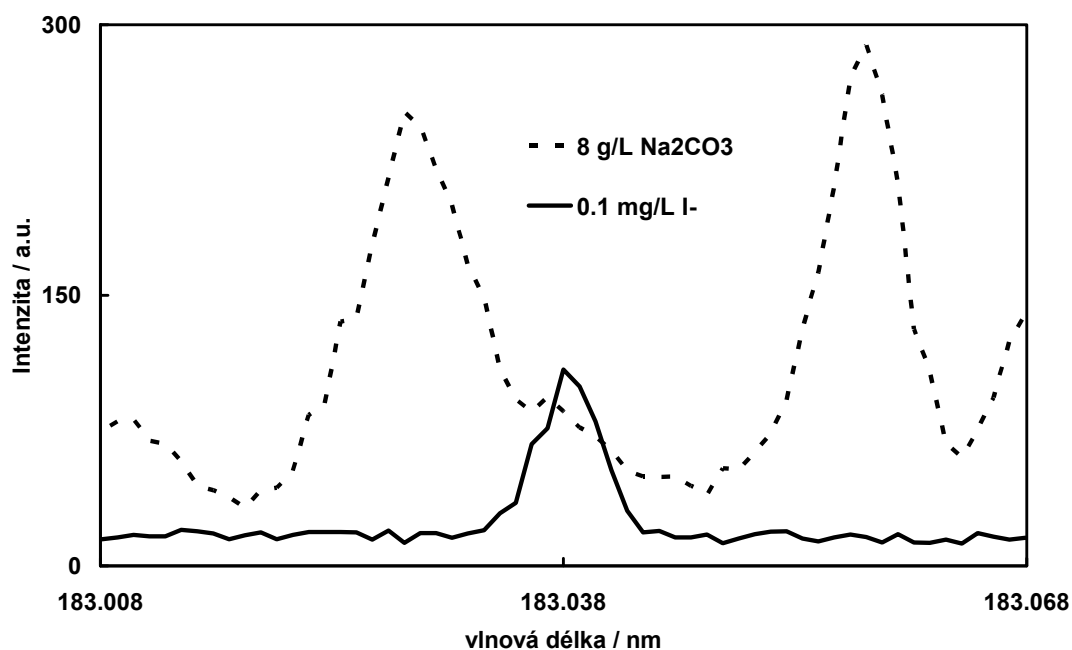
Obrázek č. 1: Schéma generování těkavých par do ICP



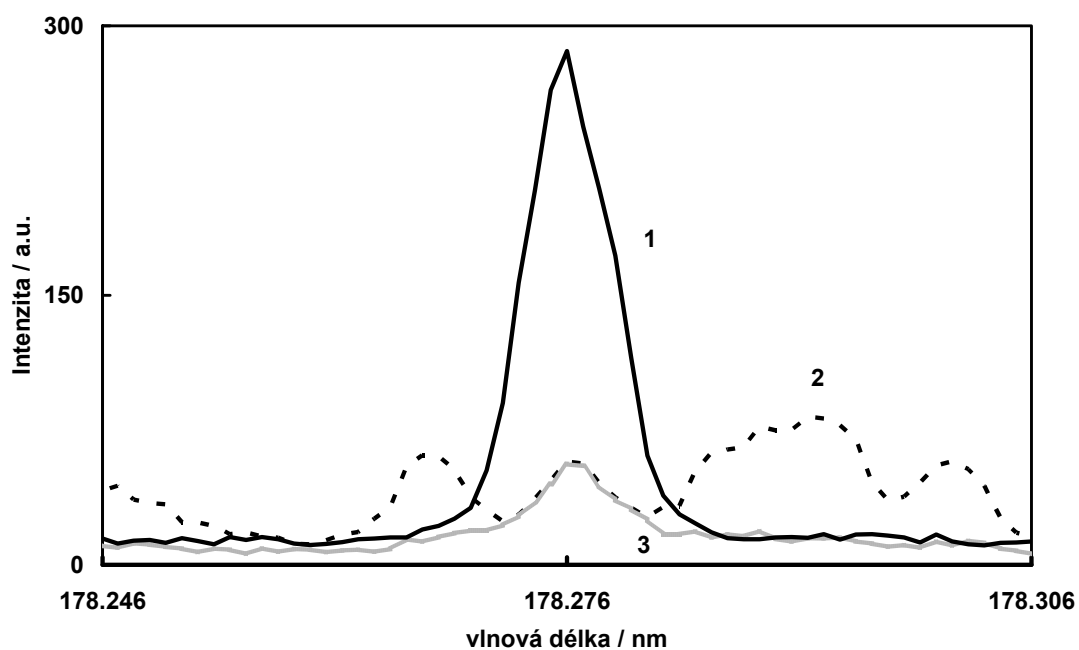
Obrázek č. 2: spektrální interference fosforu P I 178,284 nm na analytické čáře jodu I I 178,276 nm



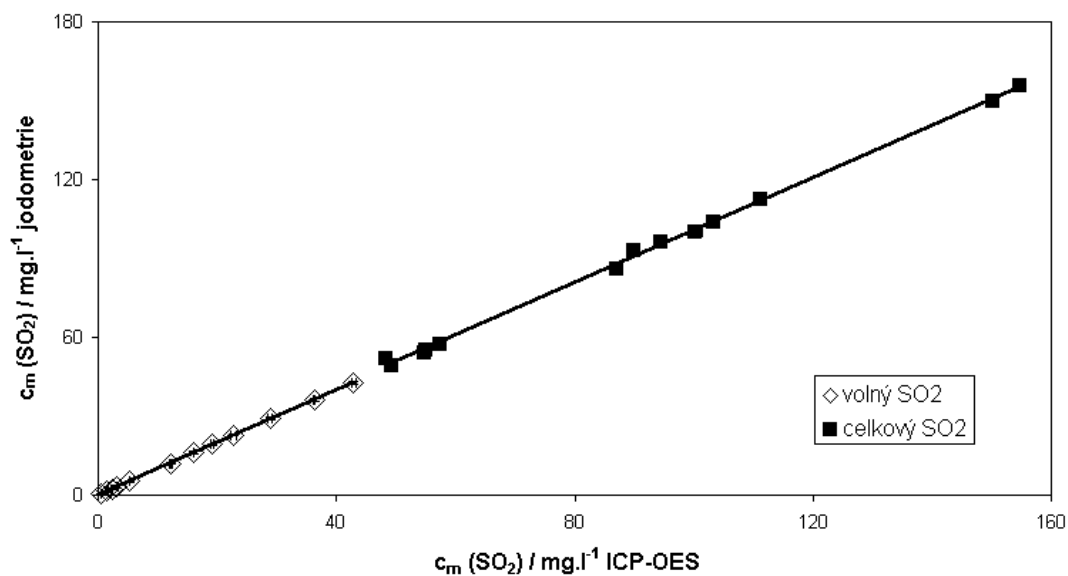
Obrázek č. 3: CO molekulové emisní pásy v blízkosti analytické čáry jodu I I 178,276 nm



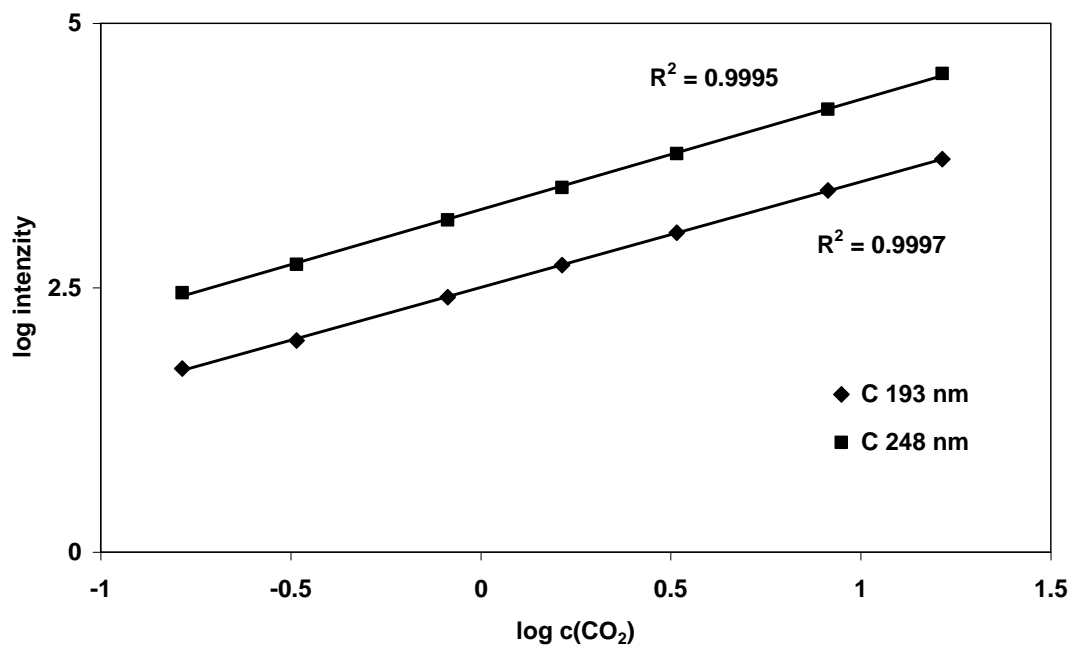
Obrázek č. 4: CO molekulové emisní pásy v blízkosti analytické čáry jodu I I 183,038 nm



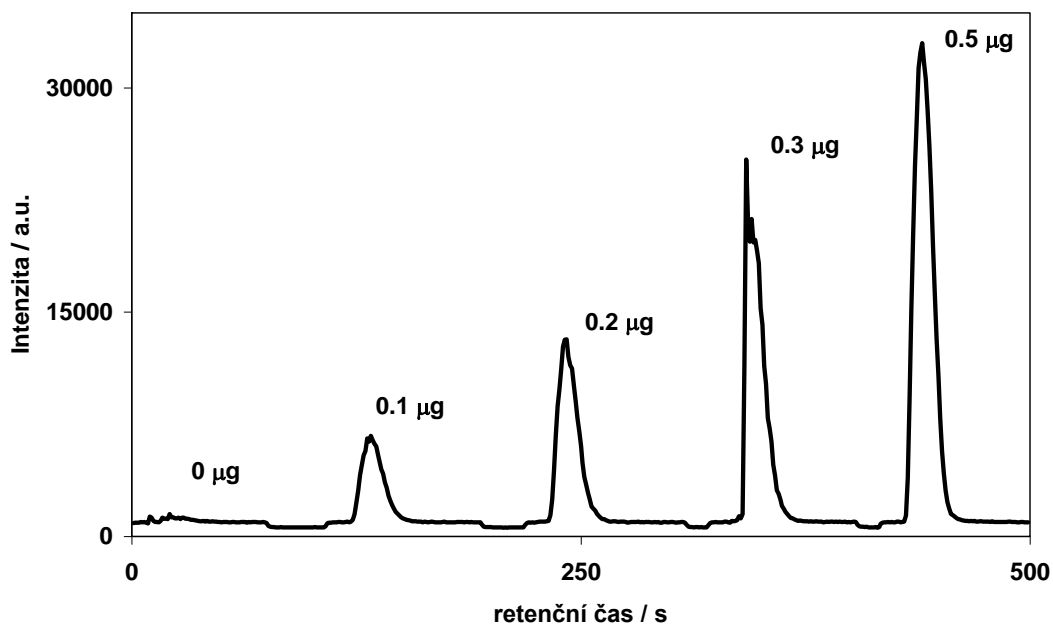
Obrázek č. 5: Vliv úpravy vzorku (odstranění uhličitánů) na přítomnost CO pásů ve spektru při stanovení jodu v mineralizátu mléka. 1 – standard jodidu  $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ , 2 – mléko mineralizované alkalickým spalováním, 3 – mineralizát po odstranění uhličitánů v kyselém prostředí.



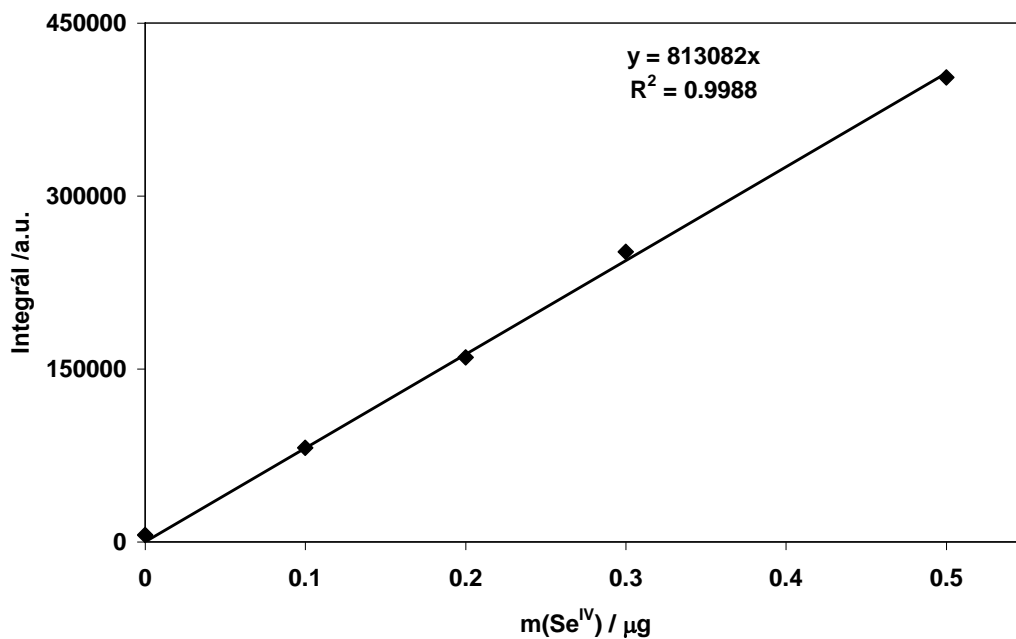
Obrázek č. 6: Korelační graf pro stanovení volného a celkového SO<sub>2</sub> ve víně metodou VG-ICP-OES a jodometrickou titrací. Volný SO<sub>2</sub> :  $y=(1,003 \pm 0,003)x$ ; celkový SO<sub>2</sub> :  $y=(1,00 \pm 0,02)x$



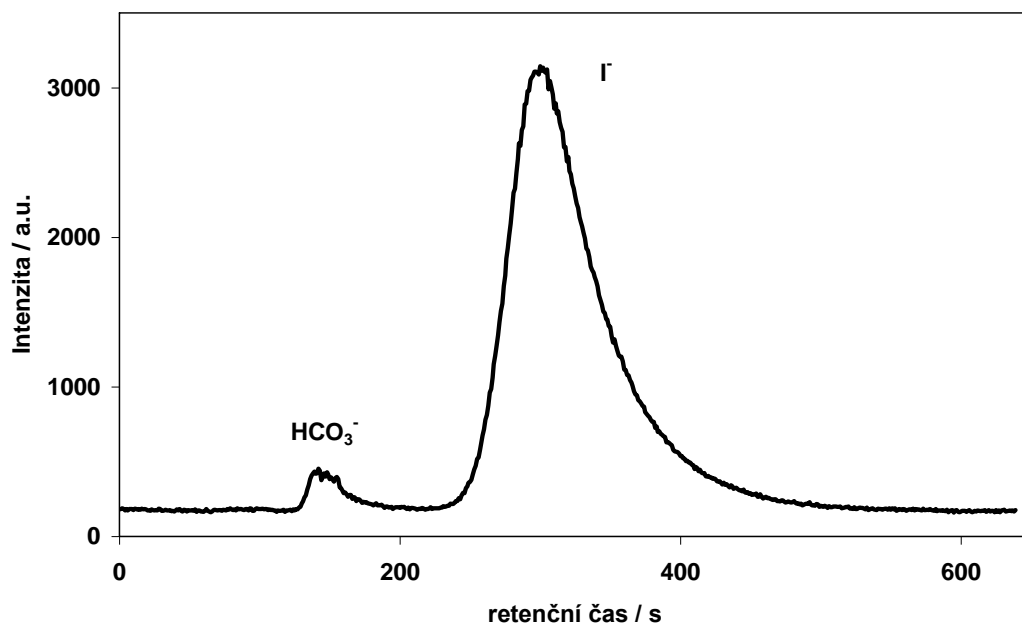
Obrázek č. 7: Kalibrační závislosti pro stanovení forem oxidu uhličitého metodou VG-ICP-OES na dvou analytických čarách uhlíku v rozsahu koncentrací 0,16 – 16,0 mol.l<sup>-1</sup> (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 10 – 1000 mg.l<sup>-1</sup>)



Obrázek č. 8: Záznam při on-line spojení prekoncentrace / separace na kolonce s anexem a VG-ICP-OES pro stanovení Se<sup>IV</sup> (0 – 0,5 µg Se)



Obrázek č. 9: Kalibrační závislost při stanovení Se<sup>IV</sup> metodou VG-ICP-OES pro spojení s prekoncentrací / separací matricena kolonce s anexem.



Obrázek č. 10: Separace rušících hydrogenuhličitanů (10 mg) při stanovení jodidů (0,5 µg) technikou prekoncentrace na kolonce s anexem a detekcí VG-ICP-OES.





# Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

*Vítězslav Otruba*

*Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.*

## 1 Úvod

ICP/MS je víceprvková analytická metoda která má v současnosti pro většinu prvků nejnižší meze detekce ze všech běžných analytických metod navíc s velkým koncentračním rozsahem stanovení. ICP/MS využívající jako zdroj iontů indukčně vázaného plazmatu si získala postavení jedné z nejefektivnějších (vedle ICP-OES) metod prvkové analýzy roztoků, ale i vzorků v pevném či plynném skupenství. Metoda předčí svým simultánním charakterem a vysokou universálností, citlivostí a rychlostí klasické metody atomové absorpční i emisní spektrometrie, i když za cenu vyšších provozních i investičních nákladů. Důležitou oblastí je aplikace v kombinovaných (hyphenated) technikách spojení s chromatografickými (GC, LC, IC, aj.) a elektromigračními (CE, ITP) metodami především v prvkové speciální analýze. Indukčně vázaná plazma se stala středem zájmu analytických chemiků již v polovině 70. let minulého století jako velmi účinný zdroj iontů, který se vyznačoval vysokou účinností atomizace a prakticky 100% účinností ionizace u většiny prvků. Vývoj přístrojů probíhal intenzivně již přibližně od roku 1975 a první komerčně dostupný přístroj ICP/MS (SCIEX, Elan 250) se na trhu objevil v roce 1983, přičemž dnes je počet instalací c. 300 - 500 přístrojů od různých firem za rok.

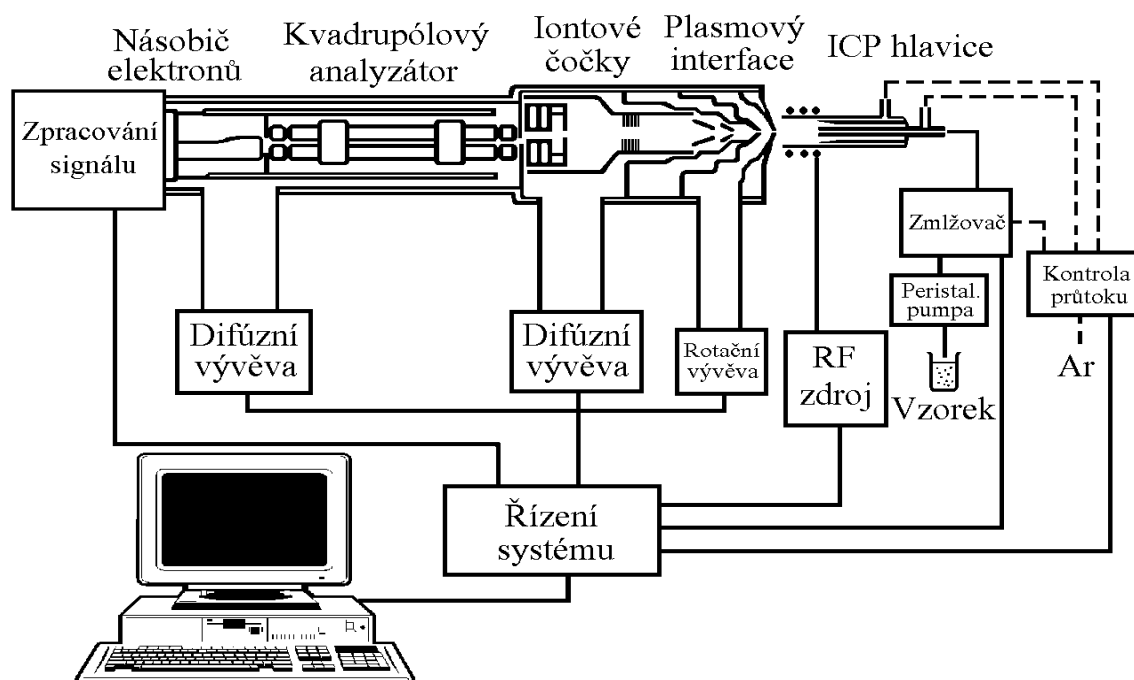
## 2 Princip metody

Metoda je založena na vnášení analytického vzorku do plazmového hořáku, ve kterém je ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli udržováno argonové plazma o teplotě 6 000 – 10 000 K. Do analytického kanálu plazmatu je vdouván aerosol vzorku, který je vysušen a suchý aerosol vzorku je vypařen, účinně atomizován a ionizován stejně jako v ICP/OES (viz předchozí kapitola). Díky vlastnostem ICP dochází přednostně k ionizaci do prvního stupně. Ionty z analytického kanálu vstupují malým otvorem v kuželovitém sampleru supersonickou rychlostí do předvakua a z tohoto plazmového paprsku prochází část malým otvorem v kuželovitém skimeru do vakua hmotnostního spektrometru s elektromagnetickými čočkami, příp. i kolizní celou. Fokusaný svazek iontů z iontové optiky vstupuje do analyzátoru, který rozdělí ionty podle poměru  $m/z$  v čase (průletové analyzátor, TOF) nebo v prostoru (sektorové analyzátor), případně vyfiltruje z iontového svazku pouze ionty o zvoleném poměru  $m/z$  (kvadrupólové fitry). Po průchodu analyzátozem dopadají ionty na detektor, tvořený jedním nebo několika (multikolektor) prvky, převádějící proud iontů na

elektrický signál (spojitý analogový – Faradayova klec, nebo pulzní – elektronové násobiče, scintilační detektory).

### 3 Instrumentace ICP/MS

Základní části ICP/MS spektrometrů zahrnují zařízení pro přívod analyzovaného vzorku, iontový zdroj, rozhraní (interface) mezi iontovým zdrojem a hmotnostním spektrometrem, iontovou optiku, (kolizní celu), analyzátor, detektor, vakuový systém, řídicí jednotku.



Obr. 1: ICP-MS spektrometr s kvadrupólovým filtrem

#### 3.1 Vnášení vzorků do ICP-MS

Plyny, těkavé sloučeniny (hydridy, cheláty aj.) nebo ablatované částice jsou vnášeny do plazmatu přímo v proudu argonu kontinuálně nebo diskontinuálně pomocí dávkovacího kohoutu. Plynné částice mohou být rovněž absorbovány v kapalinách nebo adsorbovány na pevných sorbentech a po jejich mineralizaci zpracovávány jako kapalné vzorky přímou analýzou. Kapalné vzorky jsou zmlžovány a vnášeny do plazmatu ve formě aerosolu, kde je vzorek odpařen, jednotlivé sloučeniny jsou disociovány, atomizovány a ionizovány. Podobně se postupuje u kombinovaných technik (FIA, LC, CE, GC aj.). Pevné látky jsou nejčastěji převáděny do roztoků přímo nebo po vytavení či mineralizaci. V některých případech se volí přímé vnášení suspenzí (slurry technika), volných atomů v plynném stavu po elektrotermické vaporizaci nebo suchého aerosolu generovaného laserovou ablací či elektrojiskrovou abrazí.

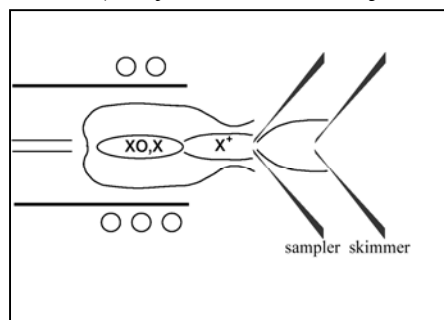
### 3.2 Iontový zdroj

Plazmové hlavice pro klasické optické i hmotnostní spektrometry jsou v zásadě shodné, avšak na rozdíl od ICP-OES je plazmová hlavice u ICP/MS orientována vždy horizontálně v ose dalšího směru zpracování iontů. Energie rf pole je soustředěna do vnějšího kruhově koncentrického prstence proudícího argonu, kde teploty dosahují nejvyšších hodnot ( $10^4$  K). Odtud se energie konvekcí a radiací přenáší do středního analytického kanálu, do kterého je vnášen nosným tokem Ar vzorek střední trubicí (křemen, korund aj.) plazmové hlavice. Vzorek je odpařen, jednotlivé sloučeniny jsou disociovány, atomizovány a ionizovány, takže z ústí plazmové hlavice vystupuje směs atomů a iontů spolu s fragmenty molekul, neodpařených částic vzorku a velkého množství argonu. Tato směs je dále vedena přes interface do vlastního hmotnostního spektrometru.

### 3.3 Rozhraní (interface) mezi iontovým zdrojem a hmotnostním spektrometrem

Interface je jednou z nejchoulostivějších a nejvíce namáhanou součástí ICP/MS přístroje, který je v přímém styku s plazmatem. Interface zajišťuje efektivní oddělení hlavního toku argonu (plazmový, stínící plyn) od středního toku atomů a iontů analyzovaného vzorku. Obvykle je tvořen dvěma kužely, v jejichž vrcholech jsou malé otvory o průměru kolem 1 mm. Dvoustupňový interface je tvořen dvěma kužely (sampler, skimmer) vyrobených z tepelně vodivých materiálů (Ni, Cu, Al, Pt) chlazených vodou. Kónusy jsou demontovatelné kvůli snadnému čištění. Jejich životnost závisí především na matrici vzorků (při aplikaci 1%  $\text{HNO}_3$  řada měsíců, v 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  několik dnů). Čištění jemnými prostředky se provádí zpravidla jednou denně nebo před větší sérií vzorků, neboť deposit může způsobit změnu efektivního průřezu otvoru v kónusu a tím změnit podmínky vstupu iontů do analyzátoru iontů a/nebo změny tlakových podmínek.

V prostoru mezi samplerem a skimmerem je vývěvou (obvykle rotační olejovou) udržován tlak cca. 500 Pa, přičemž rychlost proudění expandujícího plynu mírně přesahuje rychlost zvuku a jeho teplota prudce klesá. Kinetická teplota částic v supersonickém paprsku plynu kolmo ke směru proudění se blíží k nule. Tím se eliminuje převážná většina reakcí, které by mohly ovlivnit stechiometrii proudící směsi atomů a iontů a zároveň se vytváří směrově orientovaný tok iontů.



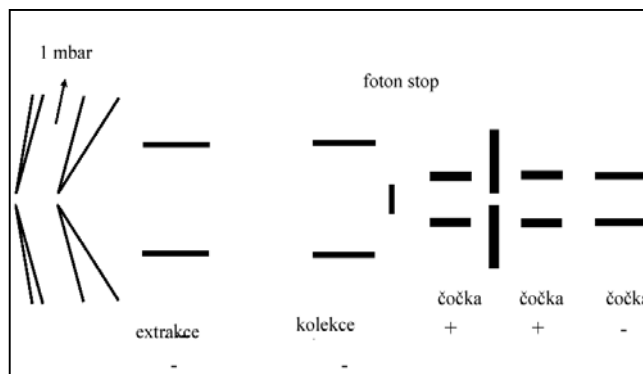
Za vstupním kónusem se v určité vzdálenosti vytváří tzv. Machovo diskontinuum, kde rychlost proudění klesá pod rychlost zvuku. Za touto hranicí dochází vlivem turbulencí k míchání separovaného iontového plynu s okolním plynem. Správným umístěním druhého kónusu (skimmer) ve vzdálenosti 6 – 7 mm od sampleru lze nežádoucí turbulenci iontového svazku zabránit. Po průchodu otvorem druhého kónusu (skimmer) se analyzovaný vzorek dostává do prostředí o tlaku přibližně  $10^{-4}$  Pa a dosahuje opět nadzvukové rychlosti. Dostatečné vakuum

zaručuje dostatečnou střední volnou dráhu atomů a iontů tak, aby bylo omezeno množství vzájemných srážek v hmotnostním analyzátoru.

Vysoké vakuum je získáváno vzájemnou součinností klasické olejové vývěvy, která odčerpává hlavní množství přítomného plynu, a turbomolekulární pumpy, která při vysokých otáčkách lopatek rotoru kolem 60 000 rpm odstraňuje atomy plynu až na hodnoty  $10^{-6}$  Pa.

### 3.4 Iontová optika

Plynový paprsek po opuštění druhého kónusu je silně divergentním proudem iontů a elektricky nenabitých atomů (Ar, O, H aj.) a fotonů. Před vstupem do analyzátoru iontů je nutno získat kolineární proud iontů, ze kterého jsou separovány fotony, elektroneutrální částice a část iontů, které by mohly zvyšovat pozadí (šum) detektoru iontů.



**Obrázek 3:** Příklad elektrostatické iontové optiky

Protože všechny elektricky neutrální částice neovlivňuje elektromagnetické pole, stačí k jejich odstranění umístit do dráhy mechanickou překážku (např. kovový terčik) a fotony i nenabitě částice se na ní zastaví. Analyzované ionty se pak vychýlí přesně tvarovaným elektrickým polem (iontové čočky), které usměrňují tok iontů tak, aby se vyhnuly tomuto filtru a zároveň vytvořily kolineární proud iontů. U některých přístrojů je vzájemné uspořádání vstupních kónusů vyřešeno tak, že osa iontového analyzátoru je otočena o úhel cca.  $45^\circ$  oproti ose toku vstupujících iontů. Ty jsou do analyzátoru iontů nasměrovány koaxiálně elektromagnetickým polem (tzv. *magnetickou optikou*), zatímco nenabitě částice zanikají po dopadu na absorpční kovovou plochu ležící v ose vstupního kónusu.

### 3.5 Analyzátor iontů

Pro rozdělení jednotlivých iontů podle jejich relativní atomové hmotnosti (amu) resp  $m/z$  slouží tzv. analyzátor iontů. Většina ICP/MS využívá kvadrupólový (Q-MS) analyzátor, další používané analyzátory jsou průletové (time of flight, TOF-MS) či statické sektorové (SF-MS, HR-MS). Jako analyzátor může působit i iontová past (IT-MS).

#### 3.5.1 Pohyb nabitě částice v elektrickém a magnetickém poli

Na náboj  $q$ , který je v prostoru, ve kterém existuje elektrické pole intenzity  $\mathbf{E}$  a magnetické pole indukce  $\mathbf{B}$  působí Lorentzova síla  $\mathbf{F}$ , která má ve vektorovém zápise tvar:

$$\mathbf{F} = q\mathbf{E} + q(\mathbf{v} \times \mathbf{B}) \quad [\text{N}; \text{C}; \text{V} \cdot \text{m}^{-1}; \text{C}; \text{m} \cdot \text{s}^{-1}; \text{T}] \quad \{1\}$$

kde  $\mathbf{v}$  je rychlost, kterou se částice pohybují v magnetickém poli a  $\mathbf{v} \times \mathbf{B}$  je vektorový součin vektorů  $\mathbf{v}$  a  $\mathbf{B}$ . Rovnici dráhy, po které se bude nabitá částice pohybovat, dostaneme řešením pohybových rovnic. Je-li poloha částice v libovolném čase  $t$  v pravouhlé souřadnicové soustavě  $xyz$  udána polohovým vektorem  $\mathbf{r} = [x(t), y(t), z(t)]$  a  $m$  je hmotnost částice, můžeme použitím {1} a Newtonova dynamického zákona sestavit pohybovou rovnici:

$$m \frac{d^2 \mathbf{r}(t)}{dt^2} = q\mathbf{E} + q(\mathbf{v} \times \mathbf{B}) \quad \{2\}$$

Vzhledem k tomu, že  $\mathbf{v} = \frac{d\mathbf{r}}{dt}$  a po vydělení rovnic hmotou  $m$  obdržíme

$$\frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = \frac{q}{m} \mathbf{E} + \frac{q}{m} \left( \frac{d\mathbf{r}}{dt} \times \mathbf{B} \right) \quad \{3\}$$

Protože ve hmotnostní spektrometrii se nabitou částicí obvykle rozumí iont, bude  $m$  představovat hmotu iontu a  $q$  při jednonásobné ionizaci bude rovno  $+e = 1,601 \cdot 10^{-19} \text{ C}$ .

Vektorovou rovnici {3} můžeme rozepsat do složek  $xyz$  na tři rovnice algebraické:

$$\begin{aligned} \frac{d^2 x}{dt^2} &= \frac{q}{m} E_x + \frac{q}{m} \left[ \frac{dy}{dt} B_z - \frac{dz}{dt} B_y \right] \\ \frac{d^2 y}{dt^2} &= \frac{q}{m} E_y + \frac{q}{m} \left[ \frac{dz}{dt} B_x - \frac{dx}{dt} B_z \right] \\ \frac{d^2 z}{dt^2} &= \frac{q}{m} E_z + \frac{q}{m} \left[ \frac{dx}{dt} B_y - \frac{dy}{dt} B_x \right] \end{aligned} \quad \{4\}$$

Pro popis hmotnostních analyzátorů jsou důležitá řešení rovnic {4} pro případy  $\mathbf{B} = 0$ ,  $\mathbf{E} = 0$  a  $\mathbf{E} \perp \mathbf{B}$ .

### ***Pohyb iontu v elektrostatickém poli***

Jestliže  $\mathbf{B} = 0$  a  $\mathbf{E} \neq 0$  jsou druhé členy rovnic {1} a {2} rovny nule:

$$\frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = \frac{q}{m} \mathbf{E} \quad \{5\}$$

V homogenním elektrickém poli (např. mezi deskami rovinného kondenzátoru) s intenzitou  $\mathbf{E}$  a se složkami  $E_x=0$ ,  $E_y=-E$ ,  $E_z=0$  bude trajektorie injektovaného iontu s rychlostí  $\mathbf{v}_0 = (v_{0x}, v_{0y}, 0)$  parabola:

$$y = -\frac{q}{2mv_{0x}^2} x^2 + \frac{v_{0y}}{v_{0x}} x \quad \{6\}$$

Uvedený příklad je analogií šikmého vrhu v zemském gravitačním poli s tím, že gravitační zrychlení je nahrazeno výrazem  $(q/m)E$ . V případě  $\mathbf{v}_0=0$  by trajektorie měla tvar:

$$x = 0$$

$$y = -\frac{q}{2m} E t^2 \quad \{7\}$$

Iont se bude v tomto případě pohybovat rovnoměrně zrychleným pohybem, rychlost po proběhnutí vzdálenosti  $d$  bude

$$v = \frac{dy}{dt} = \sqrt{2 \frac{q}{m} E d} \quad \{8\}$$

Za předpokladu homogenního pole výraz  $Ed$  udává rozdíl potenciálů  $V$  odpovídající vzdálenosti  $d$ , tedy  $Ed = V$  a pak pro rychlost částice  $v$  a její kinetickou energii  $W$  platí:

$$v = \sqrt{\frac{2q}{m} V} ; \quad W = \frac{1}{2} m v^2 = qV \quad \{9, 10\}$$

Platnost vztahu {9} je omezena relativistickým vzrůstem hmotnosti částice pro vysoké rychlosti, srovnatelných s rychlostí světla.

### Pohyb iontu v magnetickém poli

Pro  $\mathbf{E} = 0$  má Lorenzova rovnice tvar:

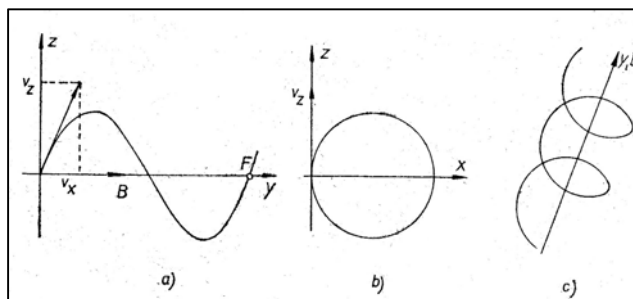
$$\mathbf{F} = q(\mathbf{v} \times \mathbf{B}) \quad \{11\}$$

Z tohoto vztahu plynou tři důležité závěry:

- pro  $\mathbf{v} = 0$  je  $\mathbf{F} = 0$ , tedy homogenní statické magnetické pole nemá vliv na částici, která je vůči tomuto poli v klidu.
- homogenní statické magnetické pole se chová netečně i pohybující se částici pokud se pohybuje po silokřivkách tohoto pole, tedy pokud je vektor  $\mathbf{v}$  rovnoběžný s vektorem magnetické indukce  $\mathbf{B}$ .
- síla  $\mathbf{F}$  je buď nulová (případ a, b) nebo působí kolmo na směr pohybu (tj. na  $\mathbf{v}$ ). Z to plyne, že magnetické pole může měnit jenom směr rychlosti a nikoliv její absolutní hodnotu – tedy nemůže vykonávat žádnou práci a měnit energii částice.

### Pohyb v příčném magnetickém poli

tedy v případě, že nabitá částice byla vstřelena rychlostí  $\mathbf{v}$  do magnetického pole kolmo k magnetické indukci  $\mathbf{B}$  (obr.2). Lorenzova síla pak bude působit kolmo na rychlost  $\mathbf{v}$ . Absolutní hodnota této síly bude  $F = qvB$  a tato síla je vždy kolmá na směr pohybu a vyvolává tedy



kruhový pohyb. Působením Lorenzovy síly se nabitá částice bude pohybovat po kružnici. Poloměr  $R$  této kružnice bude dán rovnováhou dostředivé síly Lorenzovy a setrvačnosti částice, působící pohyb přímočarý. Rovnováha nastane za podmínky:

$$\frac{mv^2}{R} = qBv \Rightarrow R = \frac{mv}{qB} \quad \{12\}$$

Poloměr křivosti je tedy tím větší, čím větší je impuls částice  $mv$  a čím menší je magnetická indukce  $B$ .

### Pohyb v podélném magnetickém poli

tedy v případě, že nabitá částice byla vstřelena do pole tak, že počáteční rychlost  $\mathbf{v}$  má nenulovou složku jak ve směru magnetických siločar, tak kolmo na siločáry. Bude-li vektor rychlosti  $\mathbf{v}$  a magnetické indukce  $\mathbf{B}$  v jedné rovině, pak svislá složka rychlosti (obr. 4)  $v_z$  vyvolá Lorentzovu sílu, která nutí iont k pohybu po kružnici ležící v rovině kolmé k rovině nárkresny (obr. 4b). Složka  $v_y$  nevyvolá Lorentzovu sílu, ale přispěje k rovnoměrnému pohybu po ose  $y$ . Složením obou pohybů je trajektorie ve tvaru šroubovice (obr. 4c). Iont, který vyšel

**Obrázek 4:** Trajektorie iontu v podélném magnetickém poli. a, b jsou průměry šroubovice, c je celkový vzhled dráhy.

z počátku, opisuje kružnici, přitom se ale posouvá po ose  $y$  (obr. 4a) a v bodě F opět protne osu  $y$  v bodě  $y_F$ :

$$y_F = v_z T = \frac{2\pi m}{eB} v_y \quad \{13\}$$

Vzorec (13) vyjadřuje důležitou vlastnost: Pokud se do takového magnetického pole vstřelí z jednoho bodu rozbíhavý svazek iontů, mající stejné složky rychlosti ve směru magnetického pole, pak se tyto ionty zfokusují opět v bodě F.

### 3.5.2 Sektorový spektrometr

Činnost sektorových spektrometrů vychází z rovnice pro Lorentzovu sílu:

$$\mathbf{F} = q\mathbf{E} + q(\mathbf{v} \times \mathbf{B})$$

kde

$\mathbf{F}$  je Lorentzova síla působící na náboj  $q$

$\mathbf{E}$  je intenzita elektrického pole

$\mathbf{B}$  indukce magnetického pole

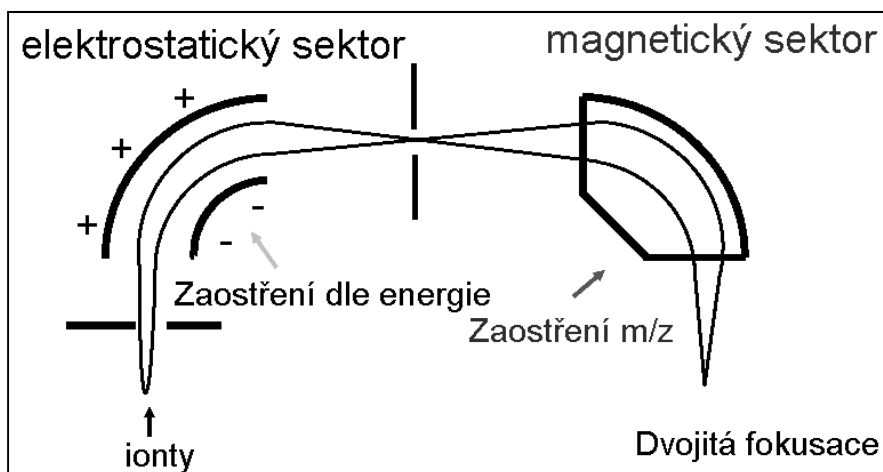
$\mathbf{v}$  je rychlost částice

Odchylka dráhy iontu  $d_e$  v elektrickém a  $d_b$  v magnetickém poli:

$$d_e \sim e/(mv^2)$$

$$d_b \sim e/(mv)$$

Ze soustavy těchto rovnic je možné stanovit  $m$  a  $v$ . Pro separaci iontů různých hmot a rychlostí je tedy nutné použít vychylování jak elektrickým, tak magnetickým polem. Příkladem uspořádání je systém Nier-Johnson:

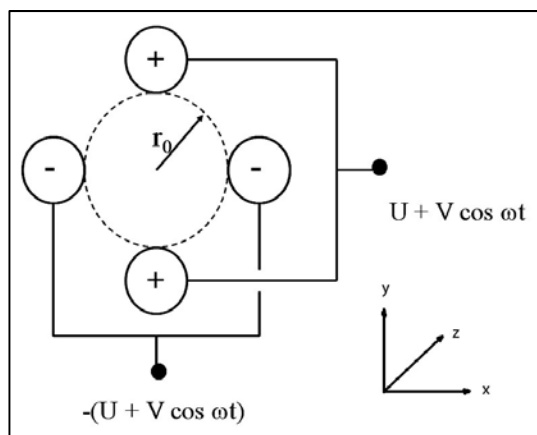


**Obrázek 5** Systém Nier-Johnson

Jejich konstrukce i výroba je velmi náročná, což se promítá do ceny spektrometrů. Na druhé straně mají rozlišovací schopnost až o dva řády a meze detekce až o čtyři řády lepší než spektrometry s kvadrupólem.

### 3.5.3 Kvadrupólový filtr

Kvadrupólový hmotnostní analyzátor pracuje jako filtr, podél jehož osy mohou projít jen ionty o určitém poměru  $m/z$ . Ionty jsou v kvadrupólu rozkmitány tak, že při určitém napětí a frekvenci radiových vln na elektrodách kvadrupólu projdou pouze ionty o vybraném  $m/z$ . Propouštěná hmotnost (resp.  $m/z$ ) je lineárně závislá na elektrickém potenciálu elektrod. Tím je umožněno jednoduché a rychlé skenování přes celý používaný obor  $m/z$ , resp. vybraného rozsahu



$m/z$ . Výrobně je poměrně jednoduchý, většinou se používají čtyři elektrody kruhového průřezu (viz obr.), i když teoreticky mají být tyče parabolické (Agilent)

Obr. 6: K principu funkce kvadrupólu

#### Trajektorie iontů v kvadrupólu

Následující rozbor trajektorie iontů [1] se vztahují k hyperbolickému poli, ale s dostatečnou přesností platí pro kruhový průřez elektrod (obr. 6). Potenciál  $\Phi(t, x, y, z)$ , který je funkcí souřadnic a času, lze obecně popsat  $\Phi(t, x, y, z) = V_0(t)(\alpha x^2 + \beta y^2 + \gamma y^2)$ . Laplaceova rovnice dává podmínku, že  $\alpha + \beta + \gamma = 0$ , která je v daném případě splněna takto:

$$\alpha = -\beta = \frac{1}{r_0^2}; \gamma = 0$$

Vloží-li se na elektrody kvadrupólového systému stejnosměrné napětí  $2U$  a střídavé napětí  $2V\cos\omega t$ , platí pro prostorový a časový průběh potenciálu  $\Phi$ :

$$\Phi(t, x, y) = (U + V \cos \omega t) \frac{x^2 - y^2}{r_0^2} \quad \{14\}$$

Hodnoty složky elektrického pole do směru osy  $x$  a  $y$  jsou záporně vzaté parciální derivace potenciálu  $\Phi$  podle souřadnic  $x$  a  $y$ :

$$E_x = -2(U + V \cos \omega t) \frac{x}{r_0^2}; \quad E_y = +2(U + V \cos \omega t) \frac{y}{r_0^2} \quad \{15\}$$

Pohybové rovnice mají tedy tvar:

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = -2e(U + V \cos \omega t) \frac{x}{r_0^2} \quad \{16\}$$

$$m \frac{d^2 y}{dt^2} = 2e(U + V \cos \omega t) \frac{y}{r_0^2} \quad \{17\}$$

$$m \frac{d^2 z}{dt^2} = 0 \quad \{18\}$$

Z rovnice [18] plyne, že  $\frac{dz}{dt} = konst$ , čili ionty se budou pohybovat ve směru osy  $z$  s počáteční rychlostí, s jakou do analyzátoru vstupovaly. Rovnice [16;17] je možné upravit substitucí:



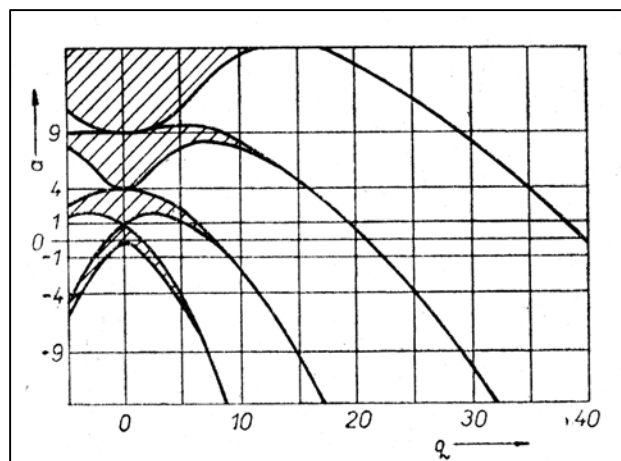
$$\omega t = 2\xi; \quad a = \frac{8eU}{mr_0^2\omega^2}; \quad q = \frac{4eV}{mr_0^2\omega^2} \quad \{19\}$$

Pohybové rovnice tak přejdou na tvar:

$$\frac{d^2x}{d\xi^2} + (a + 2q \cos 2\xi)x = 0 \quad \{20\}$$

$$\frac{d^2y}{d\xi^2} - (a + 2q \cos 2\xi)y = 0 \quad \{21\}$$

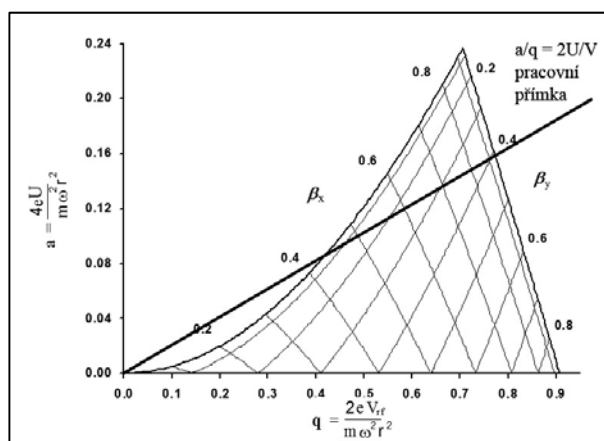
Rovnice [20;21] je soustava Mathieuových diferenciálních rovnic s periodickými koeficienty, jejíž řešení se hledá ve tvaru nekonečných řad. Protože obě rovnice [20; 21] mají podobný tvar, stačí hledat jedno řešení, např. pro  $x$ . Diagram stabilních řešení



**Obrázek 7** Diagram stabilních řešení Mathieuovy funkce

(šrafované plochy) je na obr.7. Ionty s nestabilními drahami budou vykonávat translační pohyb ve směru osy spolu s příčnými oscilacemi v rovině  $xy$ , jejichž amplituda bude s časem narůstat a iont dopadne na některou z elektrod. Ionty se stabilní drahou vykonávají také oscilace kolem osy  $z$ , ale jejich amplituda nepřekročí  $r_0$  a ionty mohou dopadnout na detektor.

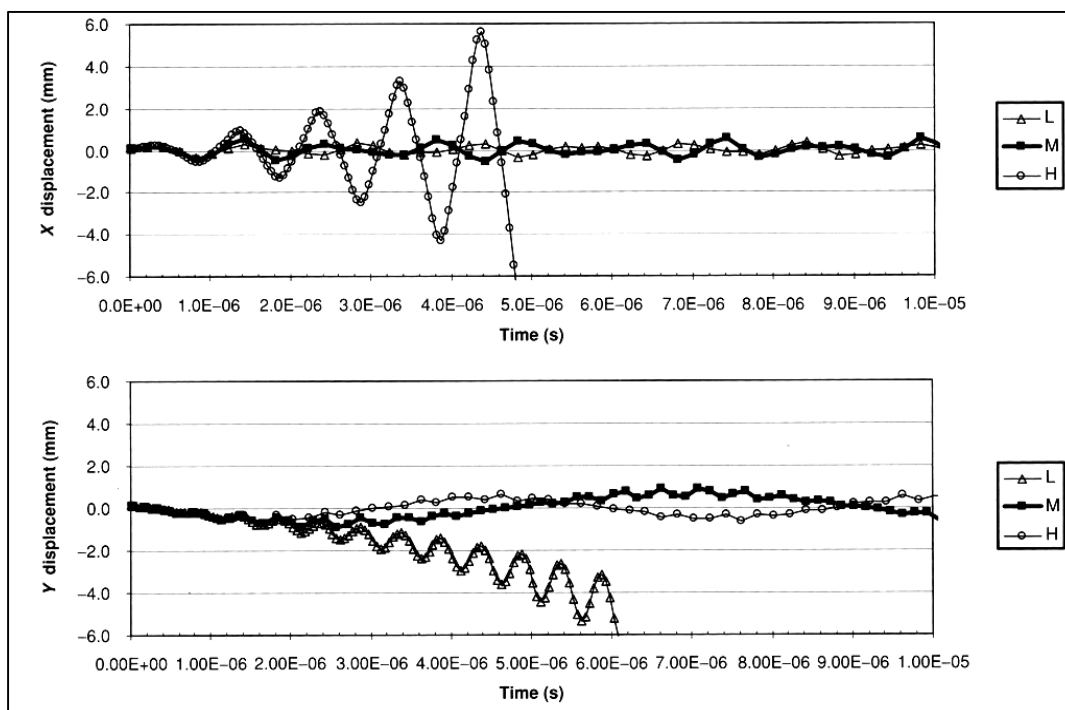
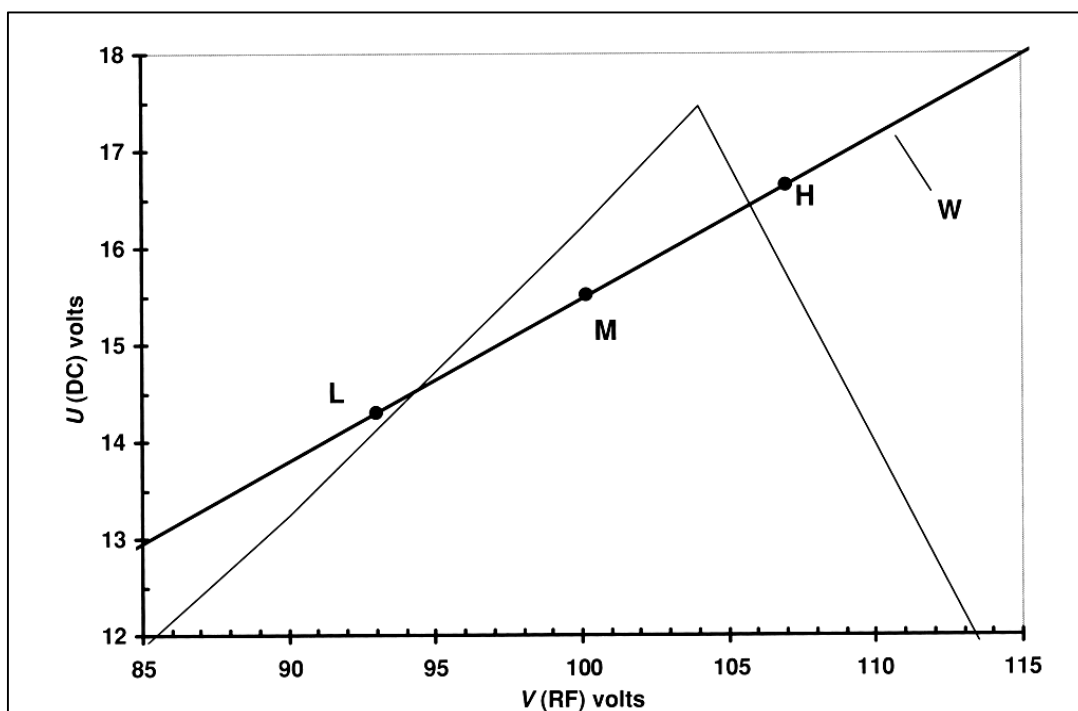
Z hlediska kvadrupólu jako analyzátoru hmot je důležitá první oblast stability nejbližší počátku souřadnicové soustavy. Na obr. 11 je tato oblast stability ve zvětšeném měřítku. Oblast mezi osou  $q$  a křivkami  $\beta_x$  a  $\beta_y$  vyhovuje stabilnímu řešení ja ve směru pohybu iontů po ose  $x$ , tak po ose  $y$ . Při pevných hodnotách  $r_0$ ,  $U$  a  $V$  bude všem iontům stejné hmoty odpovídat jeden společný bod  $(a, q)$ . Poměr  $a/q=2U/V$  je závislý pouze na poměru stejnosměrné a střídavé složky a je nezávislý na hmotě iontů. To znamená, že



**Obr.8:** Diagram stabilních drah v kvadrupólu

pracovní body iontů různých hmot budou při daných hodnotách  $U$ ,  $V$  ležet na společné pracovní přímce, procházející počátkem a jejíž směrnice je závislá na poměru  $U/V$ . Ionty, jejichž pracovní body leží na tom úseku přímky, který je uvnitř stabilní oblasti, se budou pohybovat po stabilních drahách. Směrnicí pracovní přímky lze tento úsek zmenšovat nebo zvětšovat (a tím zvětšovat či zmenšovat rozlišovací schopnost). Pro  $U/V = 0,17$  prochází pracovní přímka vrcholem stabilní oblasti a pouze ionty jedné hmotnosti se budou pohybovat po stabilní dráze (souřadnice vrcholu jsou  $a=0,237$ ;  $q=0,706$ )

Příklad trajektorie iontů v kvadrupólu v případě pod oblastí stability (L), stabilní dráha (M) a nad oblastí stability (H).



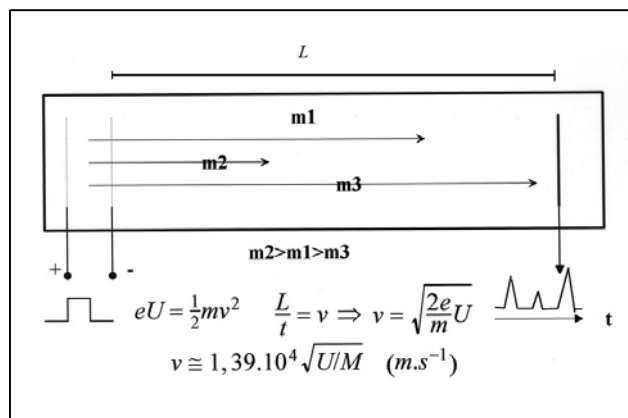
Převzato z lit.[2]

### 3.5.4 Průletový analyzátor (TOF)

Princip separace iontů v režimu Time of Flight (průletových) MS spektrometrů je znám již přes 50 let (W. E. Stephens 1946) a je schématicky znázorněn na obr. 12. Ionty jsou po fokusaci iontovou optikou přiváděny do akceleračního prostoru spektrometru, kde jsou ionty urychleny v elektrostatickém poli (zpravidla v původním směru – on axis, nebo lépe v ortogonálním směru), přičemž okamžitá rychlost při výstupu z akceleračního pole je nepřímo úměrná hmotnosti iontů. Ionty následně vstupují do průletové části, ve které se pohybují k detektoru částic.

Ionty z iontového zdroje jsou zfokusovány iontovou optikou do akceleračního prostoru spektrometru, ze kterého je krátkým kladným elektrickým impulzem (stovky V, mikrosekundy) vypuzen „balík“ iontů do driftové trubice s energií

$$E_{kin} = \frac{1}{2}mv^2 = zU \quad \{22\}$$



Kde  $m$  je hmotnost iontu,  $v$  jeho rychlost,  $z$  náboj iontu (obvykle 1) a  $U$  potenciální

**Obr. 9:** Princip funkce TOF-MS

rozdíl, kterým iont v akceleračtoru proletí. Jestliže ionty jsou monoenergetické, tedy všechny ionty proběhnou při akceleraci stejným potenciálovým rozdílem  $U$  a ionty měly při startu nulovou vlastní kinetickou energii, dojde v driftové trubici k postupnému roztažení „balíku“ iontů tak, že do čela se dostanou nejrychlejší ionty, tedy ionty s největším poměrem  $z/m$ . Doba, za kterou ionty prolétnou driftovou trubicí o délce  $L$  (při zanedbání dráhy iontu v akceleračtoru a detektoru, které jsou mnohem menší než  $L$ ), je:

$$t = L \sqrt{\frac{m}{2zU}} \quad \{23\}$$

a rychlost iontů:

$$v = \frac{L}{t} = \sqrt{\frac{2zU}{m}} \cong 1,39 \cdot 10^4 \sqrt{\frac{U}{m}} \quad \{24\}$$

Nebudou-li ionty dané hmotnosti monoenergetické ( $\Delta U \neq 0, \Delta v \neq 0$ ), pak se vnáší do stanovení hmotnosti nepřesnost  $\Delta m \neq 0$ , která omezuje rozlišovací schopnost. Ionty při akceleraci elektrickým polem proběhnou různou dráhu díky nenulové hloubce iontového svazku a je nutné také uvažovat nenulovou kinetickou energii iontů především díky tepelnému pohybu částic. Zvýšení rozlišovací schopnosti je možné jednak vysokým urychlovacím napětím v lineárním TOF MS, čímž se relativně sníží rozptyl počáteční kinetické energie, jednak reflektorem (reflectron), který umožňuje prostorovou a energetickou fokusaci iontů o stejném  $m/z$ . Průběh elektrického pole v reflectronu závisí na požadavcích konstrukce, používá se homogenní pole, pole se dvěma intenzitami elektrického

pole či s nelineárním polem hyperbolickým či logaritmickým.

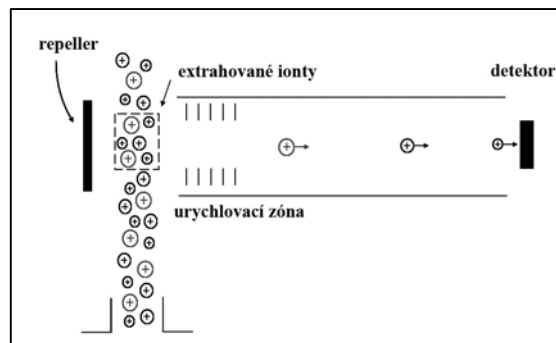
Pro měření nízkých obsahů analytů v přítomnosti vysokých koncentrací matričních prvků je možné použít pomocné vychylovací elektrody, které z iontového svazku odstraní ionty matrice přivedením elektrického impulsu na vychylovací (gate) elektrody v okamžiku, kdy mezi těmito elektrodami prolétá oblak rušících iontů matrice či argonu.

TOF MS registruje celé hmotnostní spektrum, rychlost měření je velmi vysoká, celé spektrum po uran je skenováno 10 – 100  $\mu\text{s}$ , při měření přechodových signálů (chromatografie, ablace) je integrováno  $10^2 - 10^4$  hmotnostních spekter, při statickém měření roztoků vzorků je integrováno  $10^3 - 10^6$  spekter podle typu přístroje a požadavků na snížení šumu (RSD), dosažení nízké meze detekce či přesnosti stanovení izotopových poměrů (až 0,05% RSD).

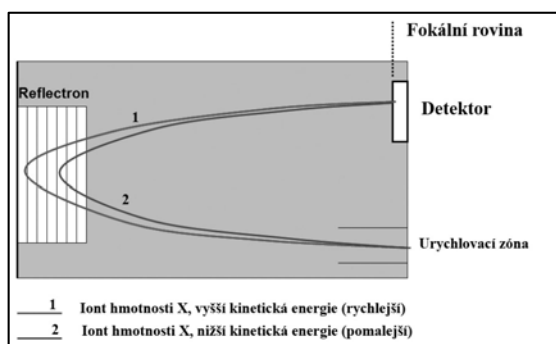
### 3.6. Detektory iontů

V hmotnostních spektrometrech se používají následující typy detektorů:

Faradayův kelímek (Faraday cup), má nízkou citlivost a velkou časovou konstantu. Konstrukčně je jednoduchý a používá se pro velké iontové toky př. u multikolektorů.

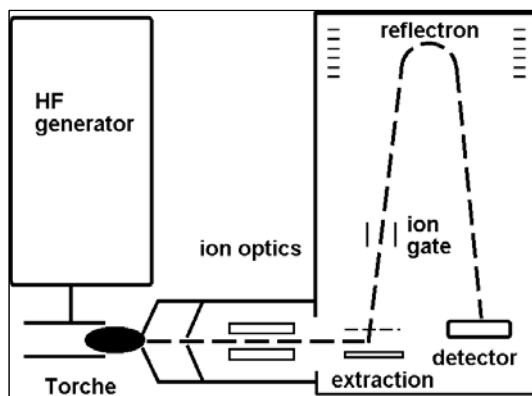


**Obrázek 10** Lineární TOF s urychlovací zónou

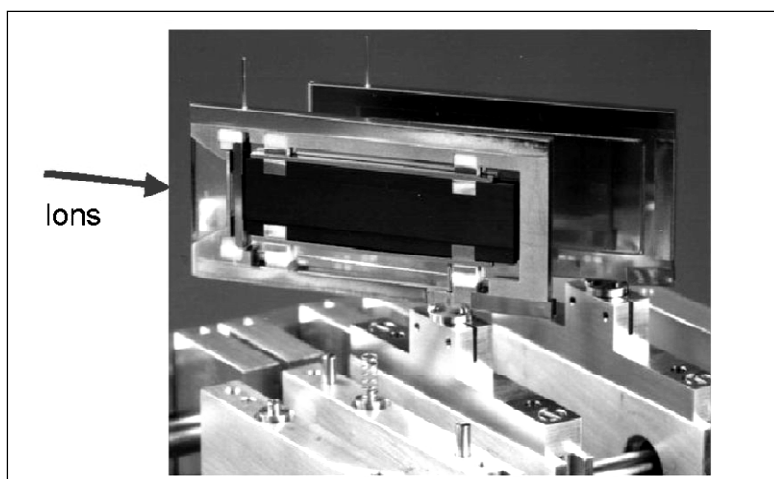


**Obr. 11:** TOF s elektrickým reflektorem (reflectron)

vysokých koncentrací matričních prvků je možné použít pomocné vychylovací elektrody, které z iontového svazku odstraní ionty

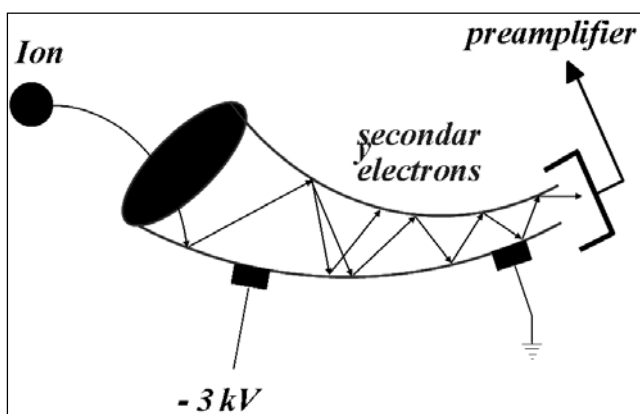


**Obr. 12:** Celkové schéma ICP-TOF-MS



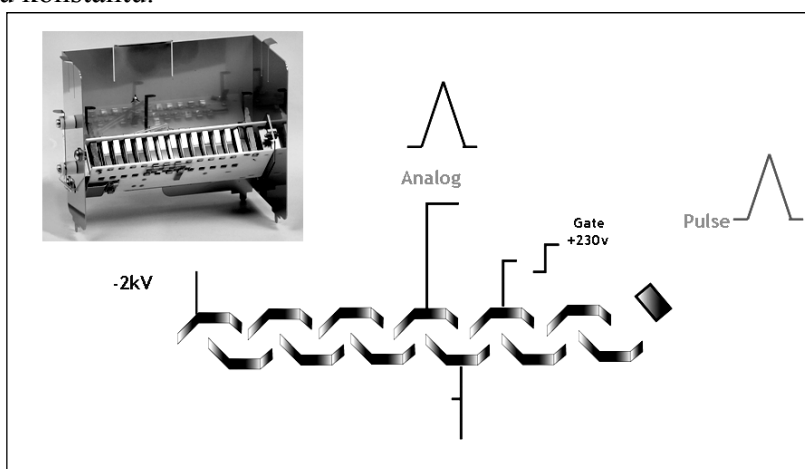
Obr. 13: Faradayův kelímek

Elektronový násobič s kontinuální dynodou (continuous dynode electron multiplier, CEM). Vyznačuje se vysokou citlivostí a krátkou časovou konstantou, ale relativně krátkou životností.



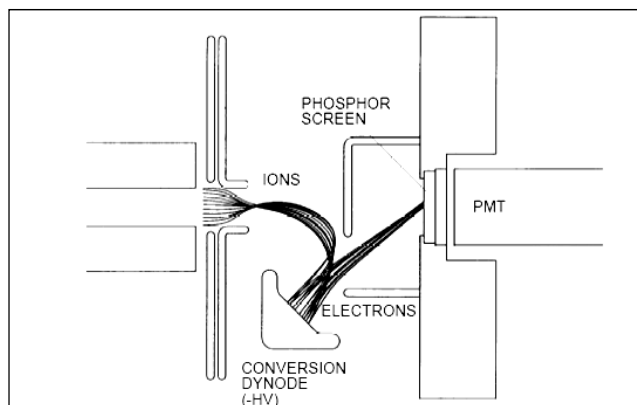
Obr. 14: Channeltron

Elektronový násobič s diskrétními dynodami má vysokou citlivost a relativně malou časovou konstantu.



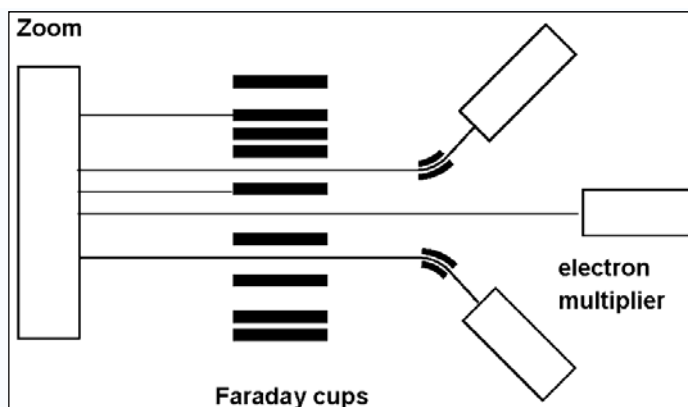
Obr. 15: Elektronový násobič

Kombinace scintilátoru a fotonásobiče. Ionty jsou na konci své dráhy urychleny pomocným elektrickým polem (desítky kV) a dopadnou na scintilátor, jehož záblesky se registrují fotonásobičem. Je poměrně odolný proti znečištění velkým iontovými proudy.



Obr. 16: Scintilační detektor

V tzv. multikolektorech (vyžadujících sektorový spektrometr) se používají kombinace několika detektorů nebo plošné multikanálové detektory. Multikolektory jsou nutné pro stanovení přesných izotopových poměrů.



Obr. 17: Kombinace detektorů v multikolektoru

**Použitá literatura:**

1. Urgošík B.: Dynamické hmotové spektrometry, SNTL Praha 1972
2. Nelms S. M., editor: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook, Blackwell Publishing Ltd., 2005.
3. Kubáň V., Otruba V., Kanický V.: Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-MS, sborník Automatická spektrometrie I, str. 129-147,2 THETA 2007, Český Těšín.

## Kolizně-reakční cela pro eliminaci spektrálních interferencí v ICP-MS

Jiří Machát

Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 3, 625 00 Brno – Bohunice  
[machat@chemi.muni.cz](mailto:machat@chemi.muni.cz)

V hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem se setkáváme stejně jako v optické emisní spektrometrii s interferencemi spektrálními a nespektrálními. Spektrální interference závisí na rozlišovací schopnosti spektrometru. Dnes nejrozšířenější ICP-MS spektrometry využívají kvadrupólový hmotnostní analyzátor (QP). Nespektrální interference jsou podobné jako v OES (vlivy matrice, kyselin, snadno ionizovatelných prvků, vliv na zmlžování, navíc space-charge efekt aj.).

Izobarické překryvy, tedy výskyt částic o stejném  $m/z$ , jsou hlavní příčinou spektrálních interferencí. Tyto izobarické částice pocházejí buď z analyzovaného vzorku, jehož jsou součástí (například interference  $^{87}\text{Rb}$  a  $^{87}\text{Sr}$  nebo interference dvojnásobně nabitých iontů), nebo z pracovního plynu ( $\text{Ar}^+$ ). Dalším typem interferentů jsou polyatomické ionty, které vznikají následně z iontů, produkovaných v ICP. Jde především o molekulové ionty, jejichž původ je:

1. v plazmovém plynu samotném či vznikají reakcí iontů z plazmového plynu se složkami rozpouštědla či vzorku a ruší především v oblasti  $m/z$  40 – 80 ( $\text{Ar}^+$ ,  $\text{ArH}^+$ ,  $\text{ArC}^+$ ,  $\text{ArN}^+$ ,  $\text{ArO}^+$ ,  $\text{Ar}_2^+$  aj.)
2. ve vzorku (majoritní prvky), rozpouštědle (kyslík a vodík z vody) či použitých mineralizačních činidlech (kyseliny) ( $\text{XH}^+$ ,  $\text{OH}^+$ ,  $\text{ClO}^+$ ,  $\text{NO}^+$ ,  $\text{SO}^+$ ,  $\text{SO}_2^+$ ,  $\text{CaO}^+$ ,  $\text{LaO}^+$  aj.)
3. v chemické ionizaci zbytkových plynů ve vakuové části hmotnostního spektrometru ( $\text{H}_2\text{O}^+$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{C}_x\text{H}_y^+$  aj.). [5]

Interference molekulových iontů je možno řešit použitím matematických korekcí, ovšem za cenu negativního ovlivnění meze detekce a pracnosti při stanovení přesné hodnoty korekčního faktoru, která je zpravidla závislá na analyzované matrici. Další možností je odstranění rozpouštědla z aerosolu vzorku (desolvatace), čímž se sníží pravděpodobnost tvorby iontů, které pocházejí z rozpouštědla (ionty s O a H z vody). Rozšířené je použití tzv. „studeného plazmatu“ (cold plasma), tedy plazmatu, generovaného s použitím nízkého výkonu a zvýšeného průtoku nosného plynu. Snížení teploty plazmatu vede ke snížení tvorby polyatomických iontů. Sníží se ale i citlivost zejména pro prvky s ionizační energií nad 7 eV [2] a vzroste podíl oxidů refraktorních prvků. Proces stanovení analytu se studeným plazmatem je také citlivější na vliv snadno ionizovatelných prvků. Někteří výrobci ICP-MS využívají stínící elektrodu („shielding“ nebo „screening“ elektroda), která je umístěna mezi RF cívkou a plazmatem a která při využití studeného plazmatu napomáhá redukovat tvorbu molekulových a atomových interferentů bez vlivu na signál analytu [5]. Nejelegantnějším řešením je použití vysokorozlišovacího sektorového hmotnostního spektrometru (HR-MS, SF-MS). Zvýšení rozlišovací schopnosti těchto spektrometrů je však na úkor snížení citlivosti stanovení, kdy zvýšení  $R$  z 1 na 3000 vede k poklesu citlivosti o řád [2], zvýšení rozlišovací schopnosti na hodnotu 7200 potom vede k poklesu signálu až o 99% [4]. V tabulce č. 1 jsou uvedeny některé izobarické interferenty spolu s rušenými izotopy analytů a potřebnou rozlišovací schopností k jejich eliminaci (převzato a upraveno z [2, 4]), přičemž rozlišovací schopnost 71 700 i 27 000 jsou již nad možnosti současných komerčních vysokorozlišovacích přístrojů pro ICP-MS.

Tabulka 1: Izobarické interferenty a potřebná rozlišovací schopnost k jejich separaci od analytu

Izotop analytu	Rušící ion	Potřebná rozlišovací schopnost
$^{39}\text{K}$	$^{23}\text{Na}^{16}\text{O}^+$	1860
	$^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$	5690
$^{40}\text{Ca}$	$^{40}\text{Ar}^+$	71700
$^{41}\text{K}$	$^{40}\text{Ar}^1\text{H}^+$	4890
$^{44}\text{Ca}$	$^{14}\text{N}^{14}\text{N}^{16}\text{O}^+$	970
	$^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}^+$	1280
	$^{28}\text{Si}^{16}\text{O}^+$	2690
$^{52}\text{Cr}$	$^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$	2370
	$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$	2380
$^{56}\text{Fe}$	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$	2500
$^{75}\text{As}$	$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$	7770
$^{80}\text{Se}$	$^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$	9690
$^{106}\text{Pd}^+$	$^{90}\text{Zr}^{16}\text{O}^+$	27000
$^{156}\text{Gd}$	$^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$	7200

### *Eliminace polyatomických interferencí kolizně-reakční celou*

Další možností eliminace převážně polyatomických spektrálních interferencí je použití kolizně-reakční cely (Collision-Reaction Cell, CRC), vybavené multipólem a vyplněné vhodným pracovním plynem o nízkém tlaku. Tato cely je vřazena do dráhy iontového paprsku mezi extrakční čočky a analyzátor (kvadrupól) (viz obrázek č. 1). Kolizně-reakční cely využívají multipól (kvadrupól nebo multipól vyššího řádu - hexapól, oktapól), jehož prostřednictvím jsou ionty transportovány od vstupu do cely k výstupu a slouží také k zaostření iontového paprsku, který se jinak při průchodu celou rozostřuje.

CRC v ICP-MS jsou založeny na produktech, vyvinutých původně pro tvorbu fragmentů v hmotnostní spektrometrii molekul. Zde kolizně indukovaná disociace (Collision-Induced Dissociation, CID) napomáhá řešení struktury a analýze směsí. Kolizní cely jsou používány také pro základní studium iontově-molekulových reakcí. Název „kolizní cely“ tedy pochází z organické hmotnostní spektrometrie. Kolizně-reakční cely v ICP-MS se ale používají k úplnému či alespoň částečnému odstranění rušících iontů. Hlavním mechanismem odstraňování interferentů však není kolizně indukovaná disociace, protože srážkové průřezy iontů analytů a interferentů jsou stejného řádu [1] a navíc zvýšení tlaku reakčního plynu, nutné pro CID, by zde vedlo ke ztrátě iontů analytu rozptylem. [3] V cely dochází ke srážkám iontů z plazmatu s částicemi pracovního plynu a v závislosti na vlastnostech iontů a pracovního plynu dochází k eliminaci polyatomických iontů principiálně dvěma způsoby – chemickou reakcí nebo diskriminací iontů kinetickou energií.

### *Multipólové kolizně-reakční cely*

Jako kolizně-reakční cely jsou preferovány multipóly vyššího řádu (kvadrupól, hexapól, oktapól) s aplikací radiofrekvenčního napětí na póly, takže slouží pouze pro vedení iontů (nikoli k separaci). Toto neplatí pro dynamickou reakční celou (DRC), která bude popsána níže. Multipóly vyššího řádu mají větší gradient pole směrem k tyčím, a tudíž oblast, ve které se ionty pohybují, je tím užší, čím vyšší je počet tyčí multipólu. Tím je dána také konstrukční velikost CRC a z praktického hlediska také doba, za kterou je CRC naplněna pracovním plynem (výhodnější je vyšší počet pólů – menší cely – rychlejší výměna plynů).



[7] Stabilitní diagram multipólů vyššího řádu je však oproti diagramu kvadrupólu komplikovanější a navíc závisí na vlastnostech vstupujících iontů. [8]

Multipól v kolizně-reakční cele dovoluje zaostření paprsku všech iontů z plazmatu díky takzvané termalizaci iontů. Jde o proces, kdy se přenáší významné množství axiální kinetické energie iontů (energie udělená iontům v plazmatu a dále extrakčními čočkami) na pracovní plyn v kolizní cele. Množství přenesené energie odpovídá energetickým ztrátám, odvozeným od srážkových průřezů. Ionty se fokusují směrem do centra multipólu. Srážkami dochází k poklesu  $E_{KIN}$  a k redukci rozptylu  $E_{KIN}$  jednotlivých iontů stejného  $m/z$ , takže jde o obdobu elektrostatické fokusace u SF-MS. [3] Distribuce  $E_{KIN}$  iontů daného  $m/z$  je zredukována až o 90%, což umožňuje zlepšení účinnosti následujícího hmotnostního analyzátoru. [6] Účinnost srážkové fokusace je závislá na hmotnosti ( $A_r$ ) pracovního plynu a fokusovaného iontu. Pracovním plynem bývá zpravidla inertní plyn o relativně vysokém tlaku (He, Ne, Ar, Xe, nejčastěji He,  $10^{-2} - 10^{-1}$  Pa). Například Xe má díky své vysoké  $A_r$  dramatický vliv na průchod všech iontů. [6] Obecně platí, že  $A_r$  pracovního plynu by měla být menší než u analyzovaného iontu, aby se zabránilo ztrátám iontů rozptylem. [9] S rostoucím tlakem plynu roste množství iontů, které projdou multipólem, avšak při dalším vzrůstu tlaku množství iontů opět klesá díky rozptylu. Srážkové „ochlazení“ a fokusační vlastnosti multipólu lze využít i pro prvky, které nejsou rušeny polyatomickými izobarickými interferenty. Zvýšení citlivosti při použití kvadrupólové cely je až pětinasobné. [9] Je také pozorováno významné snížení vysokofrekvenčního šumu iontového signálu, takže dochází ke zlepšení přesnosti měření izotopových poměrů [11] a vyhlazení velmi krátkých přechodových signálů. [10]

Je-li k eliminaci interferentů využito chemických reakcí, pak je termalizace iontů z plazmatu také předpokladem pro zvýšení účinnosti reakce interferentů s reakčním plynem. Proto se reakční plyny (např.  $H_2$ ) často používají ve směsi s chemicky netečným plynem (He [1], Ne, Xe [10]). Snížení  $E_{KIN}$  vede k prodloužení interakcí mezi reakčním plynem a iontem interferentu, takže účinnost reakce v plynné fázi roste. [1, 10] Kinetická energie iontů také může ovlivňovat kinetiku reakce a její produkty. Reakční celu je proto vhodné provozovat blízko tepelné rovnováhy, tedy kolizně „ochladit“ ionty na teplotu plynu v reakční cele. Konstrukcí kolizně-reakční cely a pracovními podmínkami (rf pole a tlak plynu) jsou dány podmínky, udávající množství energie, dostupné pro reakci. Příspěvek rf pole k reakční energii roste s rostoucí rf amplitudou a klesá s frekvencí a s počtem kolizí za rf cyklus. [8] Je-li dodán prostřednictvím rf pole dostatek energie, mohou probíhat i termodynamicky nedovolené reakce ( $\Delta E > 0$ ) a urychlí se také pomalé reakce, ovšem za cenu vzniku nových interferentů v reakční cele. [9]

### *Eliminace interferentů diskriminací kinetickou energií*

Prvním mechanismem eliminace interferentů je diskriminace kinetickou energií (Kinetic Energy Discrimination, KED). CRC je v tomto případě využívána jako kolizní cela a pracovním plynem je chemicky inertní plyn (He, Ne, Ar, Xe). Molekulové ionty se srážejí s atomy pracovního plynu a ztrácejí tak část své kinetické energie ( $E_{KIN}$ ). Stejně tak se s atomy pracovního plynu mohou srážet i ionty analytu, ale vzhledem k menšímu srážkovému průřezu iontů analytu je pravděpodobnost srážek menší (v porovnání s relativně velkými molekulovými ionty interferentu). Kinetická energie iontů analytu tak poklesne méně, než kinetická energie polyatomických iontů. Aplikací vhodného retardačního potenciálu na výstupu z kolizní cely nastavíme potenciálovou bariéru, kterou nejsou schopny nízkoenergetické polyatomické ionty překonat, zatímco ionty analytu tuto bariéru překonají díky vyšší kinetické energii. Výsledkem je, že rušící ionty neopustí kolizní celu a nejsou dále transportovány do analyzátoru a na detektor (viz obrázek č. 2)

Protože při použití inertních plynů v cele nedochází k chemickým reakcím s pracovním plynem, nevznikají z pracovního plynu nové ionty, které by mohly následně rušit při stanovení jiných analytů, jako je tomu v případě popsaném dále u chemických reakcí. Díky vyšší kolizní frekvenci například mezi ionty  $M^+$  a  $O^+$ ,  $O_2^+$  však může docházet ke zvýšené tvorbě oxidových iontů  $MO^+$ . [2] Přesto je tvorba nových iontů minimalizována inertností použitého pracovního plynu a hmotnostní spektrum je proto prakticky prosté nových iontů. Mechanismus a účinnost eliminace interferentů bývají blízké pro celou řadu rušících iontů a KED lze tedy využít pro většinu běžných i méně běžných polyatomických interferentů a to za prakticky stejných (universálních) podmínek v kolizní cele. Optimalizace pracovních podmínek je tedy rychlá a uživatelsky přívětivá.

Pro správnou funkci kolizní cely a mechanismu diskriminace kinetickou energií je nutné, aby distribuce kinetické energie iontů, vstupujících do cely, byla co nejužší. Při široké distribuci  $E_{KIN}$  dochází k překryvu pásem  $E_{KIN}$  iontů analytů a iontů rušících, takže je následná aplikace retardačního potenciálu neúčinná nebo vede i k nepříznivému potlačení signálu analytu. Vedle termalizace iontů v kolizní cele je k zajištění úzké distribuce  $E_{KIN}$  využívána také stínící elektroda mezi indukční cívkou a plazmatem.

### *Eliminace interferentů iontově-molekulovými reakcemi*

Druhým mechanismem eliminace polyatomických interferentů jsou chemické reakce mezi iontem a částicí pracovního plynu. CRC je v tomto případě využívána jako reakční cela a pracovním plynem je reaktivní molekulový plyn ( $H_2$ ,  $NH_3$ ,  $CH_4$ ,  $O_2$  aj.). Rušící ionty chemicky reagují s pracovním plynem za vzniku částic o rozdílném poměru  $m/z$  a jsou tudíž separovány od iontů analytu v následujícím analyzátoru. Kinetická energie takto vzniklých nových iontů je také podstatně nižší než  $E_{KIN}$  iontů analytu, takže zde opět volbou vhodného retardačního potenciálu můžeme omezit výstup nově vzniklých iontů z cely.

Ionty mohou interagovat s dipólovým momentem polárních molekul či mohou indukovat dipól u nepolárních molekul. Tyto interakce jsou účinné na dlouhé meziatomové vzdálenosti, takže četnost srážek mezi ionty a molekulami je velká. Interakce jsou obvykle dostatečně silné, aby překonaly bariéru aktivační energie exotermických reakcí, takže z termodynamického hlediska dovolené iontově-molekulové reakce jsou zpravidla rychlé., Pravděpodobnost jednoduchého iontově-molekulového přenosu malé částice (elektronu, protonu, vodíkového atomu) záleží zpravidla na tepelném zabarvení reakce, tj. rozdílu ionizačních potenciálů produktů a reaktantů, protože bariéra aktivační energie takové reakce je často nevýznamná. Příkladem je reakce



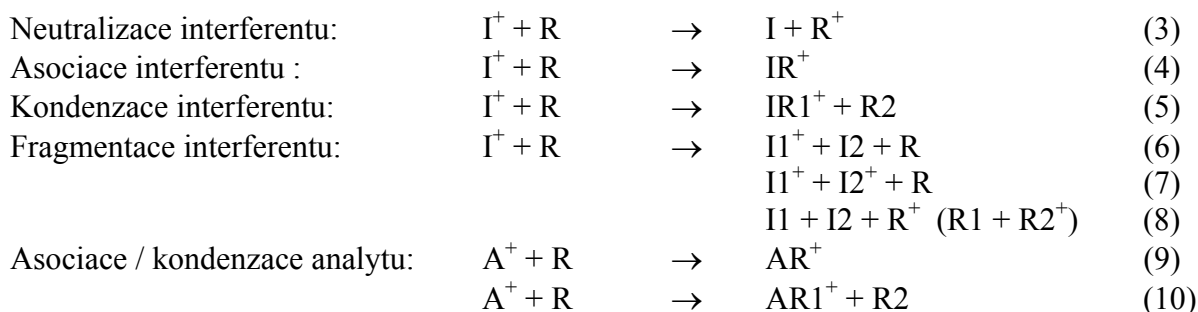
která je rychlá, s rychlostní konstantou  $1,7 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ . Tato reakce je příkladem přenosu náboje (elektronu) a pravděpodobnost jejího proběhnutí je velká, protože ionizační potenciál (EI) amoniaku (10,2 eV) je menší než EI argonu (15,8 eV) a reakce je exotermická. Na druhé straně EI vápníku (6,1 eV) je menší než u amoniaku a tak odpovídající endotermická reakce



není pozorována (rychlostní konstanta menší než  $10^{-13} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ ). Rozdíl v rychlostních konstantách izobarů  $Ca^+$  a  $Ar^+$  dovoluje potlačení signálu  $Ar^+$  až o 9 řádů, zatímco signál  $Ca^+$  zůstává téměř bez změny. Specifičnost těchto reakcí dovoluje dramaticky zlepšit meze detekce při použití kolizně-reakční cely.

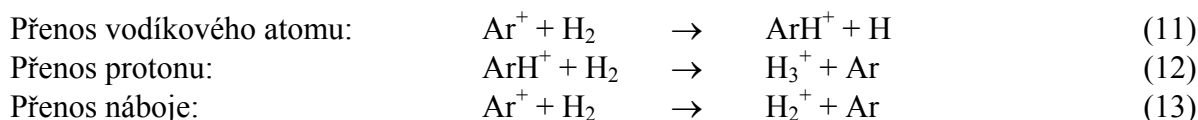
Reakce iontů interferentů a analytů s pracovními plyny jsou řízeny termodynamicky (reakční entalpií) a kineticky (rychlostní konstantou). Termodynamické vlastnosti iontově-molekulových reakcí jsou známy a nebo je lze spočítat na základě slučovacího tepla reaktantů a produktů. Existují také databáze rychlostních konstant reakcí, využitelných pro účely reakčních cel, nicméně jejich rozsah je omezený. Za jistých podmínek lze realizovat také endotermní reakce, a to díky příspěvku kinetické energie iontů k reakční entalpii. Ionty mohou získat dostatečnou  $E_{KIN}$  z extrakčního potenciálu nebo jako příspěvek z radiofrekvenčního pole reakční cely. [10]

Zde jsou uvedeny reakce, které mohou probíhat v reakční cele a lze je využít pro eliminaci interferentů: [10]

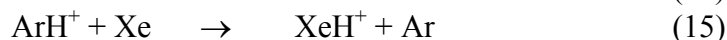
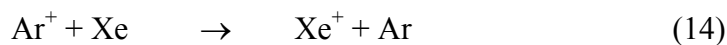


(I = interferent, R = reaktivní komponenta, A = analyt, 1 a 2 jsou fragmenty)

Příkladem reakčního plynu je vodík. Pro eliminaci interferentů je často používán a jeho reakce jsou dobře známy. V procesu odstraňování interferentů hrají důležitou roli zejména tyto reakce : [1]



Rychlostní konstanty těchto tří procesů v plynné fázi (řádově  $10^{-9} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$ ) jsou oproti reakcím vodíku s ionty analytů velké a tyto procesy jsou tedy vysoce selektivní. Výsledkem reakcí je vzrůst m/z o jednotku, disociace interferentu či neutralizace. [13] Účinným mechanismem jsou i nízkooenergetické srážky iontu interferentu s plynem o nízké ionizační energii (Xe nebo  $\text{CH}_4$ ) [3]



Atomy v mnohých polyatomických rušících iontech jsou vázány slabě (např. disociační energie  $\text{Ar}_2^+$  je 1,25 eV, iontů  $\text{ArM}^+$  typicky 0,5 – 1 eV). Rušící ionty mívají obvykle také vyšší vnitřní energii než ionty analytu, takže účinně mohou probíhat jak chemické reakce, tak i kolizně indukované disociace. Oproti tomu disociační energie iontů mnohých oxidových iontů ( $\text{MO}^+$ ) jsou vyšší (např.  $\text{LaO}^+$  s disociační energií 8,89 eV) a často mají tyto ionty podobnou vnitřní energii jako ionty analytů (pro  $\text{LaO}$  4,8 eV, pro  $\text{La}$  5,58 eV). V takovém případě již nelze očekávat účinnou CID a výměnu náboje. Může ale docházet k přenosu protonu. Při reakci s vodíkem tak není disociační energie jediným faktorem, který ovlivňuje reaktivitu oxidových iontů. Vodík však nelze použít pro všechny oxidové ionty a i při jeho použití není dosahováno takové účinnosti v jejich eliminaci, jako při desolvaci aerosolu před vstupem do ICP. [4]

Iontově-molekulových reakcí lze využít při eliminaci izobarických interferencí dvojitým způsobem. V prvním případě jde o odstranění či potlačení rušícího iontu o stejném  $m/z$  jako má analyt. Tento způsob je využíván častěji. Druhou možností je převedení iontu analytu reakcí s vhodným reakčním plynem na ion o rozdílném  $m/z$ , který již není rušen.

Vzhledem k počtu reakcí, které mohou probíhat v reakční cele mezi ionty interferentů i analytů a reakčním plynem je zřejmé, že vzniká řada nových iontů. Nejčastější je tvorba klastrů, vznik fragmentů z reakčních plynů a asociace vzniklého fragmentu s neutrální molekulou za vzniku polymeru. Tato reakce je pozorována především při použití uhlovodíků jako reakčních plynů. Nově vzniklé ionty potom mohou rušit při stanovení jiných analytů v širokém rozmezí  $m/z$  (polymery), případně snižují intenzitu signálu analytu (vznikem klastrů).

Příkladem vzniku klastrů je reakce mezi  $As^+$  a  $NH_3$ , kdy vznikají komplexní ionty  $AsNH_y^+$  o různém  $m/z$ , takže intenzita původního signálu analytu  $As^+$  je snižována. [8][10] Amoniak přitom oproti vodíku odstraňuje interferenty efektivněji, ale reaguje i s analyty. [10] Při použití vodíku vznikají jako nové interferenty  $H_3^+$ ,  $OH^+$ ,  $H_2O^+$ ,  $H_3O^+$ . Důležitou roli v jejich tvorbě hraje voda, přítomná jako zbytkový plyn či jako nečistota ve vodíku. [1] Častá je tvorba iontů s vodíkem jak z interferentů ( $Ar^+$  tvoří  $ArH^+$ ), tak z iontů analytů.

Kolizně-reakční cela, pracující pouze s radiofrekvenčním napětím na pólech, propouští ionty v širokém rozmezí  $m/z$ . Tedy i ionty, které vznikají v cele případnou reakcí interferentů s reakčním plynem, eventuálně reakcí iontů z ICP se zbytkovými plyny vakuového systému. Tyto nově vznikající ionty mohou rušit při stanovení jiných prvků. Jejich kinetická energie je však ve srovnání s energií iontů z ICP malá (jsou tvořeny za laboratorní teploty). Ionty analytů z ICP jsou před vstupem do cely navíc urychleny záporným potenciálem a jejich  $E_{KIN}$  je jen zčásti termalizována v závislosti na  $m/z$  analytu. Aplikací retardačního stejnosměrného potenciálu (dc bias) vzniká bariéra, kterou nízkoenergetické ionty nejsou schopny překonat. Tento retardační potenciál je nižší než je aplikovaná stejnosměrná složka u analyzujícího kvadrupólu. Aplikace dc bias v záporné oblasti ale vede také ke snížení citlivosti. Pokud ruší ionty zbytkových plynů, lze aplikací dc bias potenciálu v rozmezí  $-2$  až  $-4$  V snížit intenzitu těchto iontů až o 3 řády. Naopak nejsou-li přítomny rušící ionty, lze využít vyšší citlivosti měření s dc bias v kladné oblasti. [1]

Dynamická reakční cela (DRC) je založena na stejném principu jako jiné kolizně-reakční cely, rozdílná je však konstrukce a pracovní podmínky DRC. Jde o reakční celu vybavenou kvadrupólem s radiofrekvenční i stejnosměrnou složkou napětí na pólech. DRC kvadrupól má nízkou konstantní rf amplitudu a je charakterizován pásmem propustnosti, které je měněno v závislosti na  $m/z$  měřeného analytu a jehož šířka může být dynamicky nastavena podobně, jako je tomu u analyzujícího kvadrupólu. Hmotnostní filtr DRC pracuje v součinnosti s analyzujícím kvadrupólem. Tato skutečnost umožňuje výrazně omezit tvorbu nových interferentů z reakčního plynu. Po nastavení šířky pásma propouštěných iontů prochází celou pouze ionty stabilní (mj. i ionty analytu). Všechny ostatní nestabilní ionty se rychle vybíjejí na pólech či stěnách cely. Tím je omezen jejich výskyt v cele, takže je zabráněno následným reakcím dceřiných iontů za vzniku nových interferentů. Analytik tak má na výběr širší spektrum reakčních plynů, například uhlovodíky, které jinak tvoří polymerní ionty.

### *Optimalizace parametrů kolizně-reakčních cel*

Kolizně-reakční cela může být využita buď jako kolizní cela, kdy se jako pracovní plyny používají inertní plyny (He, Ne, Ar, Xe) a dochází zde k termalizaci iontů, srážkové fokusaci iontového paprsku a účinné eliminace interferentů mechanismem diskriminace

kinetickou energií, či jako reakční cela s reaktivním plynem ( $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$  aj.), kde navíc dochází i k reakcím mezi rušícími ionty a reakčním plynem.

Hmotnostní spektrometry vybavené kolizně-reakční celou jsou uzpůsobeny pro stanovení analytů rušených izobarickými interferenty (cela „on“, naplněna plynem) i analytů, které rušeny nejsou (cela „off“, bez pracovního plynu, evakuována). Při použití kolizně-reakční cely je plazma provozována za standardních podmínek a lze tedy využít výhod, které poskytuje „robustní“ plazma (vysoký příkon do plazmatu, standardní průtok nosného plynu), či lze podmínky v plazmatu optimalizovat pro daný analyt i nezávisle na použití cely. [2, 7] V souvislosti s volbou přístroje, vybaveného technologií kolizně-reakční cely, je vhodné brát v úvahu zejména náročnost optimalizace pracovních podmínek cely a možnost výběru pracovních plynů či naopak možnost eliminace většího počtu interferentů menším rozsahem použitých pracovních plynů (zjednodušení a urychlení optimalizace i následného měření). Z praktického hlediska provozních nákladů a pracnosti analýz je nutno uvažovat možnost a rychlost změny pracovního plynu v cele během měření jednoho vzorku. Přístroje s rychlou výměnou pracovního plynu a stabilizací podmínek v cele umožňují během jednoho nasátí vzorku stanovení celé řady analytů v různých módech (bez cely, s „kolizním“ plynem, s reakčním plynem). Přístroje, u kterých je nutno měřit zvlášť prvky v jednotlivých módech s opakovaným nasáváním téhož vzorku jsou pro rutinní provoz méně vhodné.

Průtoky plynů se u hexa- a oktapólových reakčních cel pohybují do  $10 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , v případě DRC asi do  $5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  (typicky  $1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  a méně). Průtoky jsou řízeny regulátorem hmotnostního průtoku (mass flow controller) a jsou uváděny pro tlak 100 kPa. Vyššího průtoku (tlaku plynu) se využívá pro pomalé reakce a intenzivní interference. Zároveň však klesá signál analytu (rozptyl a reakce s reakčním plynem). [7] Tlak plynu v reakční cele se pohybuje pod 0,5 Pa (hexapólové cely) či 0,5 – 2,7 Pa (DRC). Tlak v evakuované cele je stejný jako v analyzátorovém kvadrupólu (řádově  $10^{-3}$  Pa). [9] Ionty setrvávají v reakční cele po dobu řádově ms [10] a počet kolizí jednoho iontu v reakční cele je odhadován minimálně na několik jednotek [4].

Optimalizace reakční cely spočívá ve výběru vhodného pracovního plynu (či směsi) a jejich průtoku. Dalším parametrem je zvolení vhodného retardačního potenciálu, který nastaví potenciálovou bariéru pro KED či nově vznikajícím iontům. V případě DRC jde o volbu propouštěného pásma iontů, tedy nastavení parametrů kvadrupólu v DRC tak, aby byla omezena tvorba nových interferentů. [9] Zpravidla se určuje závislost signálu analytu a pozadí (slepý pokus) na průtoku reakčního plynu (obr.3a). Při nízkých průtocích dochází k prudkému poklesu obou signálů, přičemž stejný pokles signálu analytu je způsoben poklesem pozadí dominujícího pod tímto signálem. Při určitém průtoku ale dochází ke zmenšení poklesu signálu analytu, zatímco signál pozadí (interferentu) klesá se stejnou směrnici až k víceméně konstantní hodnotě. Mírný pokles signálu analytu může být způsoben reakcí analytu s reakčním plynem či ztrátami způsobenými rozptylem iontů analytu při rostoucí hustotě plynu v cele. Konstantní nenulová hodnota signálu interferentu při vyšších průtocích reakčního plynu je způsobena zřejmě kontaminací slepého pokusu analytem. Dalším užitečným vztahem je závislost poměru signálu k pozadí nebo meze detekce na průtoku reakčního plynu (obr 3b). [7] Jako optimální volíme průtok, při kterém je již dosaženo nízké a téměř konstantní meze detekce. Dalším zvyšováním průtoku již může docházet k poklesu signálu a zhoršení přesnosti měření.

### *Příklady použití kolizně-reakčních cel*

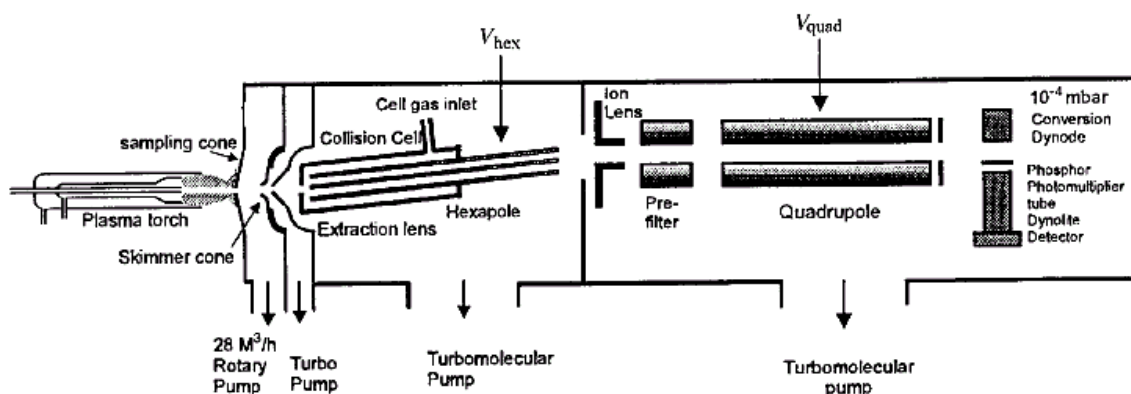
První pilotní práce zkoumaly vlastnosti a chování komerčních přístrojů využívajících technologii reakční cely. [1 – 4, 7 – 12, 14] V současné době se již používá kolizně-reakčních cel jako rutinního nástroje a nově vyráběné kvadrupólové ICP-MS spektrometry jsou jimi

téměř bez výjimky vybaveny. Usnadňují analýzu rutinních vzorků i vzorků s neznámou maticí a umožňují rozšířit aplikaci ICP-MS i na analyty, pro které bylo použití této metody dříve prakticky nemožné. Využit lze takový spektrometr i ve spojení se separačními technikami, např. pro specifickou detekci v chromatografii. [17, 18]

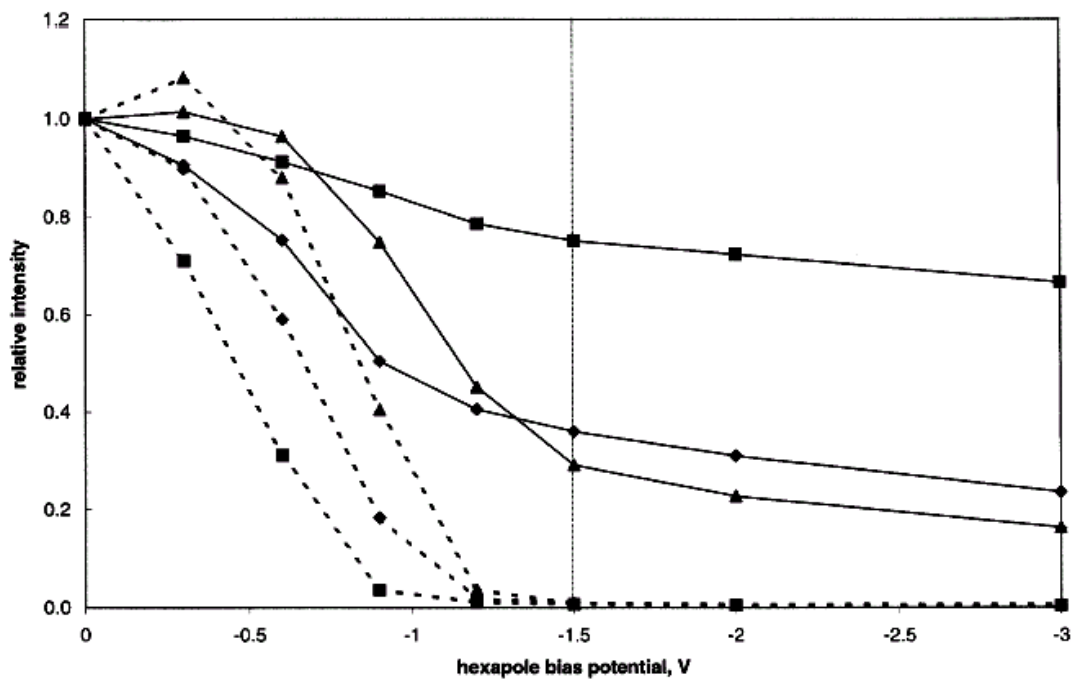
V tabulce č. 2 jsou uvedeny některé příklady analytů, rušících iontů a reakčních plynů, které byly použity pro jejich eliminaci. V obrázku č. 4 je pro ilustraci uvedeno hmotnostní spektrum v rozsahu  $m/z$  35,5 – 44,5, kde významně ruší ionty  $Ar^+$ . Spektrum znázorněné tečkovaně je spektrum slepého pokusu ( $Ar$  pozadí) bez použití cely, použitím cely naplněné vodíkem dojde ke snížení signálů interferentů na hodnoty, znázorněné ve spektru černou barvou. Eliminace  $^{40}Ar^+$  dovoluje stanovení  $Ca$  v koncentracích řádově  $ng \cdot ml^{-1}$  (šrafovaný pík  $m/z$  40).

Tab. 2: Příklady interferovaných analytů a reakčních plynů pro eliminaci interferentů

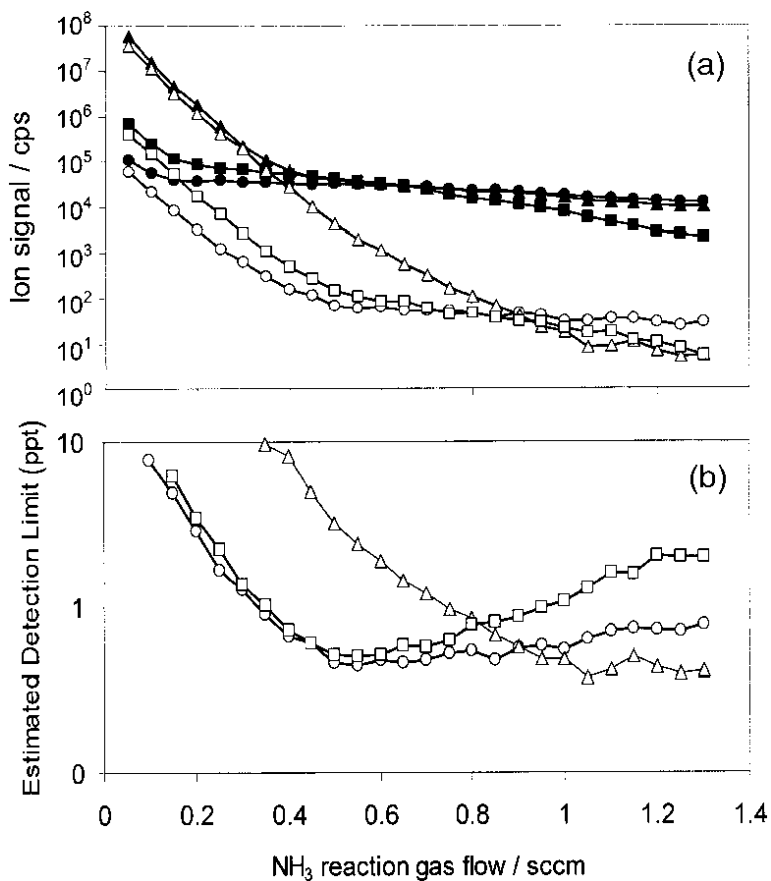
Analyt	Interferent	Reakční plyn	Výsledek	Ref
	$O^+$ , $Ar^+$ , $ArH^+$	$H_2$	snížení o 2-3 řády, CRC	1
$^{40}Ca^+$	$Ar^+$	$H_2$	snížení o 3 řády, CRC	2
$^{52}Cr^+$	$ArC^+$	$H_2$	snížení o 3 řády, umožňuje stanovení 6 pg/ml Cr v 2% MeOH, CRC	2
$^{32}S^+$	$O_2^+$	Xe, Xe+ $H_2$	měření izotopových poměrů S, CRC	6
$^{75}As^+$	$ArCl^+$	$H_2$	( $NH_3$ reaguje s As), DRC	9
$^{80}Se^+$	$Ar_2^+$	$H_2$	( $NH_3$ reaguje s $Ar_2$ pomalu), DRC	9
Cr, Mn, Fe	$ArC^+$ , $ArOH^+$ , $ArO^+$	$NH_3$	$NH_3$ účinnější než $H_2$ , DRC	9
$^{40}Ca^+$	$Ar^+$	$H_2+Ne$	laserová ablace, $H_2$ lepší než $NH_3$ , DRC	10
Nb, Zr	$ArCr$	$H_2$	laserová ablace, $H_2$ lepší než $NH_3$ , DRC	10
Cr	$ArC$	$NH_3$	účinné, DRC	12
Cr, Mn	$ClO$ , $ClOH$	$NH_3$	možné jen stanovení $^{53}Cr$ v chloridové matici, DRC	12
As	$ArCl$	$H_2$	účinné, stan. As v 1000 mg/l NaCl, DRC	12
Se	$Ar_2$	$CH_4$	měření izotopů Se, detekce Se v HPLC na $^{80}Se$ , DRC	12
As, Ca, Cr, Fe, K, Ni, Al	$ClO$ , $ClOH$ , $ArCl$ , $Ar$ , $ArO$	$NH_3$	stanovení v HCl pro polovodiče, DRC	15
Al, Ca, Cr, Fe, K, Mn	$CN$ , $ArH$ , $ArO$ , $ArC$ , $ArOH$	$NH_3$	stanovení v $H_2O_2$ pro polovodiče, DRC	16
Se	$Ar_2$	$He+H_2$	speciace Se (moč, potravní doplňky), CRC	17, 18



Obr. 1: Schéma ICP hmotnostního spektrometru (Platform, Micromass) s kolizně-reakční celou (převzato z [4])

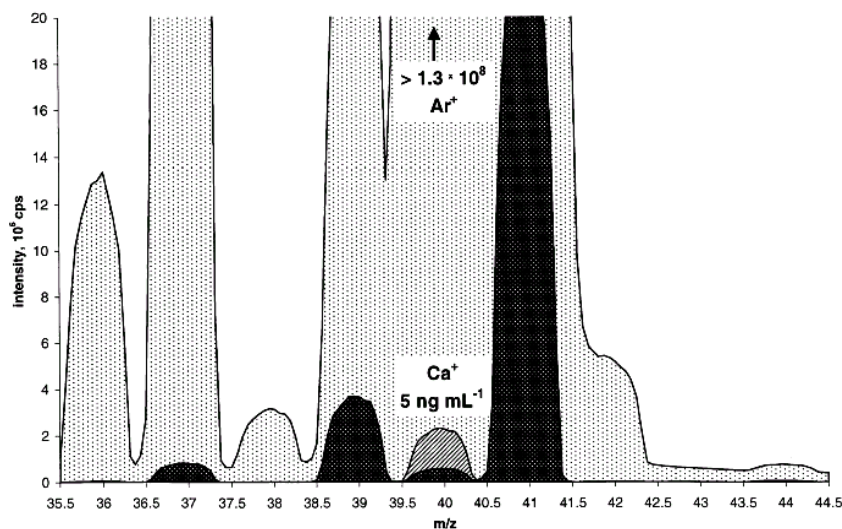


Obr. 2: Pokles signálu analytů (plná čára) a polyatomických interferentů (čárkovaně) při změně velikosti retardačního potenciálu (převzato z [1])



Obr. 3: Optimalizace průtoku reakčního plynu (NH<sub>3</sub>) (převzato z [9])

- Iontové signály na  $m/z = 39$  (○),  $40$  (△) a  $56$  (□) pro blank (deionizovaná voda) a pro K (●), Ca (▲) a Fe (■) 100 μg/l
- Odhad detekčního limitu (3s, integrace 3 s) jako funkce průtoku reakčního plynu pro K (○), Ca (△) a Fe (□).



Obr. 4: Spektrum blanku (Ar pozadí) bez použití kolizně-reakční cely (tečkovaně), s použitím cely naplněné vodíkem (černě) a spektrum roztoku Ca s použitím cely (šrafovaně). (Převzato z [2])





### Seznam použité literatury:

1. Feldman I., Jakubowski N., Stuewer D.: Application of a hexapole collision and reaction cell in ICP-MS Part I: Instrumental aspects and operational optimization, *Fresenius J. Anal. Chem.* (1999) 365:415-421
2. Feldman I., Jakubowski N., Thomas C., Stuewer D.: Application of a hexapole collision and reaction cell in ICP-MS Part II: Analytical figures of merit and first applications, *Fresenius J. Anal. Chem.* (1999) 365:422-428
3. Rowan J.T., Houk R.S.: Attenuation of polyatomic ion interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry by gas-phase collisions, *Appl. Spectrosc.* (1989) 6:976-980
4. Du Z., Houk R.S.: Attenuation of metal oxide ions in inductively coupled plasma mass spectrometry with hydrogen in a hexapole collision cell, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:383-388
5. Eiden G.C., Barinaga C.J., Koppenaal D.W.: Analytical performance of the plasma source RF quadrupole ion trap in elemental and isotopic MS, *J. Anal. At. Spectrom.* (1999) 14:1129-1132
6. Mason P.R.D., Kaspers K., van Bergen M.J.: Determination of sulfur isotope ratios and concentrations in water samples using ICP-MS incorporating hexapole ion optics, *J. Anal. At. Spectrom.* (1999) 14:1067-1074
7. Tanner S.D., Beranov V.I.: Theory, design and operation of a dynamic reaction cell for ICP-MS, *At. Spectrosc.* (1999) 20:45-52
8. Beranov V.I., Tanner S.D.: A dynamic reaction cell for inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS) Part I. The rf-field energy contribution in thermodynamics of ion-molecule reactions, *J. Anal. At. Spectrom.* (1999) 14:1133-1142
9. Tanner S.D., Beranov V.I., Vollkopf U.: A dynamic reaction cell for inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS) Part III. Optimization and analytical performance, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:1261-1269
10. Hattendorf B., Günther D.: Characteristics and capabilities of an ICP-MS with a dynamic reaction cell for dry aerosols and laser ablation, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:1125-1131
11. Bandura D.R., Tanner S.D.: Effect of a collisional damping in the dynamic reaction cell on the precision of isotope ratio measurements, *At. Spectrosc.* (1999) 20:69-72
12. Neubauer K., Vollkopf U.: The benefits of a dynamic reaction cell to remove carbon- and chloride-based interferences by ICP-MS, *At. Spectrosc.* (1999) 20:64-68
13. Sloth J.S., Larsen E.H.: The application of inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry for measurement of selenium isotopes, isotope ratios and chromatographic detection of selenoamino acids, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:669-672
14. Bandura D.R., Beranov V.I., Tanner S.D.: Effect of collisional damping in a dynamic reaction cell on the precision of isotope ratio measurements, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:921-928
15. Bollinger D.S., Schleisman A.J.: Analysis of high purity acids using a dynamic reaction cell ICP-MS, *At. Spectrosc.* (1999) 20:60-63
16. Vollkopf U.: The analysis of high purity hydrogen peroxide by dynamic reaction cell ICP-MS, *At. Spectrosc.* (1999) 20:53-59
17. Marchante-Gayon J.M., Feldman I., Thomas C., Jakubowski N.: Speciation of selenium in human urine by HPLC-ICP-MS with a collision and reaction cell, *J. Anal. At. Spectrom.* (2001) 16:457-463

18. Marchante-Gayon J.M., Thomas C., Feldman I., Jakubowski N.: Comparison of different nebulisers and chromatographic techniques for the speciation of selenium in nutritional commercial supplements by hexapole collision and reaction cell ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* (2000) 15:1093-1102

# Analytické vlastnosti ICP-MS

Viktor Kanický

Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.

## 1 Úvod

Technika ICP-MS je založena na měření toku atomárních iontů z ionizačního zdroje ICP. Ionty jsou separovány v hmotnostním spektrometru podle poměru hmotnosti iontu a jeho náboje ( $m/z$ ) působením elektrického nebo magnetického pole, případně působením obou polí ve vhodných vzájemných uspořádáních. Až na výjimky probíhá ionizace atomů v ICP do prvního stupně, tedy  $z = +1$ . Hmotnostní spektrum představuje závislost počtu detekovaných iontů na poměru  $m/z$ . Podle své konstrukce může hmotnostní spektrometr měřit při více hodnotách  $m/z$  buď současně nebo postupně; má tedy obdobnou funkci jako optický polychromátor nebo monochromátor pro ICP-OES. ICP má jako ionizační zdroj řadu výhod:

- Představuje účinné atomizační prostředí.
- Ionizuje téměř všechny prvky pouze do 1. stupně a polovina prvků periodické soustavy je ionizována více než z 90%.
- Ionty zůstávají soustředěny v analytickém kanálu výboje ICP, což usnadňuje jejich kolekci do hmotnostního spektrometru.

Technika ICP-MS se vyznačuje několika charakteristickými rysy, které jí poskytují další analytické možnosti ve srovnání s ICP-OES:

- ICP-MS umožňuje stanovit nejen prvky, ale i jejich izotopy, což je v optické spektrometrii možné při vysoké rozlišovací schopnosti monochromátoru prakticky jen v případě lithia.
- Na rozdíl od ICP-OES, kde je pozadí (rekombinační kontinuum Ar) neodělitelnou součástí spektra a měřený signál je třeba korigovat, pozadí ICP-MS je tvořeno pouze šumem detektoru. Teoretické meze detekce ICP-MS, vyjádřené pomocí 3-násobku šumu pozadí naměřeného při zavádění vzorku s nulovým obsahem analytu i nulovým obsahem „matrice“ a označované v platné terminologii jak ideální meze detekce (*Ideal Detection Limits - IDL*), jsou proto přibližně o 3 řády nižší než v optické spektrometrii ICP. Výhoda nižších mezí detekce ICP-MS se uplatní zejména v těchto případech:
  - ICP-MS lze efektivně spojit s kapalinovou nebo plynovou chromatografií, případně i s kapilární zónovou elektroforézou. Naproti tomu spojení ICP-OES s HPLC má smysl jen tehdy, jedná-li se o separaci látek s relativně vysokými obsahy kovu nebo metaloidu.
  - Dostatečně nízké meze detekce ICP-MS umožňují přímé stanovení obsahů některých prvků, jejichž limity požadované normami a předpisy jsou příliš nízké z hlediska možností ICP-OES i při stanovení celkových obsahů. Jedná se zejména o Cd a Pb v biologických materiálech, kdy je třeba použít namísto ICP-OES techniku atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETAAS).

K dalším prvkům, u nichž ICP-OES nesplňuje požadavky na meze detekce, patří například As, Se a U.

- Technika ICP-OES je zatížena četnými spektrálními interferencemi, zejména v případě osnovy vzorku s majoritními obsahy prvků, které mají velký počet spektrálních přechodů, například U, W, Fe, Co, Ni a prvky vzácných zemin. Hmotnostní spektra těchto prvků jsou jednoduchá, neboť obsahují pouze signály odpovídající počtu izotopů těchto prvků.
- Stejně jako v ICP-OES nezávisí signál analytu v ICP-MS na jeho speciaci v roztoku, což má význam pro kalibraci při spojení ICP-MS se separačními technikami. ICP-MS jako prvkově či izotopově specifický detektor poskytuje stejně velkou plochu píku např. chromatogramu při stejném obsahu prvku nebo izotopu nezávisle na jeho komplexu, oxidačním stupni, vazbě (např. na uhlík). Prakticky to znamená, že jsme schopni stanovit obsah neznámé specie, tedy složky, jejíž retenční nebo migrační čas neodpovídá retenčnímu (migračnímu) času známého standardu.

ICP-MS má také svá omezení:

- Maximální možný obsah rozpuštěného vzorku ve zmlžovaném roztoku je podstatně nižší než obsah tolerovaný v ICP-OES. Důvodem je skutečnost, že v případě OES vstupují do spektrometru pouze fotony, kdežto hmotnostní spektrometr, zejména jeho detektor, je prakticky „kontaminován“ ionty vzorku. Kritickým místem je však již soustava clon („kónusů“) v rozhraní („interface“) ICP/hmotnostní spektrometr. Nadměrný obsah solí se projevuje jejich usazováním v otvoru ve vstupní cloně (sampling cone) a změnou jeho průměru, což se projevuje driftem signálu. Současně se urychluje opotřebení v důsledku koroze. Zatímco v ICP-OES lze zmlžovat roztoky s obsahem 20 % m/m rozpuštěných látek, ICP-MS toleruje obsahy 0,1 až 0,3 % m/m solí. Meze detekce ICP-MS přepočtené na obsahy v pevném vzorku tedy nemusí být pro konkrétní typy materiálů tak výrazně lepší ve srovnání s ICP-OES.
- Technika ICP-MS je rovněž zatížena spektrálními interferencemi. Zatímco v optické spektrometrii se zdrojem ICP můžeme spektrálně rušenou čáru nahradit výběrem obvykle z většího počtu dalších „prominentních“ analytických čar, v hmotnostní spektrometrii s ICP je výběr omezen na menší počet stabilních izotopů. Některé prvky (např. P, Sc, Mn, As a další) jsou monoizotopické.
- Provozně i investičně je ICP-MS doposud nákladnější než ICP-OES.

## 2 Hmotnostní spektrum a spektrální interference

### 2.1 Ionizace a hmotnostní spektrum

K nejdůležitějším ionizačním reakcím v ICP patří srážka s elektronem, Penningova reakce s atomem Ar excitovaným na metastabilní hladinu a reakce přenosu náboje z iontu  $\text{Ar}^+$ .

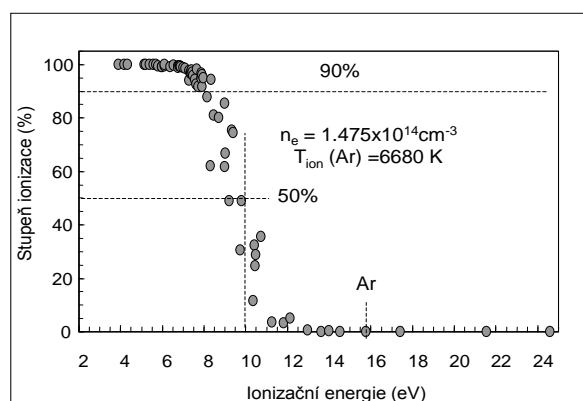
Ionizační rovnováha je popsána Sahovou rovnicí (1)

$$K_M = \frac{n_i n_e}{n_a} = \left( \frac{2\pi m_e k T_{ion}}{h^3} \right)^{3/2} 2 \frac{Z_i}{Z_a} \exp\left(-\frac{E_i}{k T_{ion}}\right) \quad (1)$$

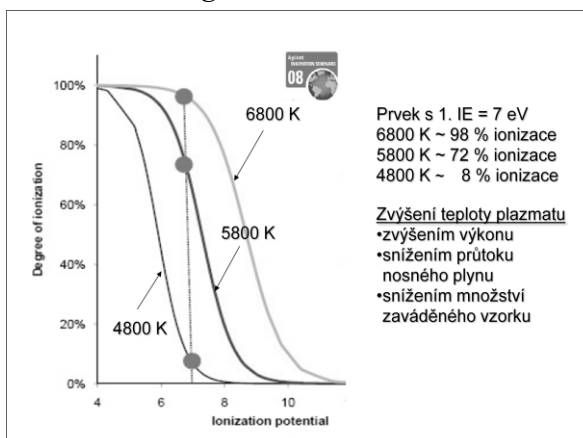
kde  $Z_a$  a  $Z_i$  jsou partiční funkce atomových a iontových stavů,  $n_i$ ,  $n_e$  a  $n_a$  jsou koncentrace iontů, elektronů a neutrálních atomů,  $m_e$  je hmotnost elektronu,  $T_{ion}$  je ionizační teplota a  $E_i$  ionizační energie. Stupeň ionizace  $\alpha$  je definován vztahem (2)

$$\alpha = \frac{n_i}{n_a + n_i} = \frac{(n_i \cdot n_e) / n_a}{n_e + (n_i \cdot n_e) / n_a} = \frac{K_M}{n_e + K_M} \quad (2)$$

Ionizační energie argonu 15,76 eV určuje ve výboji ICP hranici pro ionizaci ostatních prvků. Závislost stupně ionizace na ionizační energii pro konkrétní prvky je znázorněna na Obr. 1, hodnoty ionizační energie pro ionizaci do prvního stupně ( $E_{i1}$ ) jsou uvedeny pro řadu prvků v Tabulce 1. Kromě F, Ne a He mají všechny prvky  $E_{i1} < 16$  eV a ICP je proto téměř univerzálním ionizačním zdrojem. Ze 103 prvků periodické soustavy má 87 prvků  $E_{i1} < 10$  eV a jejich stupeň ionizace je vyšší než 50 %; 69 prvků má  $E_{i1} < 8$  eV a  $\alpha > 90 - 95$  %. S výjimkou Ca, Sr, Ba, Pb, V, Zr, Y a lanthanoidů jsou ionizační energie do druhého stupně  $E_{i2} > 16$  eV. Tvorba iontů  $X^{2+}$  je proto významná pouze v případě těchto prvků, prakticky Sr, Ba a Pb. V Stupeň ionizace závisí výrazně na teplotě plazmatu, jak je zřejmé z Obr. 2. Ta je ovlivněna nastavením parametrů zdroje ICP, především výkonem, průtokem nosného plynu a množstvím vzorku. Podobně jako v optické spektrometrii (při radiálním pozorování) hraje úlohu výška pozorování



Obr. 1 Závislost stupně ionizace na ionizační energii



Obr. 2: Závislost stupně ionizace na teplotě

optického signálu nad indukční cívku, v hmotnostní spektrometrii je to hloubka vzorkování (sampling depth), která popisuje, jak hluboko do centrálního kanálu výboje je zanořena vstupní clona (sampling cone) rozhraní s hmotnostním spektrometrem. Optimální oblast je totožná s analytickou zónou (NAZ) pro měření optické emise, poněvadž tato se vyznačuje maximálním stupněm ionizace a minimálními nespektrálními interferencemi. V NAZ se současně uplatňuje maximální stupeň disociace molekulárních specií, tudíž lze předpokládat, že polyatomické spektrální interference, které mají svůj původ v iontech stabilních oxidů, budou právě v NAZ minimální.

Tabulka 1 Ionizační energie prvků

El.	Ei (eV)	alfa (%)	El.	Ei (eV)	alfa (%)	El.	Ei (eV)	alfa (%)
Cs	3,894	99,980	Bi	7,289	94,140	Te	9,009	66,740
Rb	4,177	99,980	Sn	7,344	96,720	Au	9,225	48,870
K	4,341	99,970	Ru	7,370	96,990	Be	9,332	75,360
Na	5,139	99,910	Pb	7,416	97,930	Zn	9,394	74,500
Ba	5,212	99,960	Mn	7,435	97,100	Se	9,752	30,530
Li	5,392	99,850	Rh	7,460	95,870	As	9,810	48,870
La	5,577	99,910	Ag	7,576	94,450	S	10,360	11,470
Sr	5,695	99,920	Ni	7,635	92,550	Hg	10,437	32,310
In	5,786	99,420	Mg	7,646	98,250	I	10,451	24,650
Al	5,986	98,920	Cu	7,726	91,590	P	10,486	28,790
Ga	5,990	99,000	Co	7,860	94,830	Rn	10,748	35,740
Tl	6,108	99,380	Fe	7,870	96,770	C	11,260	3,451
Ca	6,113	99,860	Re	7,880	94,540	Br	11,814	3,183
Y	6,380	98,990	Ta	7,890	96,040	Xe	12,130	5,039
Sc	6,540	99,710	Ge	7,899	91,640	Cl	12,967	0,456
V	6,740	99,230	W	7,980	94,860	O	13,618	0,042
Cr	6,766	98,890	Si	8,151	87,900	Kr	13,999	0,226
Ti	6,820	99,490	B	8,298	62,030	N	14,534	0,042
Zr	6,840	99,310	Pd	8,340	94,210	Ar	15,759	0,013
Nb	6,880	98,940	Sb	8,461	81,070	F	17,422	0,00019
Hf	7,000	98,890	Os	8,700	79,960	Ne	21,563	0,00001
Mo	7,099	98,540	Cd	8,993	85,430	He	24,587	1,01E-09
Tc	7,280	97,500	Pt	9,000	61,830			

## 2.2 Rozlišovací schopnost a spektrální interference

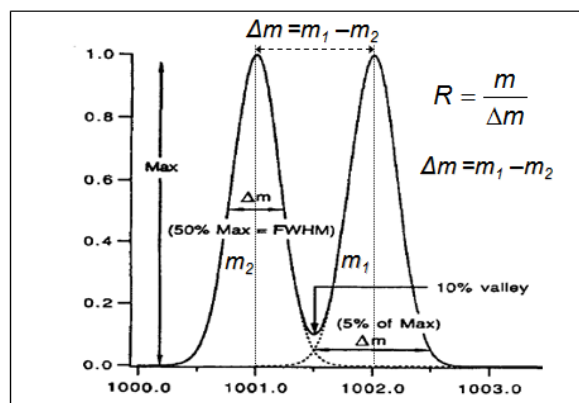
Důležitým parametrem hmotnostního spektrometru pro separaci analytického a rušícího signálu je rozlišovací schopnost  $R$  (resolving power):

$$R = \frac{m}{\Delta m} \quad (3)$$

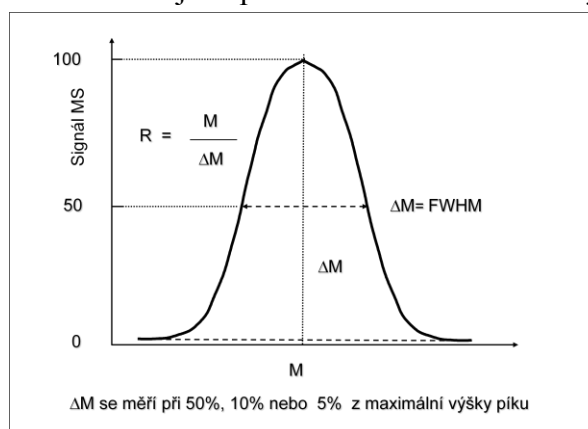
kde  $\Delta m$  je rozdíl hmotností 2 sousedních právě rozlišených signálů stejné velikosti. Definice  $\Delta m$  je odlišná pro různé typy hmotnostních spektrometrů. Pro analyzátory s magnetickým sektorem je rozdíl  $\Delta m$  definován jako diference hmotností dvou (překrývajících se) signálů stejné intenzity, jejichž obalová křivka prochází minimem („údolí“, *valley*), kde hodnota signálu je rovna 10 % maximálního signálu (definice IUPAC) Obr. 3. Rozdíl  $\Delta m$  závisí na  $m$ . Ve skutečnosti lze zřídka předpokládat, že máme k dispozici 2 signály stejné velikosti. Z toho

důvodu je používána definice založená na šířce jediného signálu. Diference  $\Delta m$  je pak definována podle IUPAC jako šířka signálu měřená při 50 %, 5 % nebo 0,5 % výšky maxima signálu. Definice pomocí  $\Delta m$  při 50 % výšky maxima je označována akronymem FWHM (full width at half maximum) a používá se pro vyjádření rozlišovací schopnosti kvadrupólového analyzátoru Obr. 4.

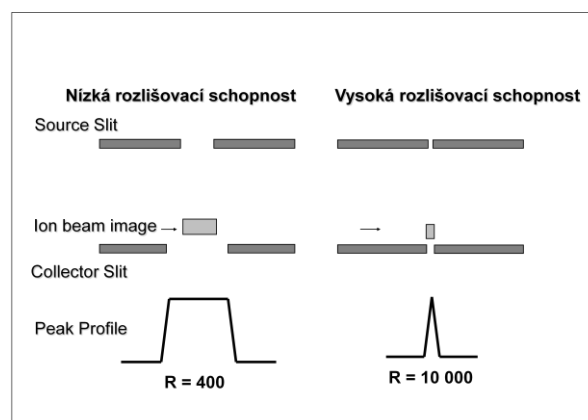
U spektrometru se simultánním měřením („multicollector“, MC-ICP-MS) se rozlišovací schopnost vyjadřuje s využitím průběhu „úbočí“ profilu čáry (shoulder). Hodnota  $\Delta m$  představuje rozdíl mezi hmotnostmi, při níž signál dosahuje hodnoty 5 % z maximální intenzity a hmotností, při níž má signál hodnotu 95 % maxima. Spektrální interference sice nejsou podle této definice rozlišeny úplně, je však splněn požadavek na přesnost měření izotopových poměrů při dosažení kompromisu mezi adekvátní separací signálů analytu a interferentu a zachováním profilu čáry s plochým maximem (flat-top profile). Rozlišení analyzátorů s magnetickým sektorem se nastavuje kombinací volby šířek mechanických štěrbin (vstupní a výstupní). Z principu funkce těchto štěrbin vyplývá, že při nastavení vysoké rozlišovací schopnosti je profil čar trojúhelníkový, kdežto při nízké rozlišovací schopnosti lichoběžníkový (flat-top), Obr. 5. Pro srovnání, profil signálu v kvadrupólovém spektrometru je oblý. Výhodou profilu s plochým maximem je konstantní signál v určitém rozsahu hmotností a tedy jeho vysoká stabilita nezbytná pro stanovení izotopových poměrů. Vysoká rozlišovací schopnost naproti tomu znamená nejen snížení citlivosti signálu (Obr. 6) v důsledku snížené propustnosti (transmission efficiency), ale i požadavek na extrémní stabilitu kalibrace hmotností. Kompromisem je nastavení střední (pseudo-high resolving power) rozlišovací schopnosti



Obr. 3 Definice rozlišovací schopnosti pomocí dvou signálů  $m_1$ ,  $m_2$  stejné velikosti, pomocí  $\Delta m$  jediného signálu při 50 % výšky maxima a  $\Delta m$  jediného signálu při 50 % výšky maxima



Obr. 4 Definice rozlišovací schopnosti pomocí jediného signálu a jeho šířky v poloviční výšce v maximu (FWHM)



Obr. 5 Rozlišovací schopnost a profil signálu v analyzátoru s magnetickým sektorem



s částečným překryvem signálů s plochým maximem. Kombinací tří šířek vstupní a výstupní štěrby se nastaví rozlišovací schopnosti například 300 (nízká), 4000 (střední) a 10000 (vysoká).

V literatuře se často zaměňují pojmy *rozlišovací schopnost (resolving power)  $m/\Delta m$*  a *rozlišení (resolution)  $\Delta m$* .

Rozlišovací schopnost je bezrozměrná veličina, [hmotnost/(rozdíl hmotností)], kdežto rozlišení má jednotku [hmotnost], přesněji řečeno [hmotnost/náboj]. Rozlišení obecně znamená nejmenší pozorovatelnou změnu kvantity, kdežto rozlišovací schopnost

je schopnost rozlišit dvě blízko sousedící kvantity. Rozlišovací schopnost je tedy nepřímo úměrná rozlišení. Oba pojmy jsou analogické s pojmy v optické spektroskopii. Díky nedůslednosti v používání těchto termínů někteří autoři například hovoří o „spektroskopii vysokého rozlišení“, ale mají na mysli „spektroskopii s vysokou rozlišovací schopností“, kdy je ve skutečnosti *rozlišení nízké*, tj. nízká hodnota  $\Delta m$ .

Spektrální interference v ICP-MS lze podle příčiny rozdělit na rušení:

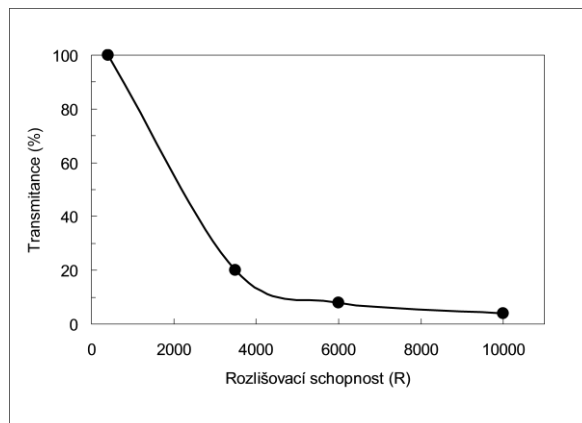
- atomovými ionty isobarů,
- vícenásobně nabitými ionty,
- molekulovými ionty,
- intenzivními sousedními signály.

Atomové (isobarické) interference jsou vyvolány překryvem signálu analytu signálem isotopu jiného prvku se stejnou nominální hmotností (Tab. 2).

Tabulka 2: Izobarické (atomové) interference a izotopy, pomocí nichž lze uskutečnit matematickou korekci

Interferent	Analyt	Korekce
$^{48}\text{Ca}^+$	$^{48}\text{Ti}^+$	$^{44}\text{Ca}^+$
$^{58}\text{Fe}^+$	$^{58}\text{Ni}^+$	$^{56}\text{Fe}^+$
$^{64}\text{Ni}^+$	$^{64}\text{Zn}^+$	$^{60}\text{Ni}^+$

Pro přirozené prvky lze tyto interference pozorovat v rozmezí hmotností 36 až 204; v případě umělých izotopů se jedná o oblast  $m/z$  nad 230. Tyto interference jsou předvídatelné a lze je snadno eliminovat volbou variantního isotopu. Výjimkou jsou izotopy india rušené  $^{113}\text{Cd}^+$  a  $^{115}\text{Sn}^+$ . Na základě známého zastoupení isotopů rušícího prvku lze tyto interference korigovat matematicky. Rozdíl hmotností isotopů se stejnou nominální hmotností je velmi malý a proto je požadovaná rozlišovací schopnost velmi vysoká ( $10^4$  až  $6 \times 10^7$ ); například pro rozlišení Os/Re při hmotnosti 187. Takové hodnoty rozlišovací schopnosti nelze dosáhnout s hmotnostním spektrometrem s magnetickým sektorem.



Obr. 6 Experimentální vztah mezi propustností hmotnostního spektrometru a rozlišovací schopností

Ionty s hmotností  $m_I$  s nábojem  $2+$  ruší signály na hodnotách  $m/z = m_I/2$ , například  $^{88}\text{Sr}^{2+}$  ruší signál  $^{44}\text{Ca}^+$ . Tvorba dvakrát nabitých iontů je podstatně méně četná vzhledem k celkové výši ionizační energie. Vícenásobně nabité ionty se vyskytují v oblasti nižších hmotností a jejich interference vyžadují rozlišovací schopnost v rozsahu 2000 až 10000 dosažitelnou pomocí MS s magnetickým sektorem. Dvakrát nabité ionty tvoří v ICP Ca, Sc, Ti, Sr, Y, Zr, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Th, U.

Interference molekulárními ionty neboli polyatomické interference vznikají v důsledku přítomnosti: *i*) majoritních prvků osnova vzorku; *ii*) atomů rozpouštědla; *iii*) pracovního plynu (Ar). Poslední dva zdroje přispívají velmi výrazně, neboť koncentrace těchto reaktantů je vysoká a i při relativně nízké pravděpodobnosti tvorby polyatomických iontů je výsledkem často významná interference. Rozdíl hmotností polyatomických iontů a izotopů prvků je však relativně velký a separace signálu analytu a polyatomického iontu vyžaduje obvykle rozlišovací schopnost v rozsahu 2000 až 5000 pro střední rozsah hmotností (do hmotnosti cca 70). Pro vyšší rozsah hmotností je třeba rozlišovací hmotnosti cca 10000. Ve speciálních případech, jako je interference  $\text{ArTi}^+$  na  $^{86}\text{Kr}^+$  je třeba rozlišovací schopnosti  $\Delta m/m > 10^6$ . Častými interferenty jsou ionty oxidů. Zejména se jedná o stabilní oxidy Ca, Ti, Cr, Sr, Zr, Mo, Nb, Ba, Ce, La, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Dy, Tb, Er, Ho, Yb, Tm, Hf, Lu, Ta, W, Th, U. V Tabulce 3 jsou uvedeny příklady takto vyvolaných interferencí.

Tabulka3: Interference oxidů vybraných izotopů; v procentech je uvedeno relativní zastoupení daného izotopu

<b>Izotop (%)</b>	<b>Interferent</b>	<b>Analyt</b>
$^{46}\text{Ti}$ ( 7,99)	$^{46}\text{Ti} \ ^{16}\text{O}^+$	$^{62}\text{Ni}^+$
$^{47}\text{Ti}$ ( 7,32)	$^{47}\text{Ti} \ ^{16}\text{O}^+$	$^{63}\text{Cu}^+$
$^{48}\text{Ti}$ (73,98)	$^{48}\text{Ti} \ ^{16}\text{O}^+$	$^{64}\text{Zn}^+$
$^{49}\text{Ti}$ ( 5,46)	$^{49}\text{Ti} \ ^{16}\text{O}^+$	$^{65}\text{Cu}^+$
$^{50}\text{Ti}$ ( 5,25)	$^{50}\text{Ti} \ ^{16}\text{O}^+$	$^{66}\text{Zn}^+$

Přehled polyatomických iontů vznikajících z reagentů použitých při rozkladech vzorků a přehled interferencí vyvolaných těmito ionty je uveden v Tabulce 4.

Příklady požadované rozlišovací schopnosti pro rozlišení některých spektrálních interferencí obsahuje Tabulka 5.

Tabulka 4: Polyatomické interference plynoucí z použití kyselin a peroxidu vodíku pro rozklad vzorků; kritické jsou vyznačené interference na monoizotopických prvcích

Ion	(%)	H <sub>2</sub> O/5%HNO <sub>3</sub>	5% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	5% HCl
<sup>28</sup> Si <sup>+</sup>	92,21	<sup>14</sup> N <sup>14</sup> N, <sup>12</sup> C <sup>16</sup> O <sup>+</sup>		
<u><sup>31</sup>P<sup>+</sup></u>	<u>100</u>	<u><sup>14</sup>N<sup>16</sup>OH<sup>+</sup></u>		
<sup>32</sup> S <sup>+</sup>	95,02	<sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup>		
<sup>35</sup> Cl <sup>+</sup>	75,77	<sup>16</sup> O <sup>18</sup> OH <sup>+</sup>	<sup>34</sup> SH <sup>+</sup>	
<sup>39</sup> K <sup>+</sup>	93,08	<sup>38</sup> ArH <sup>+</sup>		
<sup>40</sup> Ca <sup>+</sup>	96,97	<sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>		
<u><sup>45</sup>Sc<sup>+</sup></u>	<u>100</u>	<u><sup>12</sup>C<sup>16</sup>O<sup>16</sup>OH<sup>+</sup></u>		
<sup>48</sup> Ti <sup>+</sup>	73,98		<sup>34</sup> S <sup>14</sup> N <sup>+</sup> <sup>32</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	
<sup>51</sup> V <sup>+</sup>	99,76			<sup>35</sup> Cl <sup>16</sup> O <sup>+</sup>
				<sup>37</sup> Cl <sup>14</sup> N <sup>+</sup>
<sup>52</sup> Cr <sup>+</sup>	83,76	<sup>40</sup> Ar <sup>12</sup> C <sup>+</sup> , <sup>36</sup> Ar <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>36</sup> S <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	<sup>35</sup> Cl <sup>16</sup> OH <sup>+</sup>
<u><sup>55</sup>Mn<sup>+</sup></u>	<u>100</u>	<u><sup>40</sup>Ar<sup>14</sup>NH<sup>+</sup></u>		
<sup>56</sup> Fe <sup>+</sup>	91,66	<sup>40</sup> Ar <sup>16</sup> O <sup>+</sup>		
<sup>64</sup> Zn <sup>+</sup>	48,89		<sup>32</sup> S <sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	
<sup>69</sup> Ga <sup>+</sup>	60,16			<sup>37</sup> Cl <sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup>
<u><sup>75</sup>As<sup>+</sup></u>	<u>100</u>			<u><sup>40</sup>Ar<sup>35</sup>Cl<sup>+</sup></u>
<sup>79</sup> Br <sup>+</sup>	50,54	<sup>38</sup> Ar <sup>40</sup> ArH <sup>+</sup>		
<sup>80</sup> Se <sup>+</sup>	49,82	<sup>40</sup> Ar <sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>	<sup>32</sup> S <sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	

Tabulka 5 Požadovaná rozlišovací schopnost pro vybrané případy interferencí

Analyt	Interferent	Požadovaná rozlišovací schopnost
<sup>56</sup> Fe <sup>+</sup>	<sup>40</sup> Ar <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	2500
<sup>28</sup> Si <sup>+</sup>	<sup>14</sup> N <sub>2</sub> <sup>+</sup>	960
<sup>32</sup> S <sup>+</sup>	<sup>16</sup> O <sub>2</sub> <sup>+</sup>	1800
<sup>51</sup> V <sup>+</sup>	<sup>35</sup> Cl <sup>16</sup> O <sup>+</sup>	2570
<sup>52</sup> Cr <sup>+</sup>	<sup>40</sup> Ar <sup>12</sup> C <sup>+</sup>	2370
<sup>80</sup> Se <sup>+</sup>	<sup>40</sup> Ar <sub>2</sub> <sup>+</sup>	9640
<sup>39</sup> K <sup>+</sup>	<sup>38</sup> Ar <sup>1</sup> H <sup>+</sup>	5700
<sup>40</sup> Ca <sup>+</sup>	<sup>40</sup> Ar <sup>+</sup>	199000
<sup>75</sup> As <sup>+</sup>	<sup>40</sup> Ar <sup>35</sup> Cl <sup>+</sup>	8000

Signál vysoké intenzity na hmotnosti  $M$  může rušit díky chvostování signálu (peak-tailing) na hmotnostech  $M \pm I$ . Takové rušení lze pozorovat například na signálu izotopu  $^{206}\text{Pb}^+$  v matici Tl díky chvostování izotopu  $^{205}\text{Tl}^+$ . Parametr, který popisuje schopnost hmotnostního spektrometru měřit signál nízké intenzity na hmotnostech  $M \pm I$  v sousedství intenzivního signálu  $M$ , se vyjadřuje jako poměr velikosti signálu na hmotnosti  $M$  k signálu naměřenému na hmotnostech  $M \pm I$ ; přesně řečeno poměr iontového proudu naměřeného při hmotnosti  $M$  k iontovému proudu na hmotnostech  $M \pm I$ , který přísluší specii  $M$ , tedy v nepřítomnosti specií s hmotnostmi  $M \pm I$  (definice IUPAC). Tento parametr se označuje jako *abundance sensitivity*. Pro kvadrupólové spektrometry je charakteristické chvostování směrem k nižším hmotnostem vzhledem k signálu analytu. Je způsobeno neúplným odfiltrováním iontů s různými drahami letu. Chvostování se snižuje s prodlužováním kvadrupólového filtru, zvyšováním frekvence radiofrekvenčního pole a snižováním rychlosti pohybu iontu při průletu kvadrupólovým filtrem.

Strategii řešení spektrálních interferencí teoretickým přístupem uvádí Tabulka 6, instrumentální řešení obsahuje Tabulka 7. Typy spektrometrů s vysokou rozlišovací schopností jsou uvedeny v Tabulce 8.

Tabulka 6: Strategie řešení spektrálních interferencí v ICP-MS na základě teoretických přístupů

Strategie řešení	Nevýhody spojené s daným přístupem
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Matematické korekce na základě zastoupení izotopů.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Měření několika izotopů</li> <li>• Statistická nejistota zastoupení izotopů</li> <li>• Instrumentální diskriminace iontů podle hmotností (<i>mass bias</i>).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Výpočty maximální entropie.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Přístup je problematický v případě, kdy rušící signál je vyšší než signál analytu</li> <li>• Složitý matematický postup.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kalibrace s přizpůsobenou maticí (<i>matrix matched calibration</i>).</li> <li>• Metoda přidavku standardu (<i>standard addition method</i>); srovnání vzorku se standardem.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Komplikace spojené s přípravou matrice.</li> <li>• Pro metodu přidavku standardu potřebujeme větší množství vzorku.</li> <li>• Pro každý vzorek se připravuje standard.</li> <li>• Časová a materiálová náročnost.</li> <li>• Prvky rušící matrice musí být v jednom standardu.</li> <li>• Tvorbu polyatomických iontů lze odhadnout jen s určitou pravděpodobností; procesy nejsou vždy reprodukovatelné.</li> </ul>

Tabulka 7 Strategie řešení spektrálních interferencí v ICP-MS na základě instrumentálních přístupů

Strategie řešení	Nevýhody spojené s daným přístupem
<ul style="list-style-type: none"> <li>Zmlžovač s kryogenní desolvací.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Odstraní se pouze interference vyvolané rozpouštědlem.</li> <li>Redukce interferencí není 100%-ní.</li> <li>Opatření není reprodukovatelné při významné změně matrice.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Zmlžovač s membránovou desolvací (tubulární mikroporézní teflonové membrány; polyimidová vlákna, trubičky z materiálu Nafion).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vhodné pouze pro některé prvky (odstraňuje pouze interference vyvolané rozpouštědlem a dále takovými prvky, které lze převést do plynné fáze, např. chlorovodík vznikající po okyselení vzorku s obsahem chloridů).</li> <li>Opatření není reprodukovatelné.</li> <li>Doprovodné ucpávání membrán způsobuje nestabilní desolvaci.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Odstranění matrice obsahující rušící specie: off-line i on-line zapojený chromatografický systém.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Časově náročné řešení.</li> <li>Často je třeba vyvinout novou separační metodu.</li> <li>Nákladné řešení.</li> <li>Možný zdroj další kontaminace.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Nastavení podmínek v plazmatu typu <i>cool plasma</i>, <i>cold plasma</i>: snížení interferencí vyvolaných ionty vzniklými reakcemi s argonem.</li> <li>Použití některé z úprav plazmové hlavice (stínění, uzemnění: <i>shielded torch</i>, <i>balanced torch</i>, <i>reversed torch</i>, <i>screened torch</i>) snížení interferencí vznikajících v důsledku sekundárního výboje.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zvýšení interferencí vyvolaných ionty oxidů <math>MO^+</math>, jejichž koncentrace se zvýší díky přímé ionizaci neutrálních oxidů.</li> <li>Není vhodné pro všechny prvky (pokles energie).</li> <li>Efekty závislé na složení matrice vzorku.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Použití směsí plynů: snížení ionizační teploty přidávkem dusíku, snížení ionizace přidávkem xenonu.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sníží se pouze interference vyvolané ionty vzniklými reakcí s argonem.</li> <li>Vznikají nové polyatomické interference.</li> <li>Zvýšení nákladů.</li> <li>Nezbytné přizpůsobení systému.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Technologie kolizní a reakční cely.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Účinek není reprodukovatelný pro významně odlišné matrice.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Vysoká rozlišovací schopnost.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nákladná instrumentace.</li> <li>Ztráta citlivosti.</li> </ul>

Tabulka 8: Hmotnostní spektrometry s vysokou rozlišovací schopností

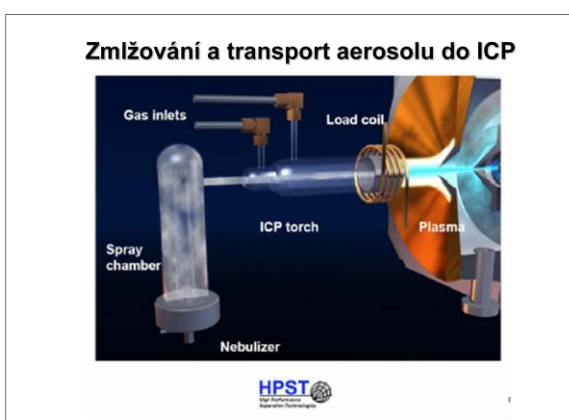
Typ spektrometru	$m/\Delta m$
ICP-QMS	300 (FWHM)
ICP-QMS provozovaný ve vyšších oblastech stability trajektorií	2. oblast: 5000; 3. oblast: 4000
Tandemový ICP-QMS (multiple pass quadrupoles)	až 20 000
ICP-TOFMS	až 2200 (FWHM)
ICP-ITMS (iontová past)	200 – 2000 (FWHM)
ICP- FTICR/MS iontová cyklotronová resonance s Fourierovou transformací	$2 \times 10^5 - 2 \times 10^8$ (FWHM)
ICP-SFMS s magnetovým sektorem a dvojitou fokusací	<12 000 výjimečně až 43 000

### 3 Nespektrální interference (matrix effects) a drift signálu

Nespektrální interference neboli „matrix efekt“, označovaná případně jako multiplikační interference spočívá v rozdílné citlivosti, tj. rozdílné směrnici kalibrační přímky, pro tzv. čisté roztoky (pouze analyt v rozpouštědle) a pro roztoky v přítomnosti osnovy (matrice) vzorku. Nespektrální interference v plazmatu a interference transportu vzorku do plazmatu jsou téhož původu jako interference v optické emisní spektrometrii s ICP. Podrobně je o nich pojednáno ve sborníku *4. kurs ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2008, ISBN 80-903732-4-0*. Interference při separaci a detekci iontů jsou založeny na jevech vyplývajících z podstaty a konstrukce hmotnostních spektrometrů a fungování detektorů iontů a jsou proto charakteristické jen pro ICP-MS

#### 3.1 Interference transportu vzorku do ICP

Tato interference je vyvolána rozdílnými fyzikálními vlastnostmi kalibračních a analyzovaných vzorků, které určují účinnost transportu vzorku ze zásobníku až do plazmatu. Rozdílná viskozita a povrchové napětí ovlivňují při použití peristaltického čerpadla zejména tvorbu a transport aerosolu, jehož rozdělení velikostí částic je funkcí mimo jiné i uvedených fyzikálních vlastností (rovnice Nukiyama-Tanasawa). Odlišné rozdělení velikostí částic aerosolu z kalibračního a analyzovaného roztoku má za následek odlišnou hmotnost roztoku vneseného do plazmatu. Interference zmlžování a transportu vzorku (Obr. 7) představuje zpravidla snížení signálu



Obr. 7 Systém zmlžování a transportu vzorku do ICP – interference zmlžování a transportu

v roztoku s obsahem matrice ve srovnání s čistým roztokem a lze ji korigovat vnitřním porovnávacím prvkem („vnitřním standardem“), modelováním matrice kalibračních roztoků nebo metodou přidavku standardu.

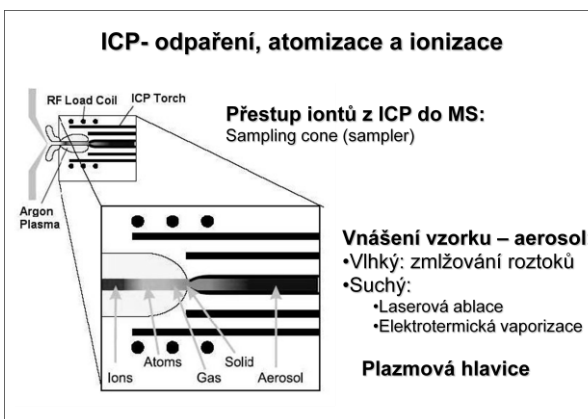
Kromě této systematické konstantní změny citlivosti (směrnice kalibrační přímky) můžeme v extrémních případech pozorovat také *drift* signálu spojený s vylučováním krystalků solí v ústí některých zmlžovačů. Této změně citlivosti signálu lze čelit ředěním roztoků, volbou vhodného zmlžovače nebo zvlhčováním nosného argonu. Pokud je analýza přes uvedena opatření provázena driftem (obvykle poklesem signálu), je možné jej korigovat (za předpokladu vysoké korelace driftů všech signálů) vnitřním porovnávacím prvkem. Přepočet driftem zatížených signálů nebo hodnot koncentrací z kalibrační přímky na hodnoty předpokládané lze provést na základě proměrování vhodného „externího standardu“ ve vhodných časových intervalech.

### 3.2 Interference v ICP

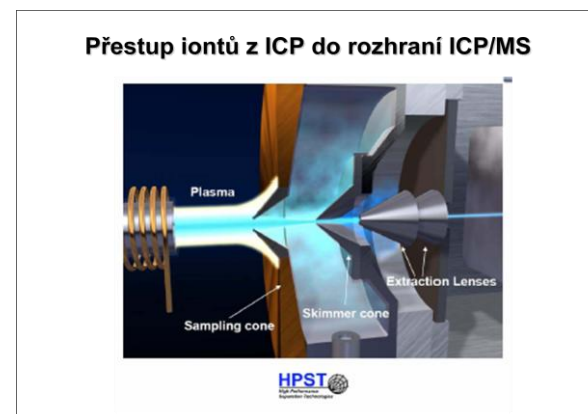
Tato interference souvisí se stupněm ionizace analytu a jeho změnou v závislosti na složení osnovy (matrice) vzorku a na podmínkách v plazmatu (Obr. 8). Posun ionizační rovnováhy v přítomnosti matrice např. snadno ionizovatelných prvků způsobuje potlačení ionizace analytů, které je výrazné zejména za podmínek označovaných jako *cool plasma* (*cold plasma*) používaných pro snížení tvorby argidových iontů ( $ArX^+$ ). Ve většině případů tedy vyvolává přítomnost matrice snížení citlivosti (směrnice) analytů ve srovnání s čistým roztokem bez matrice (*matrix-induced suppression effects*). Snížení spektrálních interferencí (za podmínek *cool plasma*) vyvolaných poklesem tvorby polyatomických iontů obsahujících Ar, je vykoupeno zvýšenou tvorbou oxidů  $MO^+$  (jiné spektrální interference) a poklesem stupně ionizace analytu. Také tuto interferenci lze korigovat vnitřním porovnávacím prvkem, modelováním matrice nebo metodou přidavku standardu; vše současně při použití optimalizovaných pracovních podmínek zdroje ICP.

### 3.3 Interference transportu hmoty do rozhraní ICP/MS

Dalším místem, kde nastává snížení toku iontů, jsou obě kuželové clony, které tvoří rozhraní ICP/MS (Obr. 9). Toto rozhraní se označuje jako *sampling interface*. V závislosti na obsahu rozpuštěných látek (TDS) narůstá v čase po obvodu obou apertur (*sampling*



Obr. 8 Indukčně vázané plazma – interference spojené s odpařením, atomizací a ionizací



Obr. 9 Rozhraní ICP/MS – interference v iontovém paprsku

*cone, skimmer cone*) nános solí, který zmenšuje průřez obou otvorů. Úbytek toku hmoty do spektrometru se projevuje poklesem signálu (*matrix-induced signal drift*), který lze korigovat buď vnitřním porovnávacím prvkem nebo „externími standardy“, tedy roztoky proměřovanými v určitých časových intervalech v průběhu měření série vzorků. Oba kónusy je třeba čistit; *sampling cone* je obvykle po čase poškozen erozí, *skimmer cone* je pokryt nánosy solí, které vznikají kondenzací sloučenin s vysokým bodem varu při adiabatické expanzi v prostoru rozhraní.

### 3.4 Interference v rozhraní ICP/MS a při separaci iontů v hmotnostním spektrometru, diskriminace hmotností

Vzrůst citlivosti signálu MS s hmotností iontu je společný všem konstrukcím moderních hmotnostních spektrometrů (QMS, TOF-MS, magnetický sektorový analyzátor). Znamená to například, že roztok 1 ng/ml  $^{238}\text{U}$  poskytuje vyšší signál než roztok 1 ng/ml  $^7\text{Li}$ . Uvážíme-li, že v roztocích o stejné hmotnostní koncentraci (ng/ml) je  $(238/7)$  - krát více atomů  $^7\text{Li}$  než atomů  $^{238}\text{U}$  a že stupeň ionizace je pro oba zmíněné prvky v prvním přiblížení téměř 100%-ní, očekávali bychom trend právě opačný, tedy pokles citlivosti s rostoucí hmotností iontů. Příčina vyšší citlivosti (*respons*) těžších iontů spočívá v procesech, které se odehrávají v prostoru rozhraní ICP/MS a v následující iontové optice. Těmito procesy jsou:

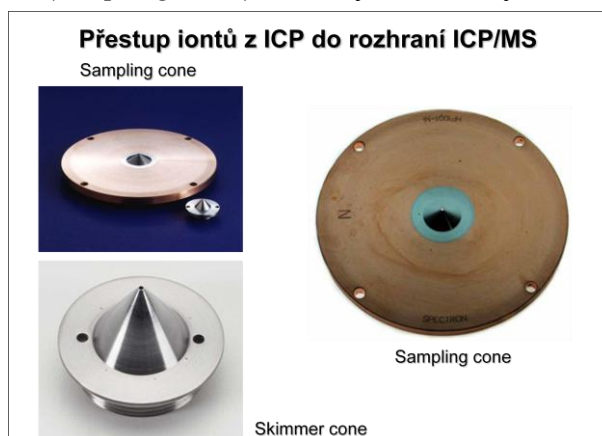
- i) vliv prostorového náboje (*space charge effect*);
- ii) rozptyl iontů srážkami (*collisional scattering*).

Abychom mohli ukázat, ve které fázi svého putování hmotnostním spektrometrem jsou ionty vystaveny okolnostem, za nichž se mění jejich relativní zastoupení v iontovém paprsku ve srovnání s výbojem ICP, musíme popsat části hmotnostního spektrometru a procesy, které se v nich odehrávají.

#### 3.4.1. Rozhraní ICP/MS (*sampling interface*)

Úloha ICP/MS rozhraní spočívá v převedení iontů z plazmatu o teplotě 7500 K a tlaku 1000 mbar do prostoru spektrometru o teplotě cca 300 K a tlaku  $10^{-4}$  mbar (QMS) až  $10^{-8}$  mbar (analyzátor s magnetickým sektorem). Rozhraní je tvořeno *expanzní komorou* (*expansion chamber*) mezi plazmovým výbojem a hmotnostním spektrometrem, v níž je (dvoustupňovou) rotační vývěvou s kapacitou čerpání  $18 - 30 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  udržován snížený tlak (2 až 5 mbar). Stěna komory na straně plazmatu je opatřena kuželem (*sampling cone*) vnořeným do analytického kanálu ICP. Vrchol vodou chlazeného kužele (materiálem je obvykle Ni, Pt, Cu, Al) obsahuje kruhový otvor o průměru 0,5 až 1 mm - *vnější vstupní otvor* (Obr. 9, 10), kterým vstupují ionty z plazmatu do prostoru rozhraní. Stěna mezi komorou rozhraní a spektrometrem s iontovou optikou je opatřena dalším kuželem (*skimmer cone*), v jehož vrcholu je otvor o průměru 0,4 až 0,7 mm - *vnitřní vstupní otvor* (Obr. 9, 10).

Tato druhá apertura vymezuje svazek iontů vstupujících do prostoru s iontovou optikou.

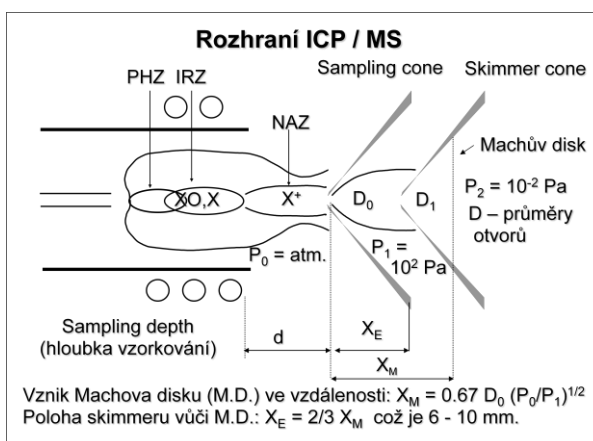


Obr. 10 Apertury rozhraní: Sampling cone a Skimmer cone.



Vnější vstupním otvorem vnořeným do normální analytické zóny centrálního kanálu ICP vtéká do rozhraní slabě ionizovaný (~ 0,1 %) argon s ionty vzorku. Oblak atomů, iontů, molekul a elektronů v prostoru se sníženým tlakem expanduje ve formě trysky (*free jet*). Adiabatická expanze urychluje tok plynu na účet jeho tepelné energie až nad hodnotu nad rychlost zvuku. Na dráze přibližně 10 mm klesá teplota z hodnoty 5000 až 7500 K zdroje ICP na kinetickou teplotu plynu 200 až 300 K. Rychlý pokles teploty plynu (~ 5 μs) nastává při současném zachování kinetické energie elektronů na úrovni teploty v plazmovém zdroji; ustavuje se nerovnovážné plazma. Expanze však vyvolává významný pokles hustoty elektronů, což společně s nízkou kinetickou teplotou těžkých částic zabraňuje rekombinaci iontů a elektronů (*frozen plasma composition*). Nadzvukový proud plynu (*supersonic jet*) je radiálně vymezen rázovou vlnou válcovitého tvaru (*barrel shockwave*), axiálně je vymezen Machovým diskem (Obr.11). Vnitřní vstupní otvor ve vrcholu *skimmer cone* je umístěn v oblasti ticha (*zone of silence*) před Machovým diskem. Profil *skimmer cone* je ostřejší (kužel má menší vrcholový úhel), aby byl zajištěn minimální odpor vůči expanzi vstupujícího plynu.

Tlak plynu v prostoru rozhraní ICP/MS ovlivňuje citlivost a meze detekce. Zvýšením kapacity čerpání z 25 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> na 100 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> se sníží tlak v expanzní komoře na 1 – 2 mbar, v důsledku čehož se zvýší citlivosti pro prvky těžší než Ar. Citlivost prvků lehčích než argon se naopak sníží. Zvýšená kapacita čerpání je nutná zejména v případě, kdy je použito jako nosného plynu helia. Tlak plynu v expanzní komoře se zvýší při sníženém příkonu do plazmatu, tj. v režimu „cool plasma“. Jestliže se v tomto režimu následně zvýší čerpání a sníží tlak, pak se výrazně zvýší citlivost prvků těžších i lehčích než argon. Jev se vysvětluje nižším tokem iontů expanzní komorou a tedy i menšími ztrátami lehkých iontů. Lehké ionty jsou totiž vlivem kladného náboje soustředěného v ose iontového paprsku vymrštěvány v radiálním směru a paprsek je o ně ochuzen, viz v dalším

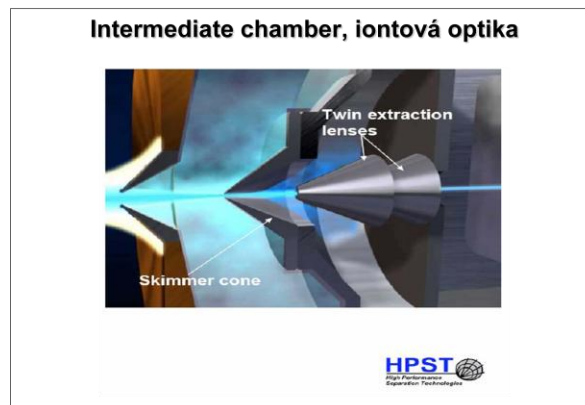


Obr. 11 Tlakové poměry v rozhraní ICP/MS, Machův disk

směru a paprsek je o ně ochuzen, viz v dalším textu *space-charge effect*. V režimu „cool plasma“ je koncentrace dominantních nositelů kladného náboje Ar<sup>+</sup> snížena a *space-charge effect* je méně výrazný.

### 3.4.2. Extrakce iontů (*intermediate chamber*)

Za *skimmer cone* následuje prostor iontové optiky, označovaný jako *intermediate chamber* (Obr. 12). Vakuum je zde vytvářeno turbomolekulární pumpou s kapacitou čerpání 0,2 až 0,5 m<sup>3</sup>s<sup>-1</sup>. Mimo osu *skimmer cone* se dosahuje vakua 10<sup>-5</sup> mbar; na ose se ustavuje tlak 10<sup>-3</sup> až 10<sup>-2</sup> mbar. Ionty nesené



Obr. 12 *Intermediate chamber* a iontová optika – *space-charge effect*

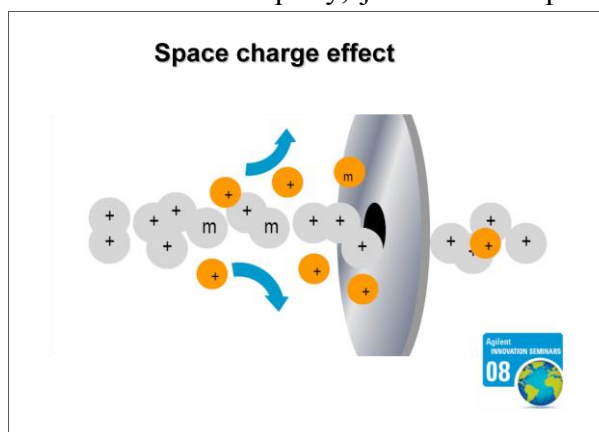
nadzvukovým tokem (*supersonic jet*) vznikajícím v *expanzní komoře* a nasávané *vnitřním vstupním otvorem* do prostoru iontové optiky díky tlakovému rozdílu *expansion/intermediate chamber* mají stejnou rychlost jako proudící argon, tj.  $2500 \text{ m s}^{-1}$ . Před vstupem do elektrostatického pole zaostřovací optiky je tedy rozptyl kinetické energie iontů dán její závislostí na hmotnosti ( $E_{kin} = \frac{1}{2}m \cdot v^2$ ), což představuje ve škále iontů od Li po U rozsah 0,5 až 10 eV.

Za vnitřním vstupním otvorem nastává separace částic podle jejich elektrických nábojů, a to i bez působení vnějšího elektrického pole. Při tlakovém spádu  $2 \text{ mbar}/10^{-3} \text{ mbar}$  na ose *skimmer cone* se uplatňují v toku iontů a elektronů: *i*) rozdílné mobility iontů a elektronů; *ii*) rozdíly ve velikostech částic; *iii*) vysoká kinetická teplota elektronů. Výsledkem je radiální difúze elektronů od osy *skimmer cone* směrem jeho k vnitřní stěně. Kladné ionty zůstávají soustředěny na ose společně s neutrálními atomy. V relativně malém objemu se koncentruje velký počet kladných částic, které se vzájemně odpuzují. Lehčí ionty mají nižší kinetickou energii a jsou proto působením elektrostatických odpuzivých sil vytlačovány radiálně mimo paprsek podstatně větší měrou než těžší ionty (Obr. 13).

Tento tzv. *space-charge effect* (vliv prostorového náboje) způsobuje, že podíl lehčích iontů v iontovém paprsku, který je dále extrahován do iontové optiky, je menší než podíl těžších iontů.

Popsaný vliv rozdílné kinetické energie (hmotnosti) iontů na výsledné zastoupení iontů v ose iontového paprsku je tak výrazný, že dokáže zvrátit trend poklesu citlivosti (citlivost = MS-signal připadající na jednotkovou hmotnostní koncentraci v roztoku analytu, tj.  $1/[\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}]$ ) s rostoucí hmotností iontů, jenž je dán nepřímou úměrou mezi počtem atomů (iontů) v látce o jednotkové hmotnosti a molární hmotností prvku. Z podstaty *space-charge effect* vyplývá, že zastoupení iontů různých hmotností v paprsku bude ovlivňováno maticí vzorku, zejména vysokými koncentracemi různých solí (tavidel, kyselin), které jsou příčinou dalšího typu matrix efektu (nespektrální interference). *Space-charge effect* byl pokusně minimalizován produkcí elektronů do prostoru za *skimmer cone* z povrchu žhaveného vlákna. Kromě *space-charge effect* přispívají k nízké citlivosti lehkých iontů *srážkové procesy*.

Závislost citlivosti (respons) iontů na jejich hmotnosti jako důsledek *vlivu prostorového náboje* je příčinou skutečnosti, že do hmotnostního analyzátoru vstupují ionty prvků, resp. ionty izotopů daného prvku v jiném poměru, než v jakém jsou obsaženy ve vzorku, resp. než odpovídá přirozenému zastoupení izotopů. Toto zkreslení je označováno jako *mass bias*, případně jako *mass discrimination* (*diskriminace hmotností*). Závislost mezi zkreslením a hmotností iontu je popsána obvykle exponenciální závislostí; existuje však také popis mocninnou funkcí nebo dokonce lineární (zvláště pro popis oblasti lehkých izotopů Li a B). Pro přesná měření izotopových poměrů se provádí korekce *diskriminace hmotností*



Obr. 13 Interference vyvolané *space-charge* efektem – princip

pomocí poměru páru stabilních izotopů. Jak bude uvedeno později, závislost *respons* na hmotnosti iontů je dále ovlivněna také detekčním systémem.

Geometrie *skimmer cone* ovlivňuje i spektrální interference, konkrétně pozadí tvořené signály molekulových iontů. Patrné je to zejména u iontu  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ , který ruší signál izotopu železa  $^{56}\text{Fe}^+$ . *Skimmer cone* s širokým úhlem na výstupu do *intermediate chamber* zajišťuje vysokou citlivost signálu analytu, ale také přináší vysokou úroveň pozadí danou tvorbou molekulárních iontů. Zužováním, tj. zmenšováním vrcholového úhlu *skimmer cone* se naopak zmenšuje prostor na výstupu z trysky do *intermediate chamber*, zvyšuje se tlak a podporuje se srážková disociace molekulových iontů, jejichž přítomnost způsobuje zvýšení hodnoty koncentrace ekvivalentní pozadí (*BEC*). Pokles *BEC* díky zvýšené srážkové disociaci znamená současně snížení mezí detekce. Stav povrchu *skimmer cone* hraje roli při vzniku molekulárních iontů (některých na bázi Ni) jakožto potenciálních spektrálních interferentů. Nejvýraznější tvorba těchto iontů je patrná u *skimmer cone* s čerstvým, nenarušeným povrchem, zatímco použitý *skimmer cone* vykazuje nižší úroveň určitých molekulových iontů a lepší meze detekce některých izotopů.

V *intermediate chamber* jsou ionty extrahovány vysokým záporným nebo nízkým kladným napětím (-1000V až +10 V) vloženým na extrakční čočku. Ionty jsou extrahovány do prostoru iontové optiky tvořené elektrostatickými čočkami, kde je paprsek kladných iontů zaostřen. Působení elektrostatického pole separaci nábojů ještě zvýší a prohloubí *space-charge effect*, který má vazbu na nespektrální interference. Vysoké záporné extrakční napětí zvyšuje citlivost těžkých prvků, ale současně zvyšuje i pozadí (molekulární ionty, atomární ionty, instrumentální pozadí) při hmotnostech nižších než 80 amu. Nižší (záporné) extrakční napětí poskytuje vyšší citlivost iontů s nižší hmotností. Nižší extrakční napětí je vhodné pro rutinní analýzy, kdy není vyžadována vysoká citlivost a sníží se hodnoty *BEC*; zejména v případě prvků s nízkým ionizačním potenciálem.

### 3.4.3. Zaostření iontového svazku (*intermediate chamber*)

Tzv. *iontová optika*, umístěná v *intermediate chamber*, slouží k zaostření iontového svazku do hmotnostního analyzátoru. Iontová optika je soustava elektrostatických čoček, která funguje jako filtr pro ionty s různou kinetickou energií. Také tato část se podílí na nespektrálních interferencích – matrix efektech. Trajektorie iontů v prostoru elektrostatických čoček totiž závisejí nejen na jejich kinetické energii, ale i na *space-charge effect*, který je ovlivňován složením matrice vzorku V konečném důsledku se iontová optika podílí na *matrix-induced suppression effects*.

*Intermediate chamber* je provozována při tlaku  $10^{-5}$  mbar a poslední elektrostatická čočka slouží současně jako diferenciální čerpací apertura. V navazující *analyser chamber*, kde je umístěn analyzátor (kvadrupólový filtr) a detektor, je udržován tlak  $10^{-6}$  až  $10^{-7}$  mbar. V *intermediate chamber* je umístěna obvykle *kolizní/reakční cela*, která slouží k likvidaci polyatomických iontů – spektrálních interferentů. V celách je udržován tlak  $10^{-2}$  až  $10^{-3}$  mbar plynu určeného pro kolizní/reakční procesy ( $\text{H}_2$ , He,  $\text{O}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$ ). *Analyser chamber* obsahující magnetický sektor je provozována při tlacích  $10^{-8}$  -  $10^{-9}$  mbar.

Elektrostatické čočky iontové optiky mají tvar kovových disků s centrálním kruhovým otvorem nebo tvar trubic. U analyzátorů s magnetickým sektorem je průřez paprsku tvarován do obdélníka. Šířka vstupní štěrby u magnetického sektoru pak řídí hmotnostní rozlišení.

Iontová optika je náchylná ke kontaminaci z plazmového zdroje. Čím blíže je umístěna k ICP, tím častěji je třeba ji čistit, zejména při analýze vzorků s obsahem TDS > 0,1% m/v. Povlak vytvořený na povrchu iontové optiky je špatně vodivý až nevodivý. Posléze se na tomto povlaku zachycují kladné ionty, které svým nábojem ovlivňují dráhu iontového paprsku nepředvídatelným způsobem a signál je postižen driftem a nízkou propustností.

Pozadí v ICP-MS může být zvýšeno díky dopadu fotonů na detektor. V ose iontového paprsku (a současně paprsku fotonů) je umístěn terčik (*photon stop*), který slouží k začlenění analyzátoru a detektoru. Ionty jsou vedeny kolem překážky pomocí elektrostatického pole

čoček (Obr. 14). Pozadí vyvolané fotony se neodstraní úplně, ale sníží se na hodnotu 5-50 cps, poněvadž zdrojem emise fotonů mohou být také ionty ve vysokých energetických stavech nebo metastabilní ionty. Část iontů se může naopak ztrácet dopadem na překážku. Obtékání překážky ionty je usnadněno rozostřením paprsku, které je způsobeno *space-charge* efektem. To znamená, že elektrostatickými

odpudivými silami rozšířený iontový paprsek snáze sleduje elektrostatické pole, které je tvarováno tak, aby odvedlo ionty kolem terčiku do prostoru dalších iontových čoček.

Systém elektrostatických čoček směřuje a zaostřuje iontový paprsek do analyzátoru. V případě QMS je předřazena analyzátoru kolizní/reakční cela, tvořená vícepólovou iontovou optikou (kvadrupól, hexapól, oktapól). O kolizně-reakční cele je pojednáno v kapitole IX.

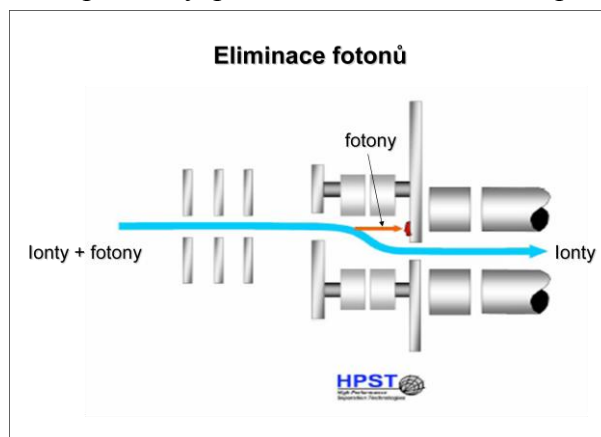
Principy různých konstrukcí hmotnostních analyzátorů a jejich analytické vlastnosti jsou popsány v kapitole VIII.

#### 3.4.4. Diskriminace hmotností v analyzátoru a detekčním systému

V ideálním případě je účinnost přenosu iontů (*transmission efficiency*) hmotnostním spektrometrem nezávislá na poměru hmotnosti a náboje. Ve skutečnosti je závislost pozorována ve všech částech spektrometru: v ionizačním zdroji, iontové optice, separaci iontů a v detekčním systému.

Analyzátor s magnetickým sektorem nevykazuje diskriminaci, kdežto kvadrupólové analyzátor ano. Čím mají ionty větší hmotnost, tím déle se zdrží v kvadrupólovém filtru a jejich pohyb podléhá vlivem okrajových oblastí pole kvadrupólu větší disperzi než pohyb lehčích iontů. Těžší ionty jsou proto přenášeny s menší účinností; jsou diskriminovány. Tento efekt je však podstatně menší než diskriminace probíhající v rozhraní ICP/MS a v iontové optice (*space-charge effect*). Diskriminace těžších izotopů v kvadrupólovém filtru má opačný trend vzhledem k diskriminaci vyvolané *space-charge* efektem, který představuje v ICP-MS dominantní efekt.

Diskriminace nastává také v detekčním systému. Při stejné kinetické energii produkují lehčí ionty při dopadu na první elektrodu *elektronového násobiče* více sekundárních elektronů



Obr. 14 Zarážka fotonů – eliminace pozadí vyvolaného případným dopadem fotonů na detektor iontů - snížení koncentrace ekvivalentní pozadí

než těžší ionty, což má za následek vyšší zisk signálu pro lehčí ionty. *Faradayovy detektory* diskriminaci hmotností nevykazují. U detektorů v režimu čítání pulsů se provádí korekce na *mrtvou dobu detektoru*. Analogový režim detekce a měření tento problém nemá.

#### 4 Meze detekce

Instrumentální, „ideální meze detekce“ (IDL) v ICP-MS jsou zpravidla o 3 řády nižší než v případě ICP-OES. Vysvětlení vyplývá z Tabulky 9. Je zřejmé, že počet pulsů za sekundu (fotonů či iontů) je v případě obou detekčních principů stejný. V ICP-MS je však pozadí o tři až čtyři řády nižší, poněvadž v ICP-MS není analogie se spojitým rekombinačním zářením argonu, které je součástí spektra OES-ICP a nelze je zde eliminovat. Pozadí v ICP-MS je tvořeno pouze instrumentálním příspěvkem a případně spektrálními interferencemi. Spektrální interference však lze eliminovat některým z celé řady přístupů, které jsou uvedeny v Tabulkách 6 a 7. K významnému zvýšení mezí detekce v ICP-MS ve srovnání s IDL může přispět zejména slepý pokus přípravy vzorku. Bez odpovídající čistoty přípravy vzorku nelze využít plné detekční schopnosti ICP-MS. Rozdíl mezi praktickými mezemi detekce ICP-MS a mezemi detekce v ICP-OES však může být snížen také rozdílnou schopností tolerovat obsah TDS. Při obvyklé povolené koncentraci zmlžovaných roztoků řádu desetin procenta (m/v) v případě ICP-MS a možnosti zmlžovat do ICP-OES roztoky o koncentraci až 20% (m/v) se mohou praktické meze detekce přepočtené na pevný vzorek v extrémních případech vyrovnat.

Tabulka 9: Rozbor a srovnání meze detekce v ICP-OES a ICP-MS

<b>Technika</b>	<b>ICP - OES</b>	<b>ICP - MS</b>
Zmlžovaný roztok	1 $\mu\text{g ml}^{-1}$	1 $\mu\text{g ml}^{-1}$
Signál $S$ ( pulsy $\text{s}^{-1}$ )	$6 \times 10^6$ fotonů /s	$10^6$ - $10^7$ iontů /s
Pozadí ( pulsy $\text{s}^{-1}$ )	$6 \times 10^4$ fotonů /s	10 iontů /s
Šum pozadí ( $\text{s}^{-1}$ ) $N_b$	$6 \times 10^2$ fotonů /s	1 ion/s
$S/N_b$	$10^4$	$10^6$ - $10^7$
Meze detekce	0,1 $\mu\text{g l}^{-1}$	$\leq \text{ng l}^{-1}$

# Úvod do speciální analýzy

*Josef Komárek*

*Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno,  
komarek@chemi.muni.cz*

## 1. Úvod

Kovy se zřídka nacházejí jen v nativním stavu nebo jako volné ionty. Vyskytují se obvykle v nejrozličnějších formách-speciích, které se zúčastňují chemických, biochemických a geochemických procesů. Specie se však v roztoku chovají jinak než volné ionty. Odlišné chování, pokud není zohledněno, se může projevit nekvantitativními výtěžky u separačních postupů. Každá specie nese své vlastnosti, toxicitu, mobilitu v životním prostředí a schopnost akumulace v živých organismech, tedy informaci, která je důležitá pro vyhodnocení biologické důležitosti kovu, jeho toxicity nebo nezbytnosti pro život [1,2].

Toxicita a užitečné účinky by neměly být přisuzovány samotnému prvku, ale specii s vymezenými fyzikálními, chemickými a biologickými vlastnostmi. V důsledku toho informace o celkové koncentraci prvku má malý, často i klamný význam. Příkladem škodlivých účinků chemických forem stopových prvků byla smrt 52 obyvatel rybářské vesnice Minamata v Japonsku, způsobená methylrtuť v rybách nebo úhyn ústřic ve Francii uvolněním butylcínu z nátěrové barvy. Skutečnost, že v chemii životního prostředí, v oblasti zdraví a výživy, v lékařství, v potravinářství, v energetickém průmyslu, v ekotoxikologii a klinické toxikologii jsou chemické, biologické a toxikologické vlastnosti prvků závislé na formě ve které se prvek ve vzorku vyskytuje, vedla k vývoji nové oblasti analytické chemie uváděné jako speciální analýza [1].

Speciální analýzu definoval Florence jako stanovení koncentrací jednotlivých fyzikálně chemických forem prvku, jejichž součet tvoří celkovou koncentraci prvku ve vzorku [3]. Speciální analýza kromě rozlišení jednotlivých forem prvku zahrnuje postupy, které umožňují jejich izolaci, detekci, kvantifikaci, charakterizaci a identifikaci vazebných ligandů. Může jít též o určení fázové, nadmolekulární a molekulární distribuce prvku. Rozlišované formy prvku mohou být různá chemická individua (různé oxidační stavy, organokovové sloučeniny, komplexy), ale mohou být také definovány jako jednotlivé podíly vázané na různé fáze systému, na subsystémy, na skupiny sloučenin (bílkoviny, polysacharidy) nebo na biologické struktury (orgány, biomembrány, buňky) [3-7]. Přítomnost silné kovalentní vazby kov-uhlík v organokovových sloučeninách zajišťuje přijatelnou stabilitu během úpravy vzorku. V komplexech kovů mohou být prvky koordinační vazbou vázány na nejrůznější ligandy, od malých organických ligandů (citrát, vlnan, šťavelan, aminokyseliny, oligopeptidy) po makrocyclické chelatační molekuly a makromolekuly (proteiny, DNA fragmenty, polysacharidy). V biologických systémech se vyskytuje velké množství různorodých ligandů s výrazným koordinačním potenciálem pro stopové prvky [1,2].

Speciální analýza se zabývá stanovením prvků v různých oxidačních stavech, organokovových sloučenin a komplexů kovů s vazbou na nejrůznější ligandy. Směřuje

k identifikaci biomolekul jako jsou komplexy kovů s proteiny, s nukleovými kyselinami a selenoproteiny. Následným cílem je porozumění mechanismům biochemických reakcí řídicích nezbytnost a toxicitu stopových prvků v biologických systémech na molekulární úrovni, studium genomu, proteomu a metabolomu [2].

Vzhledem k šíři problematiky i určité nejednoznačnosti ve vyjadřování bylo v roce 2000 doporučeno IUPAC zpřesnění termínů [8]. Podle doporučení je chemická specie prvku specifická forma prvku definovaná svým izotopovým složením, elektronovým nebo oxidačním stavem, nebo molekulární strukturou či strukturou komplexu. Speciační analýza je pak analytická činnost sloužící k identifikaci nebo stanovení jedné či více specií ve vzorku. Specie prvku, pojem dosud používaný k vyjádření formy nebo forem prvku či fyzikálně chemickému stavu prvku nebo pro označení postupu, při němž dochází k rozlišení či stanovení jednotlivých forem prvku ve vzorku, vyjadřuje podle doporučení distribuci prvku mezi jednotlivé specie v systému. Proces klasifikace analytu nebo skupiny analytů na základě fyzikálních nebo chemických vlastností je označován jako frakcionace. Patří sem postupy založené na sekvenční nebo paralelní extrakci vzorků půd, sedimentů a kalů řadou roztoků, analýzy se slovním popisem analytů jako „organicky vázaný“, „anorganický“, „využitelný“, „volný“, „labilní“, „komplexně vázaný“, analýzy biologických vzorků používajících fázové metody separace, dialýzu nebo gelovou chromatografií a postupy využívající původní schémata klasifikace specií těžkých kovů ve vodách.

## **2. Tandemové techniky**

Rostoucí potřeba určit strukturu, složení a koncentraci jednotlivých forem prvků vedla ke vzniku kombinovaných (tandemových, spojených) technik, které kombinují separační metody s citlivou a selektivní detekcí. Tento přístup ke speciační analýze je značně závislý na úspěšném spojení separační techniky s detekčním systémem, realizovaném pomocí spojovacího rozhraní (interface) [7,9].

Při speciační analýze jsou detekovány jednotlivé specie odděleně (postupně). Ve srovnání s analýzou celkového obsahu daného prvku je nutné dosáhnout mnohem vyšší citlivosti stanovení. Kromě vysoké citlivosti patří mezi hlavní požadavky kladené na detekční systém také selektivita. Tomu odpovídají systémy založené na optické nebo hmotnostní spektrometrii. K nim patří atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS), optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES), s mikrovlnně indukovaným plazmatem (MIP-OES) a metody využívající tyto výboje spojené s hmotnostní spektrometrií (ICP-MS, MIP-MS). Ze separačních metod lze využít plynovou, kapalinovou a superkritickou fluidní chromatografií (GC, LC, SFC), elektroforézu, frakcionaci tokem v poli (FFF), extrakci, iontovou výměnu nebo dialýzu [10].

## **3. Izolace analytu ze vzorku**

Důležitým krokem je izolace analytu ze vzorku. Jejím cílem je jak oddělení analytu od matrice, tak zkoncentrování na detekovatelnou hladinu. Při speciační analýze musí být prováděna tak, aby nedošlo ke ztrátám nebo kontaminaci během oddělení, ale také nesmí dojít ke změně formy daného prvku. Volba extrakčního postupu je ovlivněna povahou analytu,

jeho chemickou formou, maticí z níž se analyt izoluje a dostupnou analytickou technikou [11,12].

U vzorků vod se pro izolaci jednotlivých prvkových forem uplatňují zejména extrakce organickými rozpouštědly, extrakce pevnými sorbenty a převedení na těkavé sloučeniny, jejich zachycení a postupné uvolňování. K určení forem prvků v půdách a sedimentech se nejčastěji využívá sekvenční extrakce s různými činidly. K extrakci organokovových sloučenin z pevných vzorků lze využít Soxhletovy extrakce a kapalinové extrakce s vysokou účinností, dosažené pomocí ultrazvuku nebo mikrovlnného pole. Uplatnění nachází superkritická fluidní extrakce. U řady biologických materiálů (rostlinné materiály, potraviny) lze využít sekvenční extrakce vodou, roztoky elektrolytů (izolace bílkovin) a organickými rozpouštědly (izolace lipidů a organokovových sloučenin). Biologické materiály jsou často před analýzou solubilizovány s využitím enzymatické hydrolýzy se směsí lipáz a proteáz, loužení s kyselinou octovou, alkalické hydrolýzy s tetramethylamonium hydroxidem (TMAH) a loužení směsí hydroxid sodný (nebo HCl) – metanol. Urychlení izolace lze dosáhnout aplikací mikrovlnného pole [11,12].

#### 4. Separace plynovou chromatografií

Účinná a rychlá separace, vysoké rozlišení v GC jsou výsledkem absence kondenzované mobilní fáze. Nosný plyn umožňuje kvantitativní transport vzorku do detektoru a nízké pozadí při detekci. Nevýhodou je obvykle nezbytnost přeměny analytu na těkavé formy, tedy derivatizace.

##### 4.1. Derivatizace v plynové chromatografii

Velmi málo sloučenin je dostatečně těkavých, aby mohly být přímo analyzovány GC. Příkladem jsou tetraalkylspecie olova ( $\text{Me}_4\text{Pb}$ ), methylspecie selenu ( $\text{Me}_2\text{Se}$ ,  $\text{Me}_2\text{Se}_2$ ) a rtuti ( $\text{MeHg}^+$ ,  $\text{Me}_2\text{Hg}$ ). Většina organokovových sloučenin musí být převedena na nepolární, těkavé a termicky stabilní sloučeniny. Při derivatizaci musí zůstat zachována struktura vazeb. Mezi nejčastější způsoby derivatizace patří přeměna malých anorganických a organokovových iontů na těkavé kovalentní sloučeniny (hydridy, ethylspecie) ve vodném prostředí, konverze větších alkylkovových kationtů Grignardovým činidlem na nasycené specie v nevodném prostředí a převedení iontových specií na poměrně těkavé cheláty (dithiokarbamáty, trifluoroacetonáty) [13].

Hydridy se tvoří redukcí analytu tetrahydridoboritanem sodným ( $\text{NaBH}_4$ ). Mezi prvky, které tvoří těkavé hydridy, patří As, Sb, Bi, Se, Te, Ge, Sn a Pb. Pokud jsou zvoleny vhodné podmínky lze touto technikou rozlišit redoxní formy As, Sb a Se, protože se hydridy u těchto prvků tvoří snadno pouze u nižších valenčních stavů. Přitom dochází k tvorbě pouze jediného hydridu ( $\text{AsH}_3$ ,  $\text{SbH}_3$ ,  $\text{SeH}_2$ ). Naopak během jedné analýzy mohou být rozlišeny kyseliny methylarsonová a dimethylarsinová tvorbou hydridů  $\text{MeAsH}_2$  a  $\text{Me}_2\text{AsH}$ . Podobně u antimonu vznikají hydridy  $\text{MeSbH}_2$  a  $\text{Me}_2\text{SbH}$ . Tvorba hydridů našla velké uplatnění při speciaci cínu; z  $\text{R}_x\text{Sn}^{4-x}$  vzniká  $\text{R}_x\text{SnH}_{(4-x)}$  ( $\text{R} = \text{Me}, \text{Et}, \text{Bu}$ ) [7,13,14].

Častou metodou derivatizace je reakce s tetraalkylboritany. Nejčastěji používaný je tetraethylboritan sodný (STEB). Má dobrou rozpustnost ve vodě a je stabilní ve vodném



prostředí. Methyl-, butyl- a fenylspecie cínu reagují s STEB rychle a snadno za vzniku termicky stabilních těkavých sloučenin. Aplikace u olova je omezena jen na methylspecie, neboť ethylformy by byly převedeny na jedinou formu a to by znemožnilo jejich rozlišení. Během jedné analýzy byly stanoveny také  $\text{MeHg}^+$  a  $\text{Hg}^{2+}$  [13-16].

Při derivatizaci s použitím Grignardových činidel je nezbytné pracovat v nevodném prostředí, protože s vodou bouřlivě reagují. Tento způsob má hlavní uplatnění při derivatizaci extraktů, které obsahují organokovové komplexy s dithiokarbamáty, dithizonem nebo tropolonem. Významné postavení má při derivatizaci specií olova. K derivatizaci se používá rozličných organických sloučenin, jako jsou methyl-, ethyl-, propyl-, butyl-, pentyl-, hexyl- a fenylmagnesiumchlorid nebo bromid [10,13,14]. Příkladem může být extrakce alkylspecií olova pomocí DDTC komplexů do organické fáze a jejich derivatizace propylmagnesium chloridem ve speciální analýze vín. Archivní vína tak mohou sloužit jako indikátor znečištění hroznů ve vinohradech u rušných silnic [1].

#### **4.2. Techniky v plynové chromatografii**

V plynové chromatografii se využívá termické desorpce, plněných a kapilárních kolon. Nejstarší a nejjednodušší uspořádání využívá termické desorpce a je tvořeno U-trubicí s vhodnou náplní ponořenou v kapalném  $\text{N}_2$ . Zde dochází ke kryogennímu zachycení těkavých specií (jednak nativních, jednak po derivatizaci) vytěsněných inertním plynem z roztoku. U-trubice může být naplněna skleněnými zrny nebo GC náplní. Po zahřátí U-trubice (elektricky, ponořením do horké lázně, vynořením z lázně s kapalným  $\text{N}_2$ ) jsou zachycené specie selektivně uvolňovány do detektoru podle teploty varu. Častým detektorem je AAS s atomizací v křemenné trubici (QF-AAS). Hlavní výhodou je jednoduchost a velký prekoncentrační faktor. Rozlišení je horší, často však dostatečné [10,13].

Klasické použití plněných kolon může být považováno za vylepšení předchozího postupu. Možnost dávkovat analyty ve formě roztoku, většinou v nepolárním organickém rozpouštědle, rozšiřuje okruh aplikací na specie derivatizované Grignardovým činidlem. Pro separace jsou většinou doporučovány nepolární stacionární fáze. Možnost teplotního programování zlepšuje separaci analytů, rozlišení však přesto není ideální. Často se používají kapilární kolony, které obsahují jako stacionární fázi např. polymethoxysilan a poskytují vyšší rozlišení a užší, koncentrovanější píky. Vysoké rozlišení kapilárních kolon je nezbytným předpokladem úspěšné analýzy biologických vzorků. Současný vývoj kolon, který umožňuje zvýšit teplotu separace, dovoluje analýzu termicky stabilních, ale méně těkavých specií, jako jsou např. metaloporfyriny [10,13].

#### **4.3. Detekční systémy v plynové chromatografii**

K detekci organokovových sloučenin je třeba vyšší citlivosti a selektivity než u běžných detektorů. Pro svou jednoduchost a dostupnost přístrojů je stále oblíbenou metodou detekce AAS. Nejčastěji se ve spojení s plynovým chromatografem používají elektricky, příp. plamenem vyhřívané křemenné trubice (QF-AAS) [13,17-19]. Jako detektor se využívá též AFS [19,20].

Rozšířeným excitačním zdrojem pro speciální studie v plynové chromatografii je mikrovlnně indukované plazma (MIP). Většinou heliové plazma vzniká v mikrovlnné dutině, v níž se přenáší energie z mikrovlnného zdroje do výbojové trubice. Plazma může operovat za normálního nebo sníženého tlaku podle použité mikrovlnné dutiny. V heliovém plazmatu dochází k intenzivní spektrální emisi mnoha prvků, včetně nekovů. Výhodou spojení GC s MIP-OES je kompatibilita průtoků a použití stejného plynu v obou systémech [19]. Pro spojení s GC jsou často používány dutiny pracující za atmosferického tlaku, které jsou založeny na modifikaci  $TM_{010}$  válcovité rezonanční dutiny navržené Beenakkerem. Konec kapiláry GC je umístěn jen několik milimetrů pod výbojem, čímž se snižuje mrtvý objem na minimum. Simultánní analýza několika prvků (např. Sn, C, H) umožňuje i určení empirického vzorce organokovových sloučenin. V literatuře je popsáno velké množství aplikací GC-MIP-OES [19,21-26].

Výhodou ICP, vzhledem k vyšší teplotě plynu ve srovnání s MIP, je větší tolerance k organickým rozpouštědlům, které vstupují do výboje. K dosažení dostatečného průtoku v ICP se často přidává k eluátu z kolony další nosný plyn, čímž dojde ke zředění. K zabránění kondenzace eluátu je třeba připojovací kapiláru vyhřívat [19,27,28].

ICP a MIP jsou hlavní plazmové zdroje používané v hmotnostní spektrometrii (MS). GC-ICP-MS je aplikováno především při stanovení specií cínu, rtuti a olova [27,28]. Přednost dávána He-MIP spočívá v nedostacích ICP. Argonové plazma nemá dostatečný excitační a ionizační potenciál pro některé prvky, protože ionizační potenciál Ar je 15,8 eV, zatímco u helia má hodnotu 24,6 eV. V MS s argonovým plazmatem se objevují izobarické interference. Nedostatkem MIP-MS je nedostupnost komerčního vybavení. Většina používaných zařízení byla zhotovena nahrazením ICP zdroje u komerčních ICP-MS spektrometrů nebo byla vyrobena v laboratořích z jednotlivých komponent. Kombinace GC s MIP-MS byla aplikována na stanovení kovů i nekovů, např. při stanovení specií cínu [14,19].

## **5. Separace kapalinovou chromatografií**

Schopnost separovat analyty při pokojové teplotě a bez zdlouhavé derivatizace upřednostňuje HPLC i pro speciální analýzy. Výhodou HPLC je možnost měnit jak složení mobilní, tak stacionární fáze a zlepšit tak separaci. Moderní techniky kapalinové chromatografie používané ve speciální analýze jsou docela všestranné vzhledem k rozmanitosti dostupných separačních mechanismů a dělí se na rozdělovací, iontově párovou, iontově výměnnou a vylučovací [13]. Hlavními technikami pro bioorganickou speciální analýzu jsou vylučovací, iontově výměnná a rozdělovací s reverzní fází [2].

### **5.1. Chromatografické techniky**

Rozdělovací chromatografie se dělí podle polaritý fází na chromatografii s normální a chromatografii s reverzní fází. Separace s reverzní fází (RPC), kde stacionární fáze je nepolární a mobilní fáze je polární, je nejčastější technikou. Mobilní fáze je většinou vodná, obsahuje však různá množství organického rozpouštědla, které zvyšuje rozpustnost a stabilitu některých analytů. Ke zlepšení separace je do mobilní fáze často přidáváno komplexotvorné

čínidlo, např. sulfanylethanol nebo cystein (specie rtuti), tropolon (specie cínu), dithiokarbamát (specie olova). Použití chromatografie s normální fází (NPC) ve speciální analýze je poměrně vzácné, omezené na analýzy stabilních, neutrálních kovových chelátů [10,13,29,30].

Iontově interakční chromatografie (IIC) je založena na rozdělení iontových párů (analyt -protiiont) mezi nepolární stacionární a polární mobilní fázi. K separaci se používají stejné kolony, stacionární fáze i mobilní fáze jako v RPC, s tím rozdílem, že mobilní fáze obsahuje navíc iontově párové čínidlo, případně i komplexotvorné čínidlo. Metoda se také někdy nazývá iontově párová chromatografie. V případě, že iontově párovým čínidlem je povrchově aktivní látka, dochází v roztoku ke vzniku micel a metoda se proto označuje jako micelární kapalinová chromatografie. Výhodou micelární kapalinové chromatografie je eliminace použití organických rozpouštědel, která mohou zatěžovat plazmový výboj (při detekci pomocí ICP). Jako protiionty se používají např. butyl-, heptyl-, dodecylsulfát (separace kationtů), tetrabutyl-, heptyltriethylamonium (separace aniontů) [10,13,29,31,32].

Iontově výměnná chromatografie (IEC) se používá k separaci iontových i neiontových sloučenin, komplexů a neutrálních molekul. Nepolární látky mohou být rozlišeny IEC po tvorbě iontových komplexů nebo reakcí při níž dochází k výměně ligandů. Stacionární fáze může obsahovat silné i slabé, kationtově i aniontově výměnné skupiny vázané na nosiči. Mobilní fáze je vodná. Malé množství organického rozpouštědla (nižší alkoholy) se přidávají ke zvýšení rozpustnosti analytu, např. tributylspecií cínu. IEC byla aplikována např. při speciaci arsenu (aniontově výměnná kolona) a cínu (kationtově výměnná kolona) [10,13,33].

Vylučovací (gelová permeační) chromatografie (SEC) je založena na efektu molekulového síta a umožňuje rozdělit molekuly podle jejich velikosti a částečně i podle tvaru. Stacionární fází je obvykle porézní organický inertní polymer (gel), mobilní fází vodný roztok s velkou iontovou silou. Ačkoliv byly publikovány práce o separaci malých molekul (porfyrinů, huminových a fulvových kyselin), význam SEC leží v separaci metaloproteinů, selenoproteinů a metalothioneinů [10,13,34].

## **5.2. Detekce v kapalinové chromatografii**

Nedostatkem tradičních HPLC detektorů, jako UV, fluorescenčního, elektrochemického a vodivostního detektoru, je malá selektivita při identifikaci jednotlivých organokovových sloučenin. Ve speciální analýze se ve spojení s HPLC používají prvkově selektivní detektory (AAS, AFS, ICP-OES, ICP-MS).

Problémem spojení HPLC-ICP mohou být rozdílné průtoky mobilní fáze jednotlivými systémy. Omezením je i citlivost plazmatu na větší množství organických rozpouštědel. Běžné zmlžovače nejsou vhodné vzhledem k jejich nízké účinnosti. Proto vznikají nové systémy transportu eluátu z kolony do výboje. Vysoké účinnosti transportu vzorku do plazmatu lze dosáhnout použitím speciálních zmlžovačů jako jsou mikrokonzentrický (Micro Mist, MCN, HEN), ultrazvukový (USN), vysokotlaký (HPN) a tepelný zmlžovač, elektrosprej, zmlžovač s přímým dávkováním (DIN, DIHEN) a oscilační kapilární zmlžovač [19,30,35-37].

Od roku 1979, kdy byla ICP-OES poprvé aplikována ve speciální analýze, zájem o tuto techniku stoupá a v poslední době se přesouvá na spojení s ICP-MS, tedy HPLC-ICP-MS

[38-41]. Iontově výměnná a iontově párová chromatografie ve spojení s ICP-MS byly použity pro stanovení forem cínu. Existuje řada publikací o stanovení forem arsenu spojením iontově výměnné chromatografie s ICP-MS. Tato technika má velké využití v bioaplikacích, kde je koncentrace analytů velmi nízká. Spojení SEC-ICP-MS bylo aplikováno např. na určení olova a mědi v sérových proteinech [19] nebo forem selenu v obohacených kvasinkách [42]. Pro současnou speciaci více stopových prvků vázaných na proteiny v biologických materiálech bylo využito spojení s průletovým analyzátozem (LC-ICP-TOF-MS) [34].

## 6. Separace superkritickou fluidní chromatografií

Mobilní fází je nadkritická kapalina, tj. plyn za tlaku a teploty, které jsou vyšší než tzv. kritický bod. Její fyzikální vlastnosti jsou mezi kapalinou a plynem. Účinnost SFC je porovnatelná s GC, protože mobilní fáze má malou viskozitu a vysoký difúzní koeficient. Na druhé straně solvatační síla mobilní fáze, která může být kontrolována teplotou a tlakem, má srovnatelné hodnoty s HPLC. Mobilní fází je nejčastěji CO<sub>2</sub>, někdy s přidavkem modifikátoru. Kolony jsou buď plněné (s průměrem 1 mm) nebo kapilární (průměr 50-100 μm). Stacionární fáze jsou podobné jako v GC [13,43-45].

Publikace jsou zaměřeny na speciaci cínu, olova a rtuti. Pozornost je věnována též separaci metaloproteinů [13]. Nejčastější je spojení SFC-ICP-MS. To je zajištěno pomocí křemenné kapiláry a omezovače, jehož vyhřívání zamezuje kondenzaci analytu [43-45].

## 7. Elektroforetická separace

Elektroforetické techniky jsou založeny na separaci v elektrickém poli. V zónové elektroforéze po zapojení elektrického pole analyty migrují směrem a rychlostí, určenou elektroforetickou pohyblivostí analytu. V ideálním případě jsou všechny analyty rozděleny a každý tvoří samostatnou zónu. Elektroforéza není omezena jen na nabitě sloučeniny. Neutrální sloučeniny mohou být uzavřeny do micel, tvořených povrchově aktivními látkami s nábojem, a tak mohou migrovat elektroforetický ve vodném roztoku - micelární elektrokinetická chromatografie. Ta byla použita např. pro separaci hemato- a protoporfyrinů Zn a Cu, tetraalkylspecií olova a dialkylspecií selenu. Zónová elektroforéza může být uskutečněna v kapiláře (CZE) nebo v polymerním gelovém nosiči. Elektroforéza v polyakrylamínovém gelu (PAGE) byla aplikována na separaci proteinů. Agarosové gely, které mají větší póry, mohou být použity k separaci velkých molekul, např. chromozómů. Speciační analýzy As a Se byly provedeny CZE. Význam elektroforézy spočívá v použití pro separaci metaloproteinů, selenoproteinů, metalothioneinů a metaloenzymů [13]. V poslední době se k detekci v CZE používá ICP-MS [46-49]. Interface pro CZE-ICP-MS musí minimalizovat rozšíření elektroforetického píku a s vysokou účinností převést vzorek do plazmatu. Kromě toho musí zajistit elektrické spojení ke kapiláře a omezit v ní laminární tok. Transport vzorku dosahující vysoké účinnosti lze docílit použitím zmlžovačů s přímým dávkováním (DIN, DIHEN) [48].

## 8. Literatura

1. Lobinski R.: *Applied Spectroscopy* 51, 260A (1997).
2. Szpunar J., Lobinski R., Prange A.: *Applied Spectroscopy* 57, 102A (2003).
3. Florence T.M., Batley G.E.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 9, 219 (1980).
4. Van Loon J.C., Barefoot R.R.: *Analyst* 117,563 (1992).
5. Koplík R., Čurdová E., Mestek O.: *Chem. Listy* 91, 38 (1997).
6. Batley G. E.: *Trace Element. Speciation: Analytical Methods and Problems*, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida 1991.
7. Donard O. F. X., Martin F. M.: *Trends in Analytical Chemistry* 11, 17 (1992).
8. Templeton D.M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L.G., Muntau H., Van Leeuwen H.P., Lobinski R.: *Pure Appl. Chem.* 72, 1453 (2000).
9. Chau Y. K., Wong P. T. S.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 339, 640 (1991).
10. Lobinski R., *CANAS* 95, 389 (1996).
11. Lobinski R., Schmitt V. O., I. Rodriguez Pereiro, Wasik A.: *CANAS* 97, 57 (1997).
12. Holý J., Komárek J.: *Sborník přednášek semináře „Příprava vzorků pro chemickou analýzu III“*, Radějov 1997.
13. Szpunar-Lobinska J., Witte C., Lobinski R., Adams F. C.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 351, 351 (1995).
14. Lobinski R., Adams F.C.: *Spectrochim. Acta Part B*, 52, 1865 (1997).
15. Valdés-Hevia y Temprano M. C., Fernández de la Campa M. R., Sanz-Medel A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 9, 231 (1994).
16. Rapsomanikis S.: *Analyst* 119, 1429 (1994).
17. Welz B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 413 (1998).
18. Das A. K., Chakraborty R.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 357, 1 (1997).
19. Uden P. C.: *Journal of Chromatography A* 703, 393 (1995).
20. Featherstone A. M., Butler E. C. V., O'Grady B. V., Michel P.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 1355 (1998).
21. Lobinski R., Adams F.C.: *Trends in Analytical Chemistry* 12, 41 (1993).
22. Lobinski R., Dirx W. M. R., Ceulemans M., Adams F.C.: *Anal. Chem.* 64,159 (1992)
23. Szpunar-Lobinska J., Ceulemans M., Lobinski R., Adams F. C.: *Anal. Chim. Acta* 278, 99 (1993).
24. Ceulemans M., Adams F. C.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 201 (1996).
25. Tutschku S., Mothes S., Dittrich K.: *Journal of Chromatography A* 683, 269 (1994).
26. Szpunar J., Schmitt V. O., Lobinski R., Monod J-L.: *J. Anal. At. Spectrom.* 11, 193 (1996).
27. De Smaele T., Moens L., Dams R., Sandra P.: *LC-GC International* 138 (1996).
28. Prange A., Jantzen E.: *J. Anal. At. Spectrom.* 10, 105 (1995).
29. Robards K., Starr P., Patsalides E.: *Analyst* 116, 1247 (1991).
30. Yang H-J., Jiang S-J., Yang Y-J., Hwang C-J.: *Anal. Chim. Acta* 312, 141 (1995).
31. Kumar U. T., Dorsey J. G., Caruso J. A.: *Journal of Chromatography A*, 654, 261 (1993).
32. Thomas P., Sniatecki K.: *J. Anal. At. Spectrom.* 10, 615 (1995).
33. Goessler W., Kuehnelt D., Schlagenhafen C., Slejkovec Z., Irgolic K. J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 13, 183 (1998).

34. Farrarello C. N., Bayón M. M., Fernández de la Campa R., Sanz-Medel A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 1558 (2000).
35. Shum S. C. K., Neddersen R., Houk R. S.: *Analyst* 117, 577 (1992).
36. Vela N. P., Olson L. K., Caruso J. A.: *Anal. Chem.* 65, 585 A (1993).
37. Wang R., McLaughlin R. L., Brindle I. D.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 1303 (2000).
38. Sur R., Begerow J., Dunemann L.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 363, 526 (1999).
39. Gammelgaard B., Jous O.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 945 (2000).
40. Krachler M., Emons H.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 20 (2001).
41. Casiot C., Szpunar J., Lobinski R., Potin-Gautier M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 645 (1999).
42. Dernovics M., Lobinski R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 23, 72 (2008).
43. Blake E., Raynor M. W., Cornell D.: *American Laboratory* 46 (1994).
44. Blake E., Raynor M. W., Cornell D.: *Journal of Chromatography A*, 683, 223 (1994).
45. Blake E., Raynor M. W., Cornell D.: *Journal of High Resolution Chromatography* 18, 33 (1995).
46. Olesik J. W., Kinzer J. A., Olesik S. V.: *Anal. Chem.* 67, 1 (1995).
47. Day J. A., Caruso J. A., Becker J. S., Dietze H. J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 1343 (2000).
48. Bendahl L., Gammelgaard B., Jons O., Farver O., Hansen S. H.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 38 (2001).
49. Michalke B., Schramel P.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 357, 594 (1997).

# ICP-MS jako prvkově specifický detektor pro chromatografické techniky

*Jiří Machát*

*Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kamenice 3, 625 00 Brno – Bohunice*  
[machat@chemi.muni.cz](mailto:machat@chemi.muni.cz)

Metody optické emisní či hmotností spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem jsou běžně využívány pro stanovení celkového obsahu analytu. Informace o celkovém obsahu daného zájmového prvku ve vzorku však má omezenou výpovědní hodnotu a může být z pohledu uživatele výsledku zavádějící. Vzhledem k rozdílným vlastnostem různých forem (specií) jednoho prvku závisí vlastnosti vzorku jako takového na zastoupení jednotlivých forem. Speciační analýza v sobě zahrnuje stanovení koncentrací jednotlivých fyzikálně-chemických forem prvku, jejichž součet tvoří celkovou koncentraci prvku ve vzorku. Metody přímého stanovení specií (například Mössbauerova spektroskopie, XPS, ESR aj.) nejsou obecně rozšířené a meze detekce v reálné matici často nevyhovují pro stanovení stopových obsahů analytů. Separační techniky s běžnými detektory (UV-VIS absorpce, fluorescence, RID, FID, TCD, ECD, aj.) nejsou dostatečně citlivé a vzhledem k nespecifické odezvě detektoru je jejich využití pro stanovení specií omezené. Častější je využití spojení separační techniky a prvkově specifické detekce, zpravidla z oblasti atomově-spektrometrických technik (AAS, AFS, ICP-OES/MS, FPD, MIP-OES/MS aj.)

V této oblasti má ICP-MS svoji nezastupitelnou úlohu téměř ideálního prvkově-specifického detektoru. S určitým omezením je aplikovatelný jak v kapalinové, tak plynové chromatografii a dalších separačních technikách, jako je například kapilární elektroforéza. ICP-MS má, jako prvkově specifický detektor, několik nesporných výhod:

- 1) Odezva detektoru je nezávislá na specii. Stejnou odezvu tak mají všechny specie, u nichž je koncentrace zájmového prvku ve vzorku stejná. Je tak možno kvantifikovat i obsah zájmového prvku ve specii, pro niž není dostupný standard, a to dle odezvy známé specie. Výjimku tvoří specie, jejichž fyzikálně-chemické vlastnosti mění odezvu detektoru (spektrální a nespektrální interference, například transportní interference – přítomnost těkavých forem vedle netěkavých a zvýšení účinnosti transportu těkavých forem do ICP při zmlžování, čímž dojde k nárůstu signálu oproti netěkavým formám).
- 2) Linearita odezvy. ICP-MS vyniká širokým lineárním měřicím rozsahem (až 9 řádů). Nelinearita kalibračních závislostí je při spojení se separační technikou většinou přičítána na vrub separaci (zahlcení kolony, rozklad specií během separace aj.).
- 3) Citlivost a mez detekce. ICP-MS nabízí pro většinu zájmových prvků vynikající citlivost a velmi nízkou mez detekce. Výjimku tvoří prvky, které jsou rušeny spektrálními interferencemi na bázi polyatomických interferencí (např.  $^{80}\text{Se}$ ,  $^{32}\text{S}$ ), nebo jejichž ionizační energie nedovoluje dostatečnou ionizaci prvku v plazmatu.
- 4) Multielementární detekční schopnost. ICP-MS umožňuje detekci několika zájmových prvků v rámci jedné chromatografické analýzy, a to ať jde o různé specie různých

prvků (např. současná detekce specií Sn a specií Hg při jejich separaci na GC za stejných podmínek), nebo jde o specie, které obsahují několik prvků současně (např. Se a S, As a P – viz obrázek č. 1). Tyto schopnosti detektoru jsou limitovány možnostmi využití stejných chromatografických podmínek pro separaci specií různých prvků. V případě detekce specií s více prvky může být využito informací také k identifikaci případných neznámých forem.

- 5) Možnost stanovení izotopových poměrů. Technika má význam především při kvantifikaci obsahu specií metodou izotopového zředování.

Vedle výhod má detekce pomocí ICP-MS také svoje nevýhody. Především jde o velmi omezené možnosti identifikace neznámých specií bez použití standardu neznámé specie. Možnost identifikace je omezena na shodu retenčních charakteristik (retenčního času), případně na chování neznámé specie za různých podmínek při separaci. Pro některé prvky lze k identifikaci využít také derivatizaci, která předchází ICP-MS detekci (např. rozlišení hydridotvorných specií As, Se aj.). Další nevýhodou jsou vysoké pořizovací a provozní náklady ICP-MS. Z principu je ICP-MS destruktivní detektor, takže je nutno jej, v případě sériově zapojených detektorů, zapojit jako poslední.

Stejně jako v případě stanovení celkových obsahů prvků je nutno i v případě speciální analýzy věnovat patřičnou pozornost přípravě vzorků. Zde je způsob přípravy vzorků velmi závislý na analyzované matici, stabilitě specií a použité separační technice. Během přípravy vzorku by měla být podle možností odseparována matrice s maximální účinností extrakce analytu, ovšem s přihlédnutím k nestabilitě některých specií. Mnohé problémy při přípravě vzorku napomáhá řešit využití metody izotopového zředování (izotopově značená zájmová specie).

## **Spojení kapalinové chromatografie s ICP-MS**

Metoda kapalinové chromatografie využívá dělení analytů v proudu kapaliny, a protože je ICP-MS metoda primárně určená pro analýzu roztoků, je spojení LC s ICP-MS technicky nejméně problematické. Podmínkou pro spojení LC a ICP-MS je zajištění kompatibilních podmínek pro provoz obou částí. Tyto podmínky mohou být v mnoha ohledech kompromisní a mohou být na úkor separace (horší separační účinnost, delší separace) i detekce (horší mez detekce, přítomnost spektrálních a nespektrálních interferencí). Pro spojení s ICP-MS detekcí mohou být využity prakticky všechny techniky kapalinové chromatografie (iontově-výměnná, iontopárová, vylučovací, na reverzní i normální fázi, afinitní aj.), pokud je zajištěna kompatibilita separačních podmínek s provozními podmínkami ICP-MS. LC je využívána například ke stanovení specií As (AsIII, AsV, methylarseničnany, arsenocukry, arsenobetain, arsenocholin aj.), Se (SeIV, SeVI, selenové aminokyseliny SeMet, SeCys, MeSeCys, aj.), Hg (HgII, MeHg), Sn (alkylcíničitě sloučeniny), Cr (CrIII, CrVI), asociace kovů s proteiny (metaloproteiny) aj.

Výstup ze separační kolony je zpravidla přímo připojen kapilárou do zmlžovače ICP-MS. Průtoky mobilní fáze (MF, řádově desetiny až jednotky ml.min<sup>-1</sup>) odpovídají průtokům, se kterými pracují běžně užívané zmlžovače v ICP-MS (koncentrický, křížový a jiné typy), takže i běžně aplikované mlžné komory zůstávají na svém místě (Scottova komora, cyklonická komora aj.). Lze však využít také modifikace v mikrokolonovém uspořádání



s průtoky mobilní fáze řádově  $0.01 - 0.1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$  a tomu odpovídající zmlžovače (mikrokoncentrický). Úměrně jsou potom použity menší mlžné komory, případně jsou využity zmlžovače, které pracují bez mlžné komory (DIHEN - Direct Injection High Efficiency Nebulizer). Nejsou-li nebo nemohou-li být průtoky mobilní fáze vzájemně kompatibilní, je možno využít přisávání nosné kapaliny k proudu mobilní fáze (průtok LC < průtok zmlžovačem) nebo naopak oddělení části toku mobilní fáze mimo zmlžovač (průtok LC > průtok zmlžovačem). V obou případech je výstup z LC napojen to T-kusu. V případě ředění je bočním ramenem přiváděna nosná kapalina (voda, zředěná kyselina aj.), čerpaná zpravidla peristaltickým čerpadlem vhodnou rychlostí, a po smíchání je směs vedena do zmlžovače. V druhém případě je bočním ramenem odváděna přebytečná kapalina do odpadu, přičemž průtok kapaliny zmlžovačem je zajištěn buď samonasávací schopností zmlžovače nebo opět peristaltickým čerpadlem. Rozdělení toku MF lze využít také pro současné zapojení dalšího detektoru (např. ESI-MS).

Složení mobilní fáze a její průtok jsou dány jednak požadavky kladenými na separaci a také požadavky provozu ICP-MS. Z hlediska dlouhodobého provozu ICP-MS a jeho bezproblémového chodu je vhodné vyhnout se mobilní fázi s vyšší koncentrací netěkavých solí (pufrů aj.), optimální je mobilní fáze zcela bez přítomnosti netěkavých látek. V případě MF s netěkavými solemi dochází k depozici solí na vstupních konusech a dochází tak k poklesu signálu v čase. V krajním případě může dojít k úplnému ucpání konusů. Sodné a draselné soli je tak vhodné nahradit solemi amonnými nebo solemi organických bází; sírany nebo fosforečnany je vhodné nahradit dusičnany nebo solemi organických kyselin. Tato náhrada samozřejmě ovlivní také separaci a podmínky separace je nutno upravit. V případě mobilní fáze s vyšším obsahem organických rozpouštědel může docházet k depozici uhlíku na konusech ICP-MS. Zde je možno do proudu nosného plynu přidávkem kyslíku předejít vzniku elementárního uhlíku (dojde ke spálení na  $\text{CO}_2$ ), zpravidla to však vyžaduje výměnu standardních konusů (Ni) za odolnější Pt konusy. Další možností je ředění mobilní fáze v toku nebo odvětvení části toku a snížení množství MF, které přichází do ICP. Tím však může být snížena citlivost stanovení. Použití gradientové eluce může přinášet problémy se stabilitou plazmatu, ve kterém se podmínky během gradientu mění. V tomto případě také nemusí být zajištěna nezávislost odezvy detektoru na specii – odezva může záležet na retenčním čase a vlivu aktuální koncentrace činidla v mobilní fázi. Nevýhodná je také doba, nutná k nastavení gradientu MF na původní podmínky, často srovnatelná s délkou samotné separace. Po tuto dobu je ICP-MS v provozu bez jakéhokoli využití a jsou tím úměrně zvyšovány náklady na analýzu.

Ve spojení LC s ICP-MS je možno využít také post-kolonovou on-line derivatizaci. V případě ICP-MS detekce jde zpravidla o techniku generování těkavých forem (například hydridů), aplikovatelnou na prvky a jejich specie, které tyto těkavé formy tvoří. Vzhledem k jisté specifitě těchto reakcí lze rozlišit specie, které tvoří těkavé formy od ostatních (např. hydridotvorné anorganické a methylované specie As od složitějších organických sloučenin, které těkavé hydridy netvoří – obrázek č. 2). Zařadíme-li před generování těkavých forem ještě vhodný krok (např. mineralizace organických specií), můžeme stanovit všechny specie, které se daným krokem převedou na sloučeniny, schopné tvorby těkavé formy. V tomto případě je výhodou především zlepšení citlivosti stanovení a případné oddělení interferentů. V závislosti na provozních možnostech generátoru těkavých forem lze také zvolit podmínky

LC, které jsou pro separaci vhodnější a nejsou omezeny požadavky ICP-MS. Jde například o zvýšení průtoku MF nebo použití netěkavých solí v MF. Tyto jsou v generátoru těkavých forem odděleny od analytu a neovlivňují tudíž detekci a provoz ICP-MS.

Kvantifikace obsahu jednotlivých specií je vzhledem k nezávislosti odezvy ICP-MS na specii usnadněna. Odezvu detektoru je tak možno kalibrovat i způsobem, kdy standard stanovované specie nebo i jiné specie nastříkneme do proudu mobilní fáze bez toho, aby prošel separací. Zpravidla je k tomu využita dávkovací smyčka, zařazená mezi výstup z LC a vstup do ICP-MS. Kalibraci je možno jednoduše provádět opakovaně, před elucí i po eluci zájmové specie a korigovat tak odezvu detektoru na případný drift. Obecně však, vzhledem k předřazenému separačnímu kroku, může být stanovení komplikováno nekvantitativní chromatografickou výtěžností (zadržení některých specií na koloně). Stejně jako v klasické LC lze pro eliminaci vlivu nežádoucích efektů při separaci využít vhodného vnitřního standardu, přidaného ke vzorku před separací. Podobně lze s výhodou aplikovat techniku izotopového zředování s izotopově značenou zájmovou specií přidanou do vzorku před separací. Obě tyto techniky umožňují mít pod kontrolou nežádoucí efekty při separaci i detekci.

Pro eliminaci vlivu driftu ICP-MS detektoru lze aplikovat vhodný vnitřní standard do proudu MF po separaci. Vnitřním standardem může být prakticky jakýkoli jiný prvek, například ten, který se osvědčil jako vhodný vnitřní standard při měření celkových obsahů zájmového prvku. Musí být ale volen s ohledem na složení mobilní fáze (vnitřní standard vhodný pro stanovení celkového obsahu v mineralizátu nemusí být vhodný pro aplikovanou mobilní fázi). Roztok vnitřního standardu je v takovém případě kontinuálně míchán s výstupem z kolony před vstupem do zmlžovače (stejně jako v případě ředění MF), nebo může být diskrétně dávkován dávkovací smyčkou stejně, jako při aplikaci standardu v předchozím odstavci.

Nastavení parametrů ICP-MS, využitého jako detektor pro LC, závisí na konkrétní aplikaci. Při dobré kompatibilitě podmínek LC a ICP-MS (průtok mobilní fáze, nízká koncentrace rozpuštěných látek nebo organických rozpouštědel v MF) lze aplikovat podmínky standardně používané při analýze vodných roztoků. Samozřejmě je možné podmínky optimalizovat pro stanovovaný analyt nebo analyty (průtoky plynů, příkon do ICP s ohledem na použitou mobilní fázi, nastavení iontové optiky pro maximální citlivost dle analytů aj.) a ovlivnit také vznik případných spektrálních interferencí (př. polyatomické interference ze složek mobilní fáze). Případný vliv polyatomických interferentů je možno eliminovat použitím kolizně-reakční cely. Pochází-li spektrální interference ze složek vzorku, je možné vhodnou volbou chromatografických podmínek dosáhnout separace rušících látek od zájmových specií (obrázek č. 3).

Důležitým parametrem nastavení ICP-MS detektoru je integrační doba, tedy doba, po kterou je na detektoru ICP-MS kumulován signál a následně je z jeho intenzity vygenerován bod do grafické závislosti na čase (chromatogram). Chromatogram se skládá z bodů, jejichž vzdálenost je v případě sekvenčních (kvadrupólových) spektrometrů dána součtem integračních dob na všech měřených izotopech. Integrační doba na měřeném izotopu musí být dostatečně dlouhá, aby byl měřený signál co nejméně ovlivněn šumem (obrázek č. 4). Zároveň však musí být dostatečně krátká, aby byl každý pík v chromatogramu vykreslen z dostatečného počtu bodů a měření výšky či plochy píku tak nebylo zkreslováno (s

klesajícím počtem bodů na píku narůstá RSD měření výšky nebo plochy píku). Zvolená integrační doba je tedy kompromisem mezi nízkým šumem (nízkou mezí detekce) a přesností měření plochy či výšky píku (obrázek č. 5). Zvolená integrační doba bude záviset také na šířce píku (ta je dána chromatografickými podmínkami a rozmytím píku v mlžné komoře) a počtu měřených izotopů (jeden izotop zájmového prvku / všechny izotopy zájmového prvku / více – mnoho zájmových prvků / zájmový prvek a další izotopy pro kontrolu interferencí / zájmový prvek a vnitřní standard). V praxi většinou po té, co si ověříme citlivost a interference při stanovení na vícero izotopech, volíme jeden nejvhodnější izotop zájmového prvku (prvků), tj. ten s nejlepší citlivostí a nejmenšími spektrálními interferencemi. Měření na vícero izotopech nám pomůže odhalit případné koeluce interferentů (u zájmového prvku by měl být poměr výšky píků na dvou izotopech pro všechny specie konstantní).

### **Spojení plynové chromatografie s ICP-MS**

Spojení plynové chromatografie s ICP-MS detekcí je využíváno pro separaci a detekci těkavých analytů nebo analytů, které vhodnou derivatizací převedeme na těkavé formy. GC je využívána především pro separaci organokovů a organometaloidů a v porovnání s běžnými GC detektory (FID, TCD, ECD aj.) ICP-MS opět přináší citlivou a prvkově specifickou detekci. Vzhledem k malým průtokům mobilní fáze v GC (řádově jednotky až desítky ml.min<sup>-1</sup>, nosným plynem je zpravidla He) je možno výstupní kapiláru zavést do injektoru ICP (s průtokem nosného Ar asi 1 l.min<sup>-1</sup>). Protože zde není aplikován zmlžovač s mlžnou komorou, a také vzhledem k vysoké separační účinnosti GC kolon, nedochází k rozmývání píků a jsou tedy v porovnání s píky z LC-ICP-MS podstatně užší. Nejčastěji se technikou GC-ICP-MS stanovují těkavé specie Sn (organocínité sloučeniny), Hg (MeHg, Me<sub>2</sub>Hg), Pb, Se, As (alkylderiváty).

Samotné připojení výstupu z GC do injektoru plazmové hlavice však vyžaduje upravené rozhraní. Výstupní kapiláru je nutno vyhřívat na teplotu, která brání kondenzaci separovaných specií (zpravidla je to nejvyšší teplota z teplotního programu při separaci), a to po celé její délce až do injektoru. Vyhřívání je zajištěno topným tělesem. Na vhodném místě je k proudu plynu z GC přidáván proud nosného plynu (Ar) a případně také plyn, který slouží k nastavení parametrů ICP-MS. Vzhledem k přítomnosti organických rozpouštědel v nástřiku a proudu mobilní fáze dochází k jejich rozkladu v plazmatu a depozici uhlíku na konusech. Přídavkem malého množství kyslíku do proudu nosného plynu dojde ke spálení na CO<sub>2</sub>. Přídavek kyslíku nebo dusíku do nosného plynu může v některých případech vést ke zvýšení citlivost stanovení, např. u Sn.

Specie, které nejsou těkavé, je nutno před separací pomocí GC derivatizovat. Rozšířené jsou alkylace pomocí tetraalkylboritanů, jejichž výhodou je, že jsou rozpustné ve vodě a alkylace probíhá také ve vodném prostředí. Alkylderiváty se následně extrahují do nepolárního rozpouštědla nebo technikou SPME a nastříknou nebo termicky desorbují na kolonu. Ethylace nebo propylace lze využít například pro stanovení alkylcínitých sloučenin (obrázek č. 6) nebo methylrtuti. Další možností je alkylace Grignardovými činidly. Netěkavé alkylderiváty, které tvoří těkavé hydridy, mohou být redukovány na příslušné hydridy tetrahydridoboritanem. Vzniklé hydridy se zachytí na sorbentu za nízké teploty, zvyšováním teploty jsou separovány na základě bodu varu a detekovány ICP-MS.

Kvantifikace jednotlivých specií je opět usnadněna nezávislostí odezvy ICP-MS na specii, lze tedy kvantifikovat obsah zájmového prvku i u neidentifikované specie. Pro kontrolu separace i detekce je využíván vnitřní standard, přidávaný ke vzorku před separací (v některých případech již před derivatizací). Podobně je možno využít izotopového zředování s izotopově značenou specií. Přídavek vnitřního standardu po separaci je problematický, protože zmlžování aerosolu není možné a muselo by tedy jít o plynou směs s vnitřním standardem.

Nastavení parametrů ICP-MS se může lišit především v parametrech plazmatu, protože je vnášen pouze plyn bez vlhkého aerosolu. Přítomnost organických rozpouštědel však může naopak klást vyšší nároky na energii v plazmatu a tedy i příkon do plazmatu. Pro optimalizaci podmínek je volen vhodný plyn, zaváděný přes injektor do plazmatu, například Xe ve směsi s Ar. Velmi významným parametrem je pozice hlavice, kterou je nutno vystředit proti vzorkovacímu konusu tak, aby byl signál indikačního izotopu (zde Xe) maximální. Vzhledem k úzkému centrálnímu kanálu je vliv i malé změny pozice hlavice na signál velmi významný.

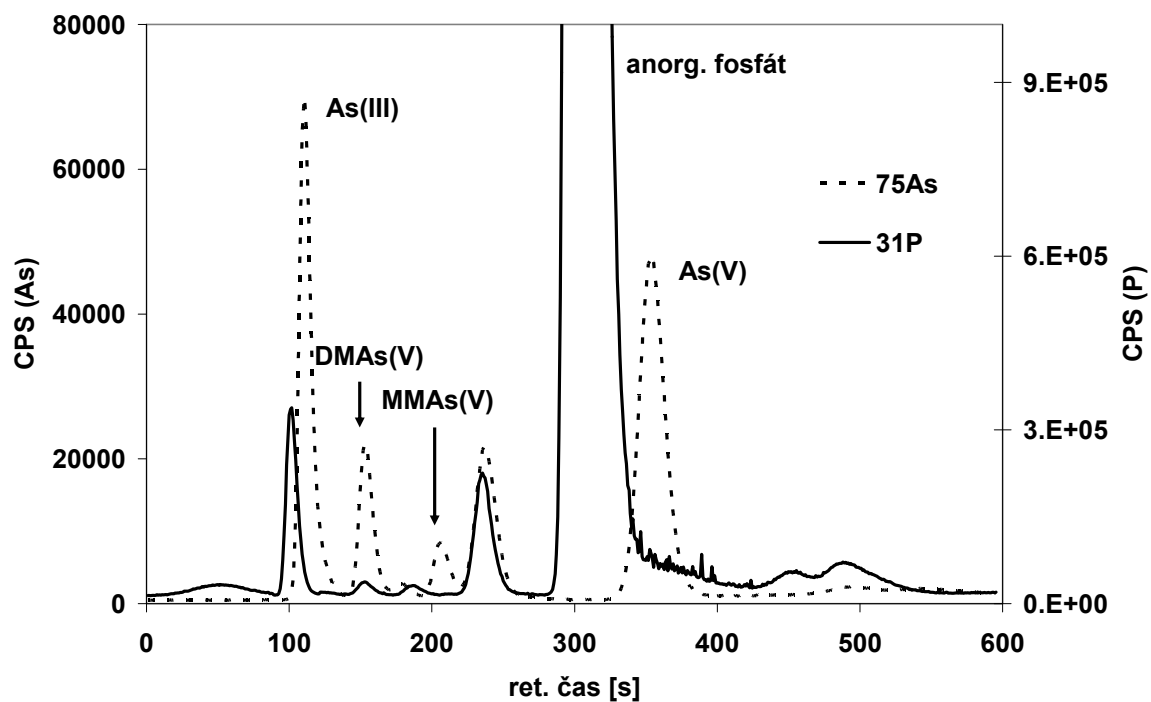
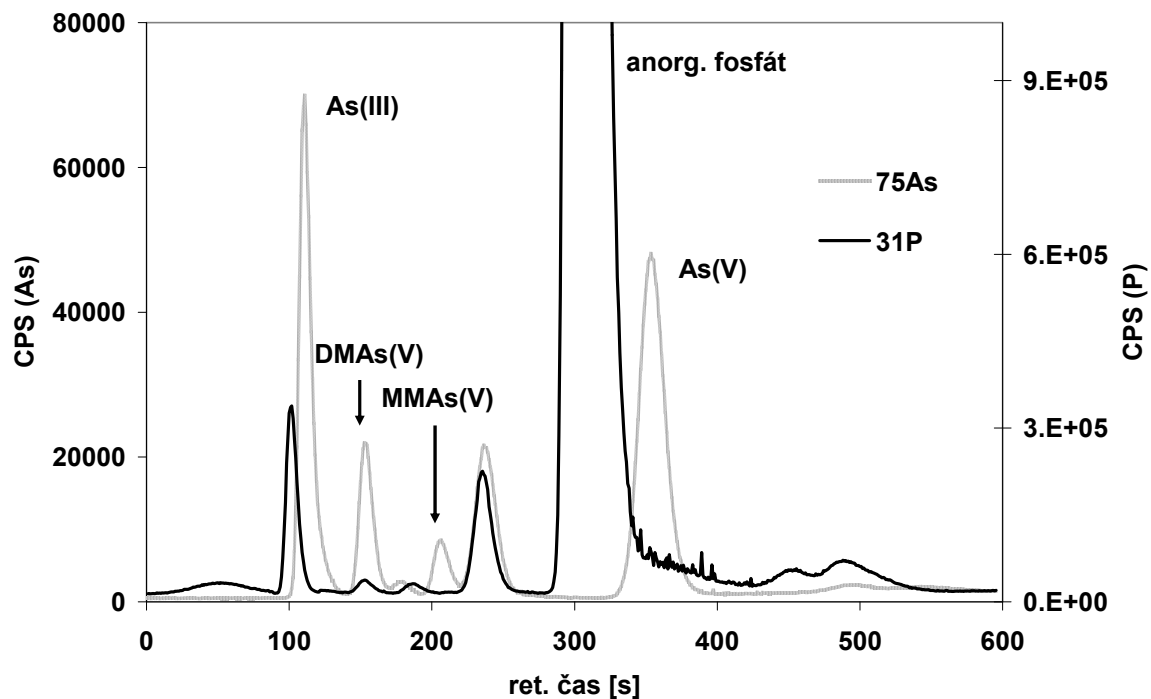
Podobně jako ve spojení LC-ICP-MS je i ve spojení s GC významným parametrem detektoru integrační doba. V porovnání s LC jsou v GC píky mnohem užší, takže i integrační doba musí být adekvátně kratší (cca 10x). Pro volbu integrační doby platí stejná pravidla jako v případě LC-ICP-MS.

#### **Literatura:**

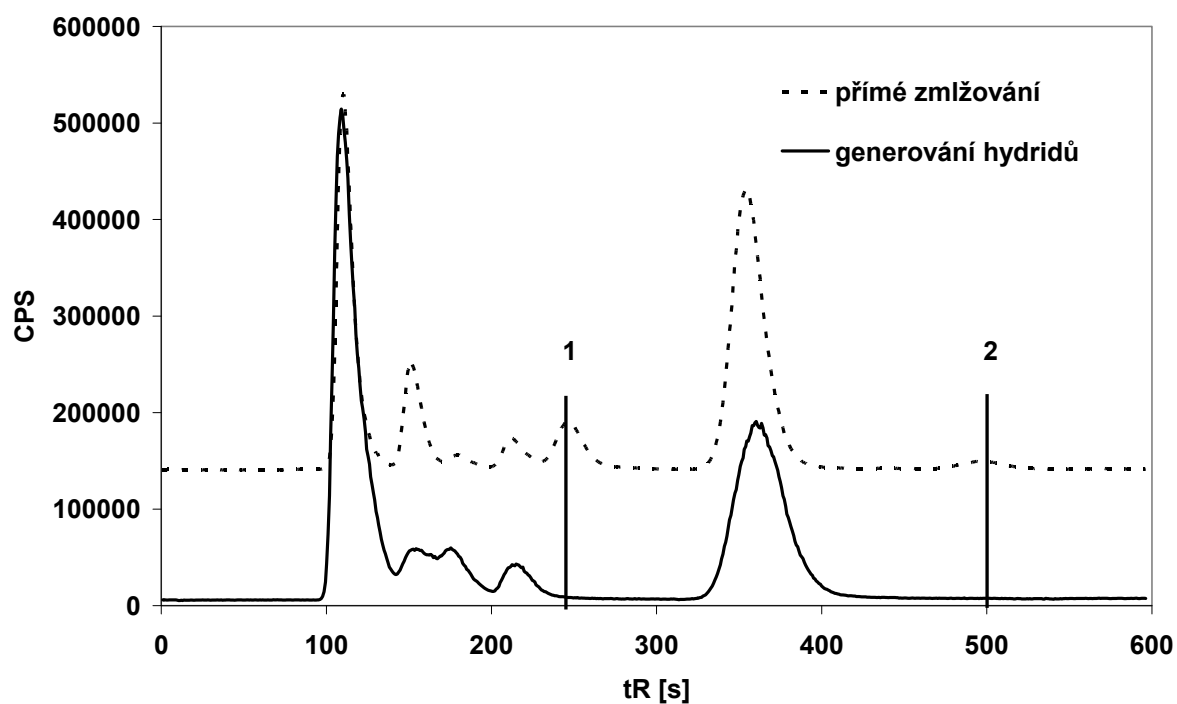
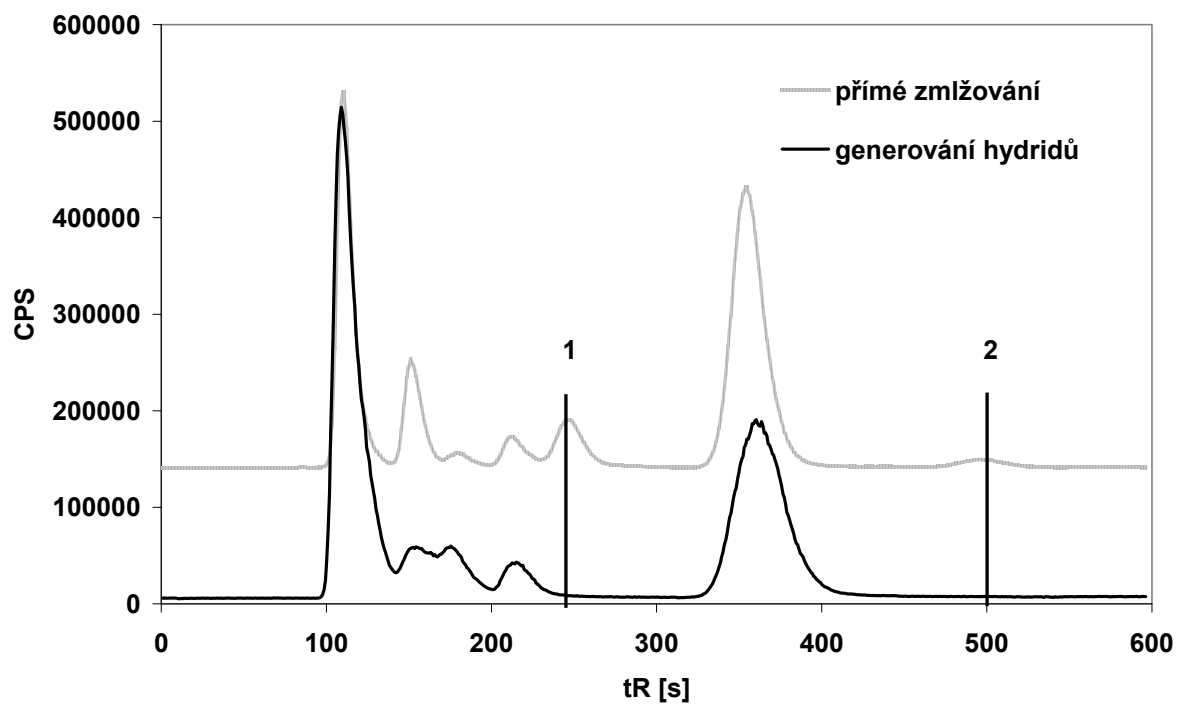
Handbook of elemental speciation, R. Cornelis a kol., Wiley, UK, 2003

Handbook of elemental speciation II – Species in the environment, food, medicine and occupational health, R. Cornelis a kol., Wiley, UK, 2005

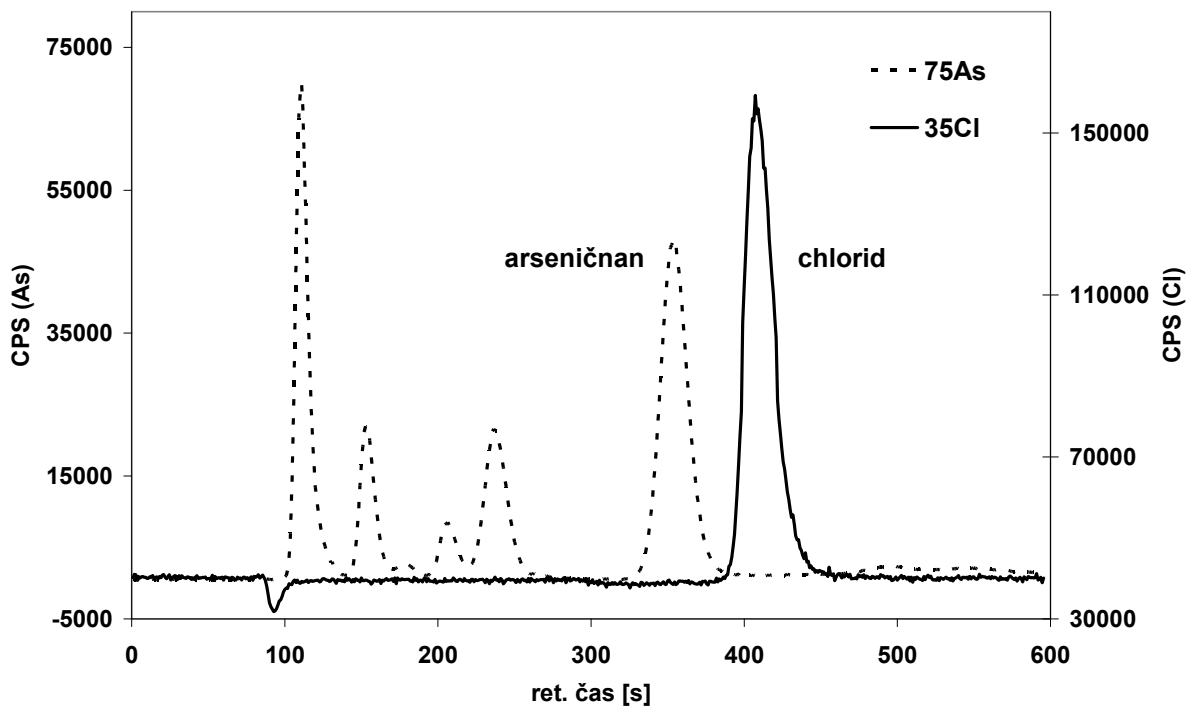
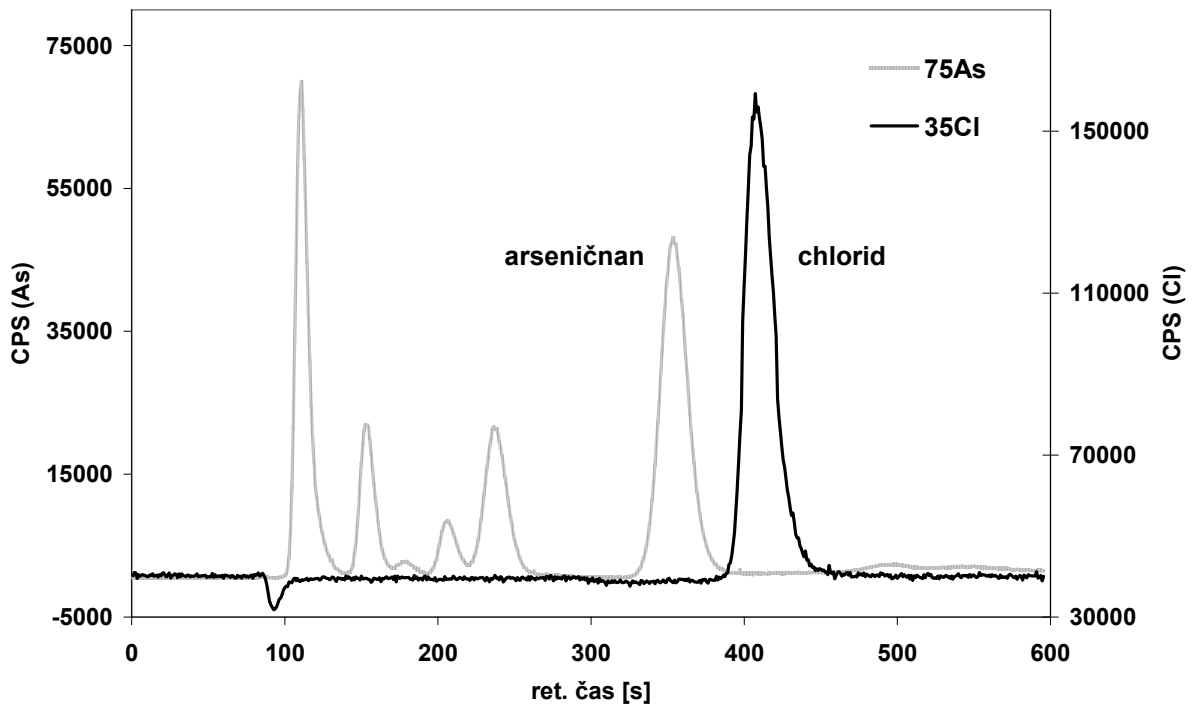
Instrumental methods in metal ion speciation, Ali I., Aboul-Enenien H.Y., Taylor & Francis, USA, 2006



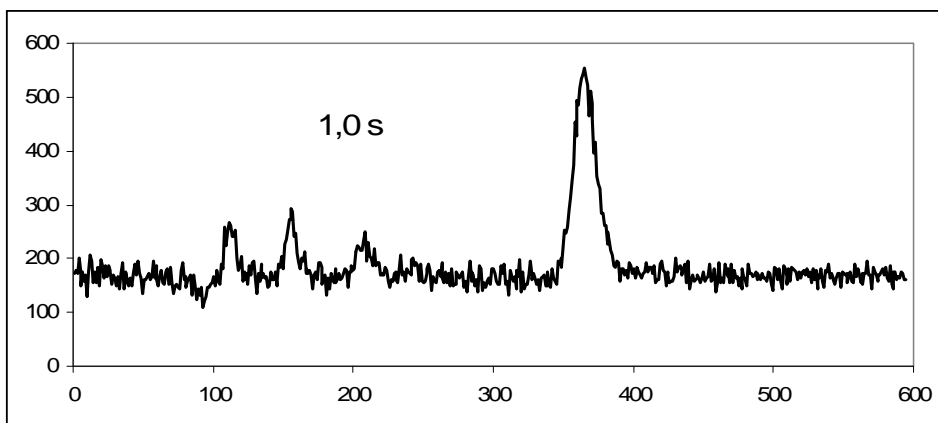
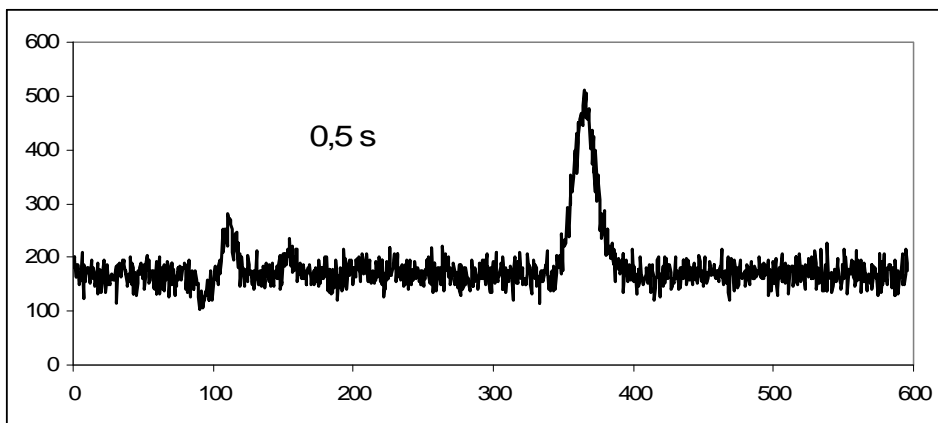
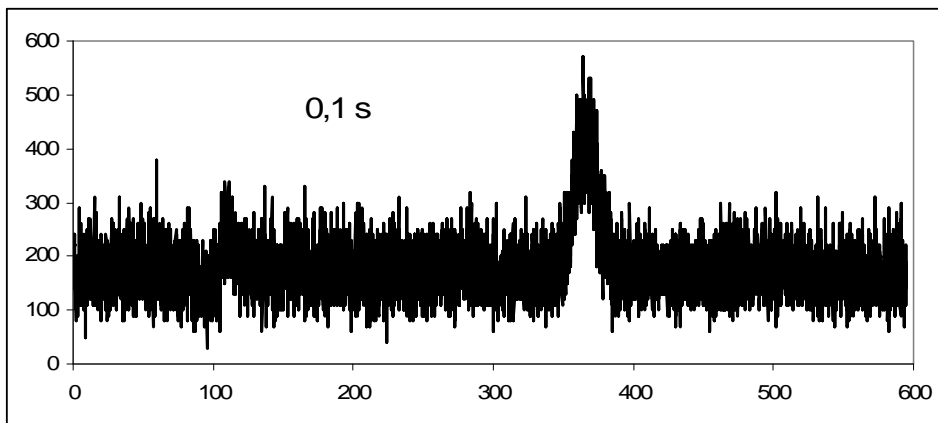
Obrázek č. 1: Současná detekce As a P v extraktu z biologického materiálu [As(III) - arsenitan, As(V) - arseničnan, MMAs(V) – monomethylarseničnan, DMAs(V) – dimethylarseničnan]



Obrázek č. 2: Odlišení hydridotvorných specií As (anorganické a methylované specie, viz obr. 1) od specií, které těkavé hydridy netvoří (arsenoribosidy, píky 1, 2). Měřítko osy y pro názornost upraveno.

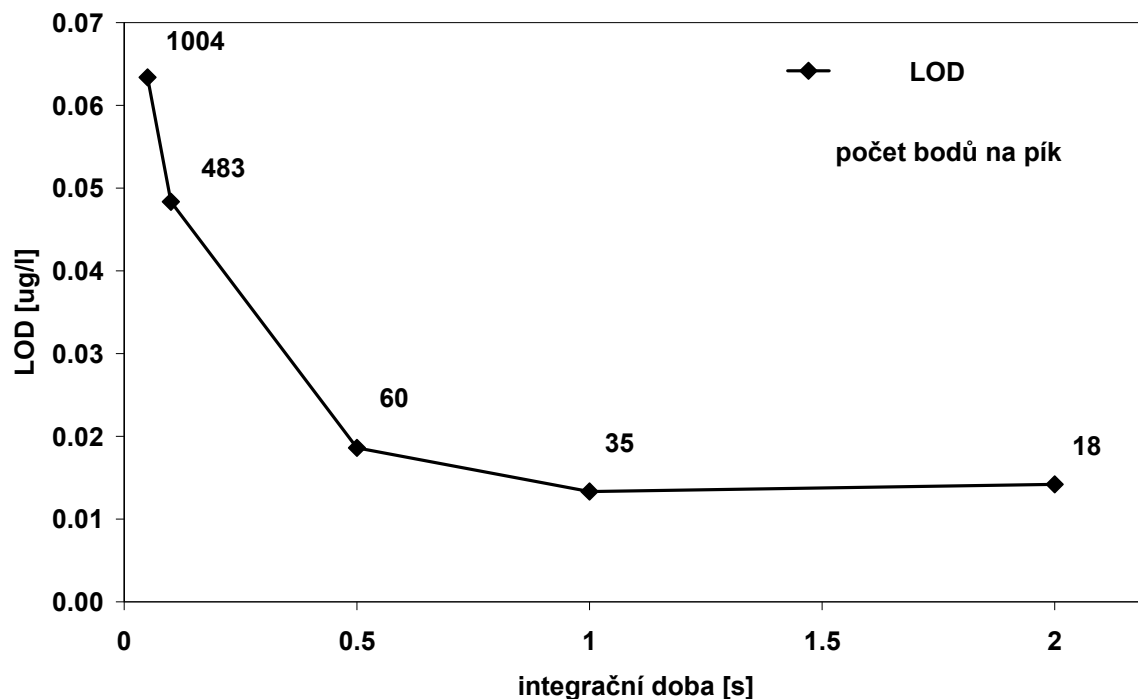


Obrázek č. 3: Separace potenciálních spektrálních interferentů [chloridů, tvořících  $^{75}\text{ArCl}$ ] od analytu (arseničnanů, rušený izotop  $^{75}\text{As}$ ).

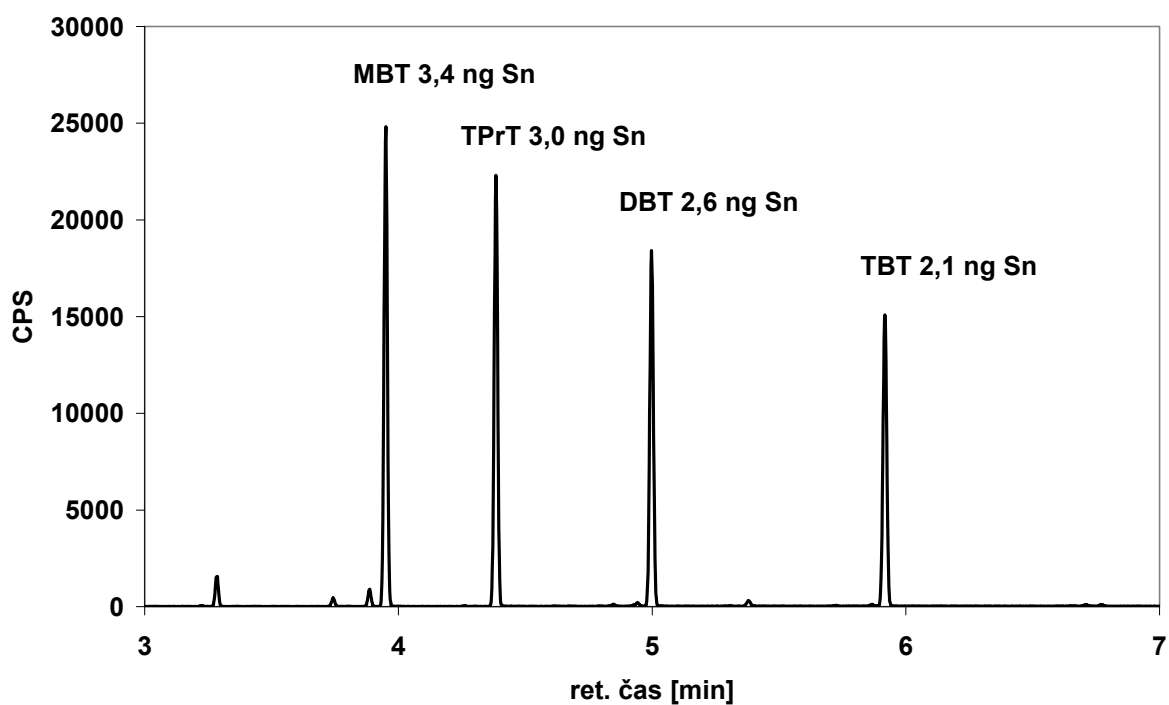


Obrázek č. 4: Vliv integrační doby na šum – separace specií As





Obrázek č. 5: Závislost meze detekce a počtu bodů na pík na integrační době – separace specií As



Obrázek č. 6: Separace ethylovaných butylcínových sloučenin (MBT – monobutylcín, DBT – dibutylcín, TBT – tributylcín, TPrT - tripropylcín jako vnitřní standard. Detekce na  $^{118}\text{Sn}$  +  $^{120}\text{Sn}$ ).

# Lasery

*Vítězslav Otruba*

*Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.*

## Úvod

Lasery se za svoji krátkou historii uplatňují v celé řadě oborů lidské činnosti. Využívá se specifických vlastností záření, které lasery vyzařují na vlnových délkách od RTG po infračervenou oblast spektra. V dlouhovlnné oblasti infračerveného spektra a v oblasti mikrovln pracují na stejných principech jako lasery masery (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation). Název laser se používá pro všechna zařízení pracující na principu stimulované emise záření v optické oblasti spektra, tedy nejen v oblasti světla. Existují projekty i experimentální ověření (na př. při buzení laserů jaderným výbuchem) pro oblast  $\gamma$  a tvrdého RTG záření.

Běžné termické zdroje záření využívají emisi atomárních oscilátorů, pracujících na sobě zcela nezávisle na podobných nebo i velmi odlišných vlnových délkách do libovolného směru. Výsledný zářivý tok se pak skládá ze záření velkého počtu elementárních oscilátorů a má charakter šumu. Rozdělení intenzity emitovaného záření z tepelných zdrojů v závislosti na vlnové délce udává Planckův vyzařovací zákon. Základní mechanismus maseru a laseru spočívá v tom, že se využívá zesílení generovaného záření pomocí stimulované emise velkého množství elementárních oscilátorů, které nepracují nezávisle, ale ve společné fázi. Aby takovýto oscilátor nepřestal pracovat na původní vlnové délce, je třeba zavést zpětnou vazbu pomocí optického rezonátoru. Z principu laseru plyne, že:

- a) elementární oscilátory vyzařují do stejného směru jako stimulující záření. Z toho plyne, že energie, vyzařovaná elementárními oscilátory, je soustředěna do úzkého svazku (s úhlem řádově mrad) a nikoliv do plného prostorového úhlu a tím dochází k vysoké koncentraci energie v prostoru.
- b) elementární oscilátory pracují na vlnové délce stimulujícího záření a tedy spektrální šířka emitovaného záření může být velmi malá.
- c) elementární oscilátory pracují synchronně, takže při pulzním provozu může dojít k současnému vyzáření "akumulované" energie všech elementárních oscilátorů a tím k vysoké koncentraci energie v čase (délka pulzů řádově fs - ms).

Rozdělení laserů je možné podle:

- a) vlnových délek emise
- b) časového režimu provozu (kontinuální (cw), impulsní)
- c) typu buzení (lasery buzené opticky, elektrickým výbojem, chemicky, mechanicky (srážky částic), injekcí nosičů náboje, ...)
- d) typu aktivního prostředí pevnolátkové, kapalinové (barvivové), plynové, iontové, excimerové, polovodičové (diodové),....
- e) délky generovaného pulsu (nanosekundové, pikosekundové, femtosekundové,...)

Tato kapitola je zaměřena především na použití laserů ke vzorkování pro ICP spektrometrii a tedy na aplikace využívající velké hustoty energie záření laseru k optickému ohřevu a vypařování materiálů. Nebudou zde rozebírány další zajímavé vlastnosti laserového záření jako spektrální vlastnosti, koherence, ladění laserů aj.

## Základní vlastnosti laserového prostředí

### Interakce elektromagnetického pole a atomu

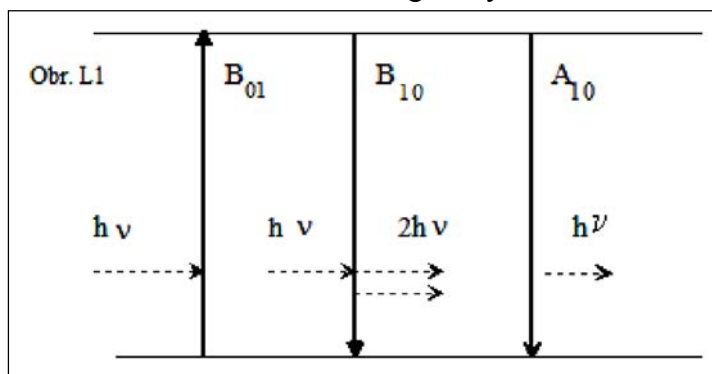
Chápeme-li záření jako proud fotonů, pak každý foton nese energii  $E$ :

$$E = h\nu \quad (1)$$

kde  $h = 6,626 \cdot 10^{-34}$  J.s je univerzální Planckova konstanta a  $\nu$  je frekvence záření. Nachází-li se atom v proudu fotonů, dojde k interakci pouze tehdy, jestliže je energie fotonu  $E$  rovna rozdílu energetických hladin v atomu:

$$h\nu = E = E_1 - E_0 \quad (2)$$

kde  $E_1$ , resp.  $E_0$  jsou energie horní a dolní hladiny atomu. Přesněji řečeno udává vztah (2) maximální pravděpodobnost interakce, při nerovnosti energií klesají pravděpodobnosti interakcí o 10 - 20 řádů, ale nejsou nulové, jak plyne z Fourierova integrálu pro foton jako vlnový balík tlumených kmitů. V dalším textu nebudeme tuto skutečnost uvažovat. Tyto procesy se nazývají *zářivé* a jsou podstatou funkčních mechanismů aktivního laserového prostředí. Uvažujme pro jednoduchost systém se dvěma energetickými hladinami 0 a 1, které nejsou degenerované (degenerované hladiny jsou takové, pro které existuje více stavů vlnových funkcí, tj. takovou hladinu je možné si představit jako několik jednoduchých hladin se stejnou energetickou úrovní a jejich počet se udává statistickou váhou úrovně  $g$ ) - viz obr. L1. Mezi těmito dvěma energetickými hladinami může dojít k těmto typům přechodů:



◆ Absorpce, tj. zářivý kvantový přechod z nižší energetické hladiny na vyšší interakcí částice s elektromagnetickým polem. V přítomnosti záření o spektrální hustotě energie  $\rho(\nu)$  je možné vyjádřit pravděpodobnost  $W_{01}$  přechodu  $0 \rightarrow 1$  za jednotku času výrazem  $B_{01} \cdot \rho(\nu)$ , kde  $B_{01}$  je Einsteinův koeficient absorpce. Na tomto principu pracuje analytická metoda atomové absorpční spektrometrie.

◆ Stimulovaná emise, tj. zářivý kvantový přechod z vyšší energetické hladiny na nižší podmíněný interakcí s elektromagnetickým polem v době, kdy je atom v excitovaném stavu. Energie fotonu stimulujícího záření musí být rovna energetickému rozdílu mezi vyšší a nižší hladinou atomu. Pravděpodobnost přechodu  $1 \rightarrow 0$  za jednotku času je dána výrazem

$W_{10}=B_{10}\rho(\nu)$ , kde  $B_{10}$  je Einsteinův koeficient stimulované emise. Stimulovaně vyzářený foton má stejnou fázi, energii a polarizaci jako foton stimulující.

◆ Spontánní emise, tj. zářivý kvantový přechod z vyšší energetické hladiny 1 na nižší 0 s pravděpodobností  $A_{10}$ . Vzbuzený atom může na vyšší hladině 1 setrvat jistou dobu. Střední hodnota této doby se nazývá *střední doba života*  $\tau$  excitovaného stavu a platí vztah  $\tau = 1/A_{10}$ , kde  $A_{10}$  je Einsteinův koeficient spontánní emise. Spontánní emise nezávisí na vnějším elektromagnetickém poli, je nekoherentní a má charakter šumu. Se spontánní emisí pracují metody emisní spektrální analýzy RTG-UV-VIS.

◆ Relaxační přechody, tj. nezářivé přechody, které jsou vyvolány nejrůznějšími interakčními mechanismy v systému (na př. srážkami, vibracemi krystalové mřížky). Pravděpodobnost relaxačních přechodů za jednotku času dolů ( $S_{10}$ ) a nahoru ( $S_{01}$ ) jsou vázány vztahem:

$$S_{01} = S_{10} \exp\left(-\frac{h\nu}{kT}\right) \quad (3)$$

Uvažujme nyní místo jednoho atomu jejich soubor za předpokladu, že nadále uvažujeme dvouhladinový model se základní energetickou hladinou 0 a excitovanou 1. Počet atomů s energií  $E_0$  v jednotce objemu označme  $n_0$ , podobně počet atomů s energií  $E_1$  v témže objemu označme  $n_1$ . Dále předpokládejme, že soubor atomů je v interakci s elektromagnetickým zářením o spektrální hustotě  $\rho(\nu)$  a frekvenci  $\nu$  odpovídající energii přechodu 0 - 1 podle rovnice (2). Proces interakce souboru atomů se zářením za podmínek termodynamické rovnováhy je možné popsat rovnicí:

$$n_0\rho(\nu)B_{01} = n_1\rho(\nu)B_{10} + n_1A_{10} \quad (4)$$

kde  $A_{10}$ ,  $B_{10}$  a  $B_{01}$  jsou Einsteinovy koeficienty pravděpodobnosti přechodů. Rovnice vyjadřuje skutečnost, že počet atomů přecházejících za jednotku času z hladiny 0 na hladinu 1 je roven počtu atomů přecházejících z hladiny 1 na hladinu 0. Z rovnice (5) vyjádříme  $\rho(\nu)$ :

$$\rho(\nu) = \frac{n_1A_{10}}{n_0B_{01}-n_1B_{10}} = \frac{A_{10}}{\frac{n_0}{n_1}B_{01}-B_{10}} \quad (5)$$

Využijeme-li Boltzmannova rozdělení ze kterého vyplývá exponenciální pokles obsazení energetických hladin s rostoucí energií podle rovnice:

$$\frac{n_0}{n_1} = \exp\left(\frac{E_1-E_0}{kT}\right) = \exp\frac{h\nu}{kT} \quad (6)$$

kde  $k = 1,38054 \cdot 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$  je univerzální Boltzmannova konstanta a  $T$  termodynamická teplota. Dosazením (6) do (5) dostáváme výraz:

$$\rho(\nu) = \frac{A_{10}}{B_{10}} \frac{1}{\frac{B_{01}}{B_{10}} \exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) - 1} \quad (7)$$

Pro spektrální hustotu zářivé energie platí obecný Planckův vztah pro záření černého tělesa:

$$\rho(\nu) = \frac{4h\nu^3}{c^3} \frac{1}{\exp\left(\frac{h\nu}{kT}\right) - 1} \quad (8)$$

Srovnáním rovnic (7) a (8) je možné nalézt vztah mezi Einsteinovými koeficienty. Především platí důležitý vztah mezi absorpcí a stimulovanou emisí:

$$B_{10} = B_{01} = B \quad (9)$$

Rovnost platí za předpokladu, že energetické hladiny nejsou degenerované. Vztah mezi koeficientem spontánní a stimulované emise je:

$$A_{10} = \frac{4h\nu^3}{c^3} B_{10} \quad (10)$$

Z výrazu (9) plyne, že pravděpodobnost stimulované emise a absorpce pro  $n_0 = n_1$  je stejná a výsledný absorpční koeficient je roven nule. Další zvýšení populace  $n_1$  není možné a přechod dosáhl stavu nasycení. Pro  $n_0 > n_1$  převládá absorpce nad stimulovanou emisí záření. Pro absorpci záření  $\Phi_A$  je možné psát:

$$d\Phi_A = h\nu n_0 B_{01} \rho(\nu) dt \quad (11)$$

a pro zářivý tok  $\Phi_E$  emitovaný stimulovanou emisí:

$$d\Phi_E = h\nu n_1 B_{10} \rho(\nu) dt \quad (12)$$

Celková změna zářivého toku po interakci s prostředím se určí jako rozdíl energie emitované a absorbované v čase jednotkovým objemem (rovnice 9, 11, 12):

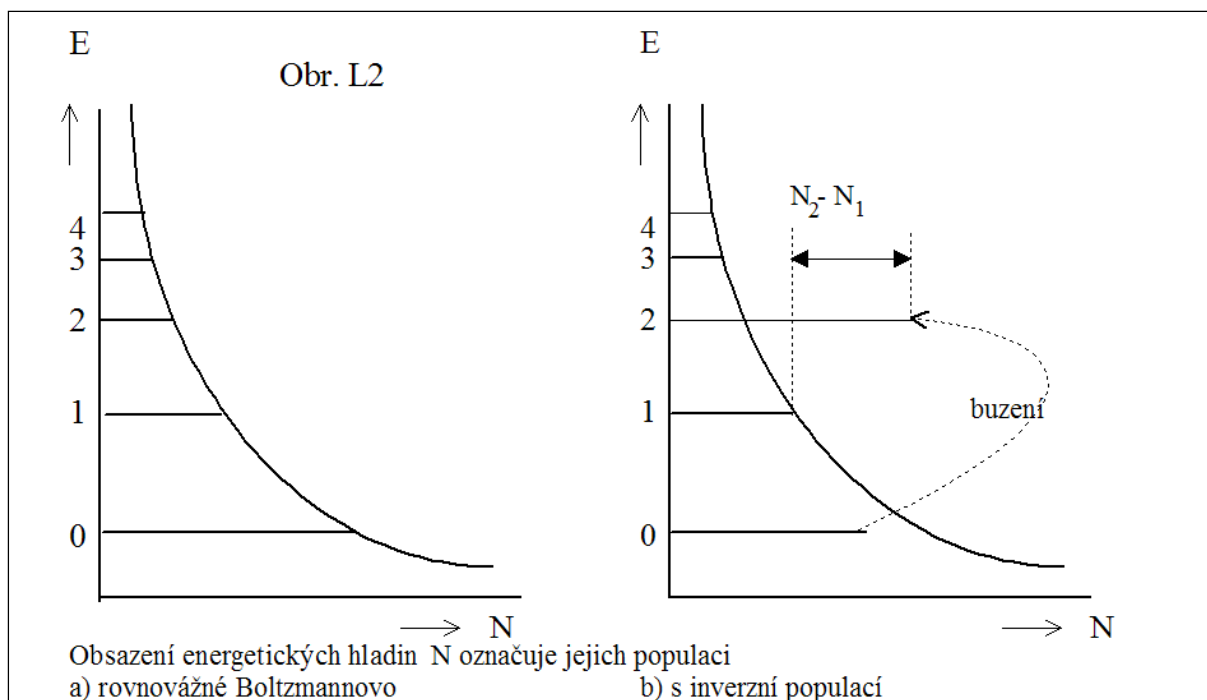
$$\frac{d\Phi}{dt} = h\nu(n_1 - n_0) \quad (13)$$

Z rovnice (13) vyplývá základní podmínka pro zesílení záření jednoduchým nedegenerovaným kvantovým systémem:

$$n_1 - n_0 > 0 \quad (14)$$

Proto pro dosažení stimulované emise větší než absorpce, tedy zesílení záření, je nutnou podmínkou aby obsazení horní hladiny v atomech bylo vyšší než spodní hladiny ( $n_1 > n_0$ ) čemuž formálně odpovídá záporná hodnota termodynamické teploty systému, tzv. *inverzní populace* nebo *inverzní stav*. V termodynamické rovnováze je obsazení spodní hladiny vždy větší než hladiny horní (obr. L2a). To znamená, že taková látka vždy absorbuje záření na ni dopadající. Absorbovaná energie zvýší obsazení horní energetické hladiny systému a tím zároveň sníží absorpci energie. V limitním případě bude obsazení dolní i horní hladiny stejné (v látce neexistuje absorpce) a další zvýšení populace horní hladiny není možné, systém je ve *stavu nasycení*. Tento případ nastane při vysokých zářivých tocích dopadajícího záření a využívá se v metodách *saturační spektroskopie*. Nejjednodušší kvantový systém, ve kterém je možné dosáhnout inverzní populace pomocným vnějším polem (čerpáním), je tříhladinový systém.

Doposud jsme uvažovali o přechodu mezi dvěma hladinami atomu s absolutně přesnou energií. Ve skutečnosti jsou energetické úrovně atomů ovlivněny jak Heisenbergovým principem neurčitosti, tak reálnými podmínkami, jako jsou rychlost a srážková frekvence v plynech a interakce s okolními atomy v krystalové mřížce, způsobujícími rozšíření energetických hladin atomů. Hovoříme proto o rozšíření spektrální čáry emitované při přechodech elektronů mezi rozšířenými energetickými hladinami atomů. Pro další výklad budeme i nadále uvažovat pro jednoduchost energetické hladiny v zesilovacím prostředí (atomů, molekul, ...) s přesnou energií.



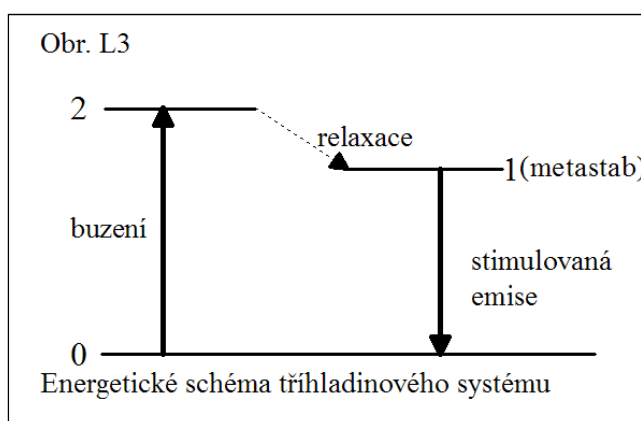
### Metody získání inverzní populace

Pro získání inverzní populace, tj porušení termodynamické rovnováhy, kdy alespoň mezi dvěma energetickými hladinami nastane situace jako na obr. L2b, je potřeba vnější buzení, označované obvykle jako *čerpání*. Prostředí s inverzní populací, schopné zesilovat záření, se nazývá *laserové aktivní prostředí*. Pro získání přebytku částic na vyšší energetické hladině je možné použít řady metod:

- ◆ čerpání nekoherentním zářením, používané v pevnolátkových laserech, ale je použitelné i pro čerpání kapalinových, polovodičových a plyných látek.
- ◆ čerpání elektronovým paprskem, použitelné v polovodičích a plyných aktivních látkách kde elektrony odevzdávají svoji kinetickou energii atomům.
- ◆ čerpání plyných aktivních látek elektrickým výbojem nebo nepružnými srážkami s atomy nebo molekulami pomocného plynu, buzeného elektrickým výbojem.
- ◆ vybudění fotodisociací molekul, při čemž po rozpadu molekul na atomy se jeden z atomů vybudí na vyšší energetickou úroveň.
- ◆ chemické lasery využívají k buzení příspěvek energie uložený v chemické vazbě.
- ◆ injekcí nosičů proudu přes přechod PN v polovodičových laserech.
- ◆ adiabatickou expanzí molekulárního plynu ze supersonické trysky.

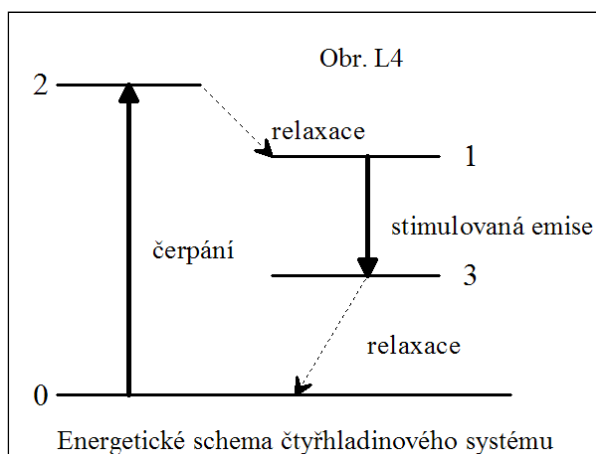
Pro odhad parametrů aktivního prostředí, jako je zesílení, budící výkon, výstupní výkon apod. je třeba sestavit řadu rovnic popisujících vzájemné relace mezi energetickými hladinami a zářením. Spektrum každého atomu a molekuly se sestává z velmi velkého počtu energetických hladin, ale pro první semikvantitativní přiblížení je možné uvažovat zjednodušené modely, obsahující pouze základní funkční energetické hladiny laserového aktivního prostředí, mezi kterými nastává přenos energie při generaci stimulovaného záření.

### Tříhladinový systém



Nejjednodušší systém, ve kterém je možné dosáhnout inverzní populace, je tříhladinový. Příklad takového systému je na obr. L3. Principiálně je možné dosáhnout inverzní populaci jen pro  $\tau_{10} > \tau_{21}$ . Nejvýhodnější podmínky pro buzení s minimální energií budou splněny pro  $\tau_{20} \gg \tau_{21}$  a  $\tau_{10} \gg \tau_{21}$ . První podmínka říká, že částice převedené na hladinu 2 musí přednostně přejít na hladinu 1 a v menší míře se mohou vracet na hladinu 0. Druhá podmínka říká, že částice se musí zdržet na úrovni 1 (metastabilní hladina) déle než na hladině 2, což zabezpečí jejich nahromadění na horní hladině zářivého přechodu. Při dosažení inverzního stavu je možné předpokládat, že  $n_2 \sim 0$ ,  $n_0 \sim n_1 \sim n/2$ . Nevýhodou tříhladinového systému jsou malá účinnost, potřebné vysoké čerpací výkony a obtíže při konstrukci laseru s kontinuálním provozem. Při impulzním provozu je nejprve převést  $n/2$  částic na hladinu 1 dodáním energie  $h\nu_{02}/2$ . Tato energie se spotřebuje při každém cyklu a představuje ztráty, protože se nevyužívá ke generaci záření. Příkladem tříhladinového systému je rubínový laser.

### Čtyřhladinový systém



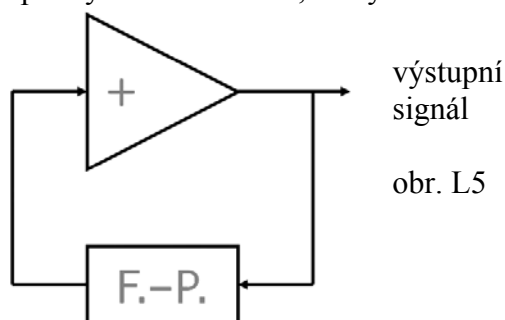
Čtyřhladinové systémy mají proti tříhladinovým podstatné výhody. Doplnující čtvrtá hladina (č.3) je mezi první a základní hladinou tříhladinového systému. Požadavky na aktivní prostředí čtyřhladinového systému:

- ◆ vybuzené částice musí přecházet z hladiny 2 na hladinu 1, čili  $\tau_{21} \ll \tau_{20}, \tau_{23}$

◆ vybuzené částice z hladiny 1 nesmí přecházet na základní hladinu čímž by klesala inverzní populace tj. musí platit nerovnost  $\tau_{10} \gg \tau_{13}$ .

## Generace laserového záření a rezonátory

V předcházející kapitole jsme se věnovali podmínkám, za kterých dochází k zesílení zářivého toku na kvantovém energetickém přechodu v souboru atomů nebo molekul (laserovém prostředí). Ve skutečnosti se laserů nevyužívá především jako zesilovačů, ale generátorů záření. Generace záření v laserech probíhá obdobně jako generace elektronických kmitů v elektronických obvodech (oscilátorech). Principem je zesilovač s kladnou zpětnou vazbou, která je realizována obvodem, který přivádí část výstupního signálu na vstup zesilovače ve fázi se vstupním signálem. Tím dojde k opakovanému zesílení výstupního signálu a důsledkem je rozkmitání elektronického obvodu na frekvenci s nejnižšími ztrátami, obvykle určené rezonančním obvodem. Základem generátoru (oscilátoru) je tedy zesilovací prvek, u laserů aktivní látka s inverzní populací a obvod zpětné vazby, realizovaný u laserů optickým rezonátorem, kterým se část výstupního záření vede na vstup zesilovacího prvku.



Princip oscilátoru ( + = neinvertující zesilovač, F.-P. = kladná zpětná vazba, u laserů realizovaná obvykle Fabry-Perotovým rezonátorem).

Pro generaci krátkých pulzů musí být frekvenční šířka pásma zesilovače minimálně

$$\Delta f \cong \frac{1}{2} \tau \quad (15)$$

kde  $\tau$  je šířka pulzu. U femtosekundových laserů je již potřebná šířka pásma zesilovače (plyne z Fourierova rozvoje) srovnatelná s frekvenčním rozsahem viditelného spektra. Je samozřejmé, že v případě krátkých laserových pulzů již není možné hovořit o monochromatickosti emitovaného záření.

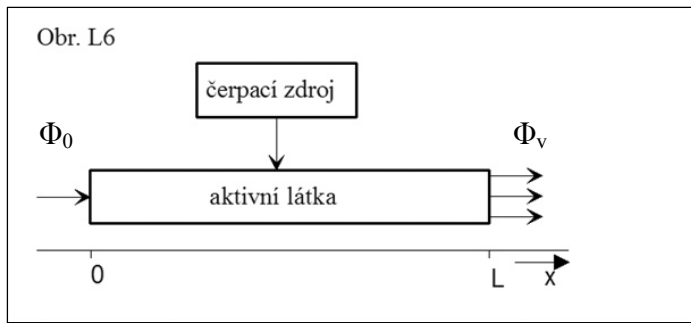
### Zesílení záření

Aktivní látka, ve které je inverzní populace mezi dvěma energetickými hladinami, je schopná zesilovat elektromagnetické záření, procházející touto látkou, na kmitočtu daného kvantového přechodu s inverzní populací. Pracuje jako *kvantový zesilovač*, který se skládá ze dvou základních částí, a to aktivní látky a čerpacího zdroje (obr. L6). Pro výstupní zářivý tok platí:

$$\Phi_v = \Phi_0 \exp[-(\alpha + \beta)2L] \quad (16)$$

kde  $\alpha$  je absorpční koeficient ( $\alpha < 0$ ) a  $\beta$  jsou ztráty ( $\beta > 0$ ) a  $L$  je délka aktivního prostředí.



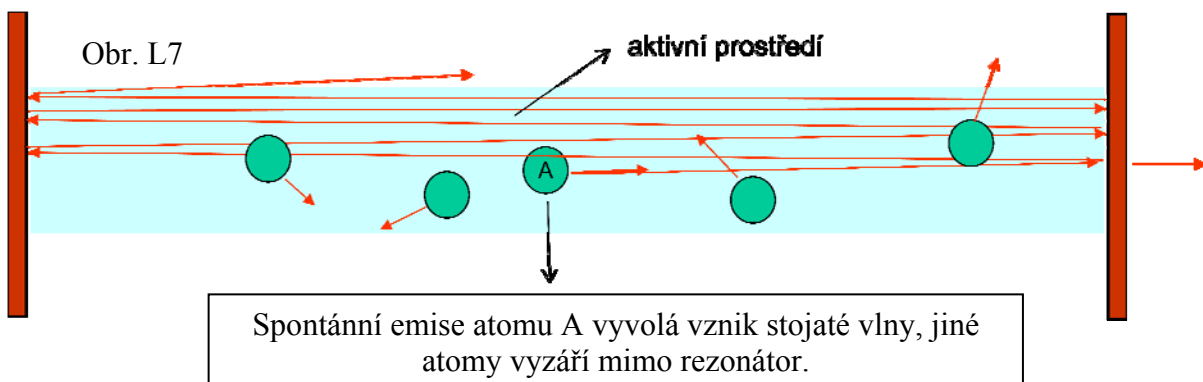


### Generace záření

Z aktivního prostředí jsou vyzařovány všemi směry fotony spontánního záření. Vrátime-li část spontánně emitovaných fotonů zpět ve směru podélné osy do aktivního prostředí např. zrcadlem, budou tyto fotony stimulovat emisi dalších fotonů, které již budou mít směr a fázi shodnou s budícími fotony. Podobné zrcadlo umístíme na opačné straně aktivního prostředí a část fotonů bude opět vrácena do aktivního prostředí a celý proces se bude lavinovitě rozvíjet (obr. L7). Pokud nebudou obě zrcadla přesně nastavena (jejich optické osy nebudou totožné) opustí fotony po několika průchodech prostor mezi zrcadly a nedojde ke vzniku stojatého vlnění uvnitř prostoru mezi zrcadly, kdy stojaté vlnění je tvořeno téměř výhradně stimulovaně vyzářenými fotony. Takové zařízení je známo z klasické optiky jako Fabryův - Perotův interferometr, při použití v laserech nazývaný *rezonátor*, zkráceně F-P rezonátor. F-P rezonátor se skládá ze dvou zrcadel, obvykle kruhového tvaru, se společnou optickou osou a reflexními povrchy obrácenými proti sobě. Jedno ze zrcadel bývá vysoce odrazné (jeho odrazivost se blíží 100%), druhé bývá polopropustné a slouží jako optická vazba k výstupu laserového záření ve formě kolimovaného optického svazku s minimální divergencí. Pro samovybuzení oscilátoru, tj. pro generaci záření laseru, platí podmínka:

$$\sqrt{R_1 R_2} G = RG \geq 1 \quad (16)$$

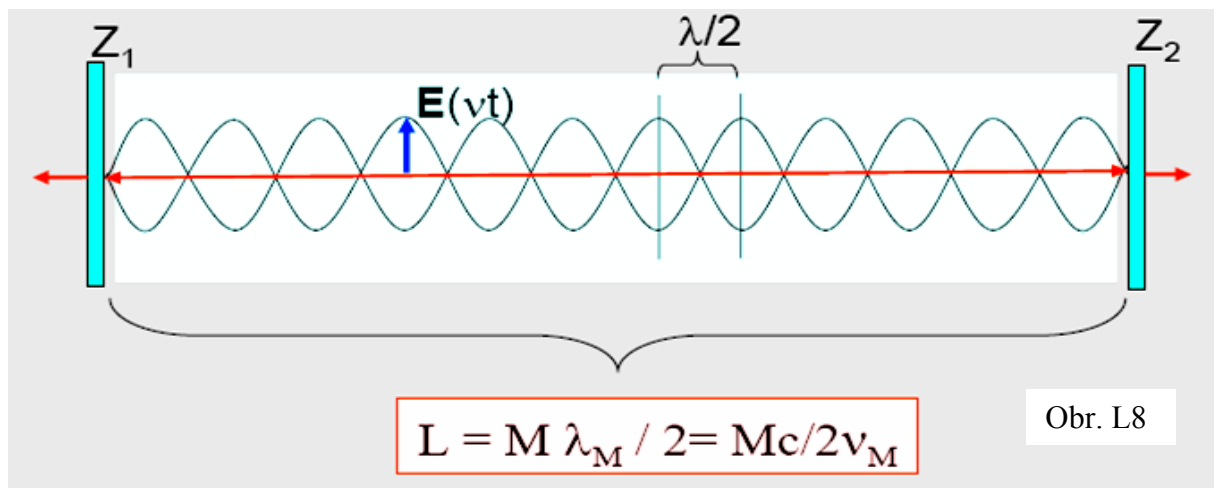
kde  $R_1$  a  $R_2$  jsou odrazivosti zrcadel,  $R$  je hodnota střední odrazivosti zrcadel a  $G$  je zesílení aktivního prostředí o délce  $L$ .



## Rezonátory

Frekvence elektromagnetického záření v optické oblasti spektra je kromě aktivní látky určena i parametry rezonátoru laserového oscilátoru. Proto můžeme považovat laserový oscilátor za systém dvou vázaných rezonančních obvodů. Jeden z rezonančních obvodů je dán rezonančními vlastnostmi kvantového přechodu, které jsou ovlivňovány řadou faktorů. U plynových laserů nastává rozšíření spektrální čáry přechodu především Dopplerovým jevem (u systému He-Ne je  $\Delta f_D = 1700$  MHz, iontové Xe, Kr, Ar 2000 až 4000 MHz, CO<sub>2</sub> kolem 100 MHz), rozšíření čar v pevných látkách interakcí s krystalovou mřížkou (0,1 - 5 THz), přechody v přeladovaných barvivových a femtosekundových (např. safír:Ti) laserech mají šířky pásma až 100 THz.

Druhým rezonančním obvodem, určujícím frekvenci oscilátoru, je u laserů optický rezonátor. Kvalita optických rezonátorů, používaných v laserech, je vysoká a šířka jejich rezonančních maxim je pouze několik MHz. Výsledná frekvence  $f_0$  bude určována především rezonátorem.



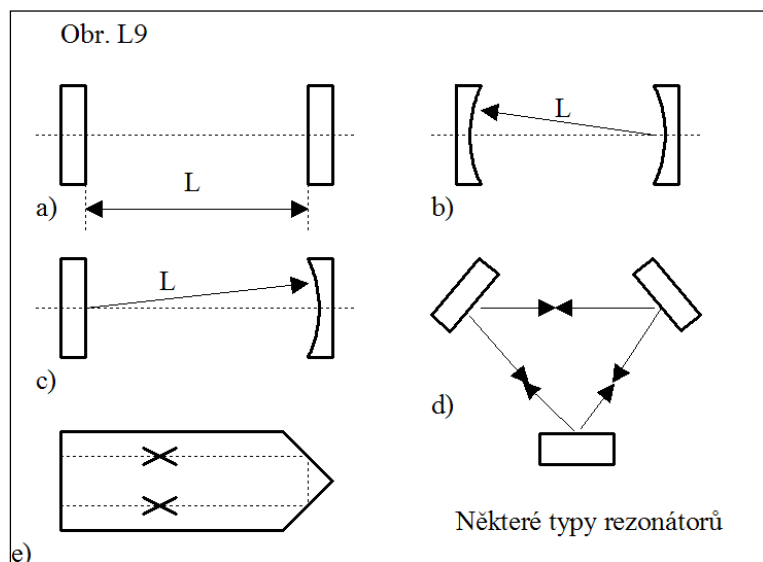
Délka rezonátoru  $L$  je  $M$  násobkem půlvlny ( $M$  je celé číslo). Délce  $L$  odpovídají **vlastní frekvence** rezonátoru  $\nu_M$  (**podélné módy laseru**). Uvnitř rezonátoru je **stojaté vlnění** elektrického pole  $E$  o frekvenci  $\nu_M = c/\lambda_M$

V optické oblasti spektra není možné používat jednomódové rezonátory, které mají rozměry srovnatelné s délkou vlny rezonančního kmitočtu, především protože:

- ◆ není možné zhotovit rezonátory s tak malými rozměry
- ◆ malé rezonátory nejsou schopné akumulovat velký výkon
- ◆ při přechodu do optického pásma rostou ztráty jednomódových rezonátorů.

Z těchto důvodů je nutné používat mnohamódové rezonátory pracující ve vysokých řádech spektra. Nejjednodušší, výše uvedený (L8), je F-P rezonátor s rovinnými paralelními zrcadly s vysokou odrazivostí, obvykle dielektrickými. Reflexní povrch dielektrických zrcadel je tvořen 11 - 23 vrstvami s různými indexy lomu, na př. ZnS a MgF<sub>2</sub> nanesených na skleněné nebo křemenné podložce. Vrstvy s nízkým a vysokým indexem lomu se střídají a mají tloušťku  $\lambda/4$ . Odrazivost takových zrcadel dosahuje až 99,99 % v maximu odrazivosti u úzkopásmových zrcadel. Kovové reflexní povrchy mají odrazivosti 98 - 99 % a používají se u laserů s vysokým zesílením aktivního prostředí.

V rezonátoru mohou být vybudeny kromě osové modifikace další konfigurace záření - módy, které reprezentují jiné možné struktury záření v rezonátoru. Obecně je možné konfigurace rozdělit na *podélný mód* pro který platí rezonanční podmínka (obr.L8) a *příčné módy* které bývají obvykle buzeny dále od optické osy. Podélný mód je charakterizován číslem  $l$  a příčné módy dvojicí čísel  $m, n$  která znamenají počet uzlů stojatého vlnění na optické ose ( $l$ ), resp. na osách k ní kolmých ( $m, n$ ). Protože elektrická i magnetická složka záření je kolmá k optické ose, je možné označit módy jako  $TEM_{lmn}$ . Hodnota  $l$  se neuvádí, protože je velmi velká a mění se s délkou  $L$ . Mody F-P rezonátoru se obvykle uvádějí jakou  $TEM_{mn}$  a základním módem rezonátoru je mód  $TEM_{00}$  s jedním maximem intenzity záření při měření kolmo k optické ose. Doposud jsme se věnovali planoparalelnímu rezonátoru. S ohledem na ztráty a stabilitu rezonátoru je výhodné používat sférická zrcadla (obr. L9). Taková zrcadla soustřeďují záření rovnoběžné s optickou osou a při použití v rezonátoru mají tendenci soustřeďovat stojaté vlnění k optické ose.



Další důležitou vlastností rezonátoru je parametr zvaný *jakost rezonátoru*. Obvykle se charakterizuje veličinou *činitel jakosti*  $Q$  podobně jako rezonanční obvody v elektrotechnice a mikrovlnné technice. Je definován vztahem:

$$Q = \frac{2\pi\nu_0 E_m}{P_z} \quad (17)$$

kde  $E_m$  je energie daného módu v rezonátoru a  $P_z$  energie ztracená za jednotku času (ztrátový výkon). Energie obsažená v rezonátoru klesne na  $1/e$  původní energie za relaxační dobu  $\tau$ , nazývanou také dobou života fotonu v rezonátoru:

$$\tau = Q/(2\pi\nu_0) \quad (18)$$

Souvislost relaxační doby se šířkou spektrální čáry  $\Delta\nu$  nabízí jinou interpretaci významu činitele jakosti  $Q$ :

$$\Delta\nu = \nu_0/Q \quad (19)$$

kde šířka  $\Delta\nu$  se měří v polovině maxima spektrální čáry. Běžné radiotechnické obvody mají  $Q = 10^1 - 10^2$  a vlnová délka mnohonásobně převyšuje rozměr rezonančního obvodu, zvětšuje

se u mikrovlnných kmitočtů řádu GHz činitel jakosti na  $10^4 - 10^5$  a rozměr rezonátoru je srovnatelný s vlnovou délkou. U optických F-P rezonátorů je  $Q = 10^8 - 10^9$  a rozměry rezonátoru převyšují o několik řádů vlnovou délku záření. Pološířka podélných módů je pak

$$\Delta\lambda = \lambda_0^2(1-R)/4\pi R^{1/2} \quad (20)$$

kde R je odrazivost zrcadel.

Nyní zbývá posouzení vzájemné vazby F-P rezonátoru a aktivního prostředí. Jak bylo popsáno výše, je zesílení aktivního prostředí realizováno na některém kvantovém přechodu charakterizovaném spektrální čarou s průběhem  $g(\nu)$ . Spektrální šířka čáry F-P rezonátoru bývá mnohem užší než šířka čáry zesílení aktivního prostředí. Vzdálenost podélných módů  $\Delta\nu$  v rezonátoru o délce L je rovna:

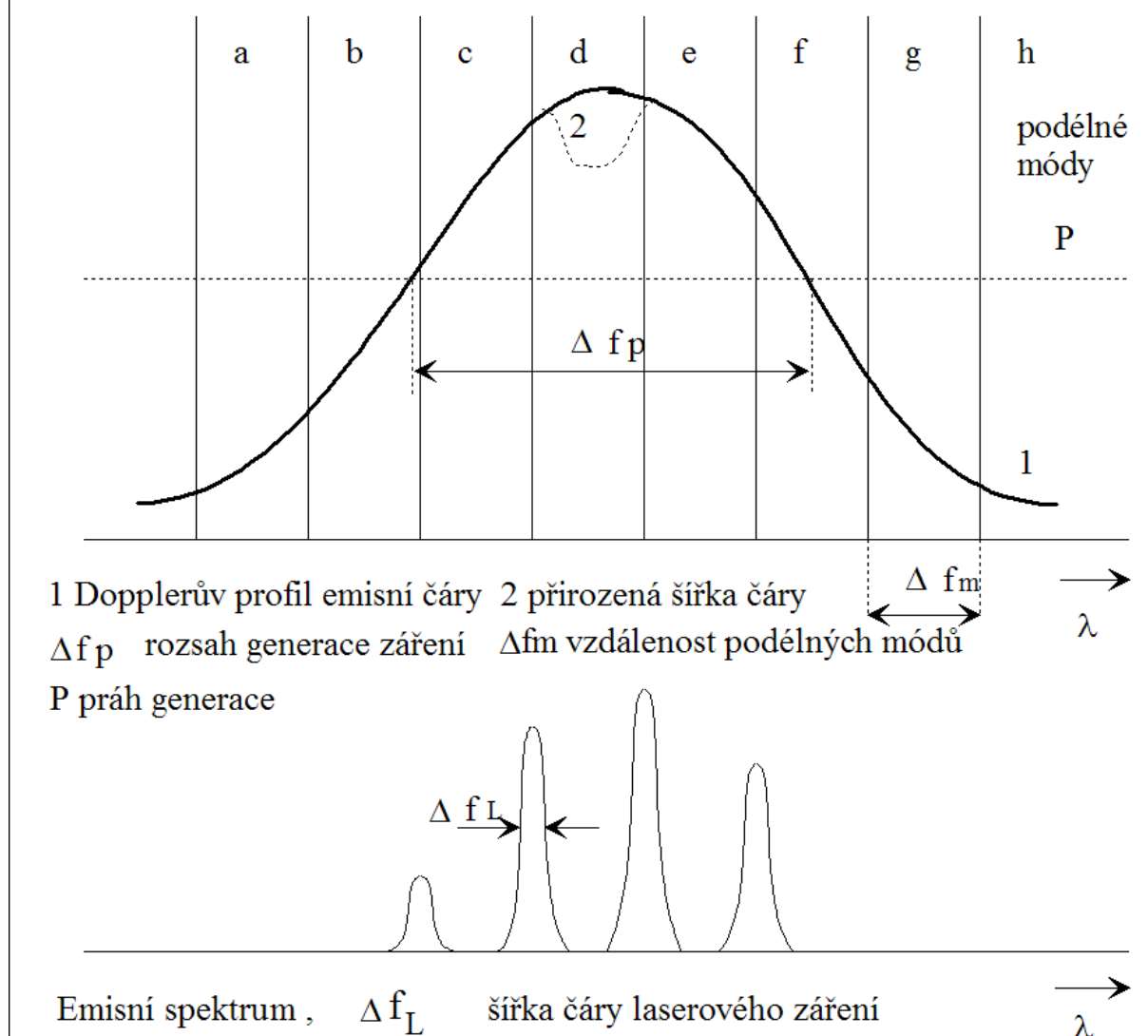
$$\Delta\nu = \frac{2L}{c} \quad (21)$$

kde c je rychlost světla v prostředí rezonátoru. To znamená, že laser může generovat záření současně na několika podélných módech (obr. L10). Pro generaci záření je nutné splnit podmínku (16) která říká, že laser bude vyzařovat tehdy, jestliže zesílení překročí ztráty v rezonátoru. Na obr. L10 označuje úroveň P prahové zesílení, tj. zesílení rovné ztrátám v rezonátoru a čáry a - h frekvence jednotlivých podélných módů rezonátoru (např. 99999, 100000, 100001 .... s vlnovými délkami 500,005; 500,000; 499,995.... nm). Křivka 1 pak zobrazuje šířku spektrální čáry v případě Dopplerova rozšíření v plynových laserech a křivka 2 udává přirozenou šířku čáry kvantového přechodu. Spektrální šířka čáry laserového záření  $\Delta f_L$  je díky velkému Q rezonátoru v oblasti optických kmitočtů menší než přirozená šířka čáry. Laser proto generuje prakticky monochromatické záření (po eliminaci jiných podélných módů - jednomódové lasery) ve formě nepatrně rozbíhavého svazku záření.

Na obr. L10 je uvažován kvantový přechod v plynu (plynovém laseru), kde šířky čar jsou malé, a přesto laser generuje na několika podélných módech rezonátoru. Pokud jsou kvantové přechody, na kterých se vytváří inverzní populace, rozšířeny např. interakcí s krystalovou mřížkou pevných látek nebo jsou jejich hladiny velmi široké jako např. v barvivech, generuje laser záření na velkém počtu podélných módů. Pak je nutné doplnit F-P rezonátor disperzním prvkem, např. hranolem nebo mřížkou, kterými se nastaví vlnová délka generace záření. Podobná je situace u laserů, na př. iontových, které mohou generovat záření na mnoha spektrálních čarách a pro výběr požadované spektrální čáry je nutné doplnit F-P rezonátor doplňujícím selekčním prvkem (filtr, mřížka,...).

Dalším faktorem, který rozšiřuje pásmo vyzařovaných frekvencí laseru, jsou příčné módy oscilací, které jsme doposud neuvažovali. To znamená, že záření laseru se skládá z řady frekvencí podélných módů oscilací  $TEM_{00}$  a frekvencí, které odpovídají příčným módům oscilací vyšších řádů na př.  $TEM_{10}$ ,  $TEM_{01}$ ,  $TEM_{11}$ ,  $TEM_{20}$  a další. Pro jejich odstranění se používají vhodné úpravy geometrie rezonátoru.

Obr. L 10 Generace a spektrum záření vícemódového laseru



### *Pevnolátkové dielektrické lasery*

Aktivní prostředí této skupiny laserů tvoří pevné krystalické nebo amorfní látky dopované příměsí vhodných iontů. Pevná fáze tvoří vlastně nosný skelet aktivního prostředí a zároveň elektrické pole v krystalu nebo skle způsobuje rozštěpení energetických hladin příměsových iontů nebo rozšíření jejich energetických hladin do energetických pásů. K vlastnímu optickému zesilování dochází na elektronových přechodech iontů příměsí. U krystalických materiálů (používá se na př. rubín -  $\text{Al}_2\text{O}_3$  dopovaný  $\text{Cr}^{3+}$ , yttrito-hlinitý granát YAG -  $\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$  dopovaný obvykle  $\text{Nd}^{3+}$  a dále  $\text{CaF}_2$ ,  $\text{CaWO}_4$ ,  $\text{LaCl}_3$  a j.) je nutné zachovávat přesnou orientaci podle optických os krystalu. Jako nosného prostředí se používá i amorfních materiálů - skel dopovaných na př.  $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Ho}^{3+}$ ,  $\text{Gd}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$ ,  $\text{Er}^{3+}$ . Skla jsou na rozdíl od krystalů izotropní a jejich optické a mechanické vlastnosti nezávisí na prostorové

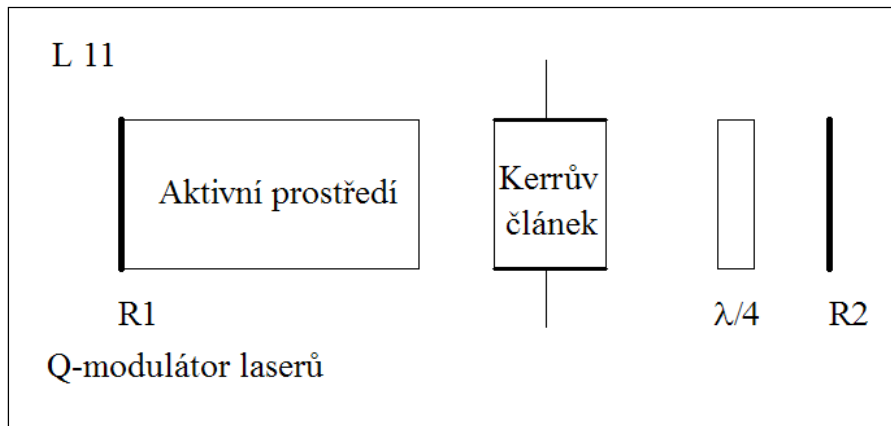
orientaci. Na rozdíl od krystalů mají menší mechanickou stabilitu, menší tepelnou vodivost a tendence k odesklení (krystalizaci).

U pevnolátkových laserů se používá téměř výlučně optické čerpání, při němž se pomocí vnějšího světelného zdroje (obvykle impulzní xenonové nebo rtuťové výbojky) vytvoří inverzní populace. Horní laserová hladina bývá obvykle metastabilní, dolní hladina by naopak měla mít co nejkratší dobu života. Pevnolátkové lasery pracují obvykle v impulzním režimu, kontinuální pracovní režim u pevnolátkových laserů se používá výjimečně. Laserový výbrus se vkládá do zářivého toku výbojky a z něho získává energii pohlcením záření na absorpčních pásech přechodů v aktivních iontech. Nezářivými přechody ze vzbuzených hladin je obsazována horní laserová hladina. K zesílení pak dochází na přechodu mezi ní a některou nižší, málo obsazenou hladinou. Z celkové energie záření, emitovaného výbojkou, se pro buzení využívá jen část, absorbovaná přechody na vhodnou energetickou hladinu. Nevyužitá část energie výbojky způsobuje jen ohřev krystalu, který je nutné u výkonných výbojek omezit vhodnou filtrací záření emitovaného výbojkou, na př. dielektrickými zrcadly s vhodným spektrálním průběhem spektrální odrazivosti.

Použijeme-li pro konstrukci pevnolátkového laseru základní uspořádání, kdy mezi zrcadly rezonátoru je umístěno aktivní prostředí bez dalších pomocných prvků, dochází ihned po překročení prahového zesílení ke stimulované emisi, která snižuje inverzní populaci mezi laserovými hladinami. Tím se snižuje zesílení a laser pracuje v oblasti těsně nad prahem generace. Snižíme-li stimulovanou emisi zavedením přídavných ztrát v rezonátoru, poroste při buzení inverzní populace a zesílení dosáhne vysokých nadprahových hodnot. Odstraněním přídavných ztrát rezonátoru v okamžiku vysoké hodnoty inverzní populace a tím vysokého zesílení dojde ke generaci intenzivního laserového záření, převyšujícímu o několik řádů zářivý tok laseru při neřízeném provozu. Dojde v podstatě k rychlému vyzáření energie akumulované v inverzní populaci iontů v aktivním prostředí. Doba trvání impulzu záření a jeho časový průběh je dán především způsobem řízení přídavných ztrát v rezonátoru čili modulací jakosti rezonátoru. Vhodným způsobem modulace činitele jakosti  $Q$  rezonátoru je možné dosáhnout impulzních výkonů kolem  $10^9$  W. Tomuto způsobu zvýšení hustoty zářivého toku laseru v impulzu záření se říká *režim  $Q$ -modulace rezonátoru*. Vyšších výkonů je možné dosáhnout sériovým zařazením dalších laserových krystalů bez rezonátorů, které pracují jako zesilovače záření primárního generátoru laserového záření (viz obr. L6). Pro modulaci činitele  $Q$  rezonátoru je možné používat mechanických clon, zařazených do optické cesty záření v rezonátoru, které jsou ale pomalé a synchronizace mechanické clony s čerpacím impulzem výbojky je obtížná. Výhodnější je použití elektrooptických modulátorů, využívajících jevu stáčení vektoru polarizace záření procházejícího vhodnou látkou umístěnou v elektrickém poli. Rozlišujeme látky vykazující lineární elektrooptický jev (Pockelsovy modulátory), na př. monokrystaly  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a kvadratický elektrooptický jev (Kerrové modulátory), na př. klasický nitrobenzen nebo monokrystaly  $\text{BaTiO}_3$  a KTN (tantalát-niobát draselný). Protože laser je schopen generovat záření jen při určité polarizaci dochází při změně polarizace ke změně  $Q$  rezonátoru.

$Q$ -modulátor laserů podle schématu na obr. L11 pracuje takto: Funkci časově proměnných ztrát budeme realizovat změnou odrazivosti na jednom reflektoru tak, že do cesty záření v rezonátoru umístíme klíčovací prvek, na př. Kerrův článek, kombinovaný s

polarizační destičkou  $\lambda/4$ . Tato destička stočí rovinu polarizované světelné vlny, odražené od zrcadla R2, o  $90^\circ$  a tím zvýší ztráty rezonátoru natolik, že nemůže dojít ke generaci laserového záření. V tomto čase dochází k obsazování horní laserové hladiny v aktivním prostředí. Jakmile se dosáhne maximální populace na horní hladině, přivedeme na Kerrův článek napěťový impulz, který stočí rovinu polarizace tak, že eliminuje vliv čtvrtvlnné polarizační destičky, ztráty v rezonátoru poklesnou a nastane rychlé vyprazdňování horní laserové hladiny v aktivním prostředí.



Jiný způsob modulace Q je použití akustooptického modulátoru, kde v látce vložené do rezonátoru se stojatým ultrazvukovým vlněním vytvoří disperzní prvek, podobný difrakční mřížce, kde k ohybu záření dochází na prouzcích s vyšším a nižším indexem lomu v uzlech a kmitnách stojatého akustického vlnění. Mřížková konstanta se mění frekvencí ultrazvuku.

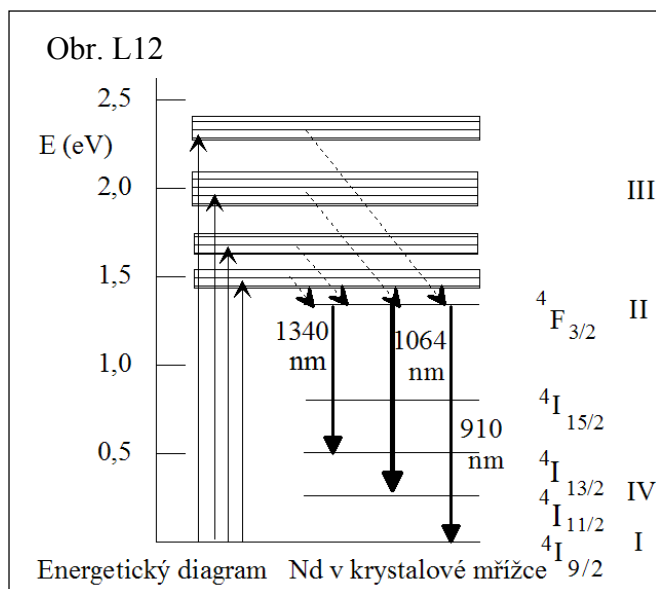
Kromě výše uvedených možností aktivních modulátorů (uzávěrů) se používají pasivní uzávěry na principu nasycení (saturace) absorpce. Do rezonátoru se vloží absorbér, absorbující záření na vlnové délce generace laseru (pro rubínový laser na př. ftalocyanin), a tím zvýší ztráty v rezonátoru. Při zvyšování emise spontánního záření se zvyšuje obsazení horní hladiny absorbujícího přechodu v absorbéru a tím klesá jeho absorpce. Jakmile nastane takové snížení absorpce absorbéru, že je dosaženo mezního zesílení v laseru, nastane silné zvyšování stimulované emise, která dokončí saturaci ("odbarvení") absorbéru. Situace v absorbéru je obdobná jako v aktivním prostředí, tj. dochází k buzení horní hladiny až do nasycení a k vyrovnání populace mezi horní a dolní hladinou kdy absorbér má nulovou absorpci. Pak dojde k vyzáření intenzivního impulzu záření a současně ke snížení inverzní populace v aktivním prostředí a díky relaxaci saturačního absorbéru k jeho opětovnému "zabarvení" a uzavření rezonátoru. Celý děj se opakuje v cyklech, na jejichž konci je vždy emitován impulz s vysokou hustotou laserového záření.

Účinnost pevnolátkových laserů se pohybuje pod 1 %. Nízká účinnost je dána jednak především úzkými absorpčními pásy aktivního prostředí při optickém buzení, které využívají pouze malou část zářivé energie výbojky. Účinnost laseru je závislá i na kvalitě krystalu a jeho opracování, homogenitě aktivních příměsí v krystalu a optickém systému. Dielektrické (lasery v tuhé fázi) mohou pracovat buď v tříhladinově (rubínový laser) nebo se čtyřmi úrovněmi (aktivní ionty vzácných zemin, na př.  $\text{Nd}^{3+}$ ). Pro vzorkování (laserovou ablaci) se v analytické spektrometrii ICP používají prakticky rubínový a především neodymový laser.

## Nd:YAG laser

Tento laser používá jako nosné prostředí monokrystal yttrito-hlinitého granátu s aktivními ionty  $\text{Nd}^{3+}$  zabudovanými do krystalové mřížky. Ionty neodymu v krystalové mřížce nahrazují ionty yttria. Čáry neodymu v tomto krystalu jsou poměrně úzké, což znamená, že krystalové pole záměnou yttria neodymem není příliš deformováno. Krystaly granátů jsou mechanicky pevné, tepelně stálé a optické ztráty ve srovnání s optickými skly mohou být mnohem menší. Z obr. L12 je vidět, že laser pracuje ve čtyřhladinovém systému, protože základní hladina není totožná se spodní hladinou laserového přechodu.

Nejintenzivnější emisní přechod v neodymu vyzařuje na vlnové délce 1064,8 nm. Šířka přechodu je při laboratorní teplotě přibližně 20 GHz a při teplotě kapalného dusíku se zmenší na 3 GHz. Doba života horní laserové hladiny je zhruba 0,2 ms při koncentraci 3 % Nd. Při vyšší koncentraci se doba života snižuje interakcí mezi ionty  $\text{Nd}^{3+}$ .



Čtyřhladinové lasery jsou velmi vhodné pro kontinuální provoz a hlavní aplikace Nd:YAG laseru je generace intenzivního kontinuálního záření, až přes 1 kW. Pro takový výstupní výkon je nutné laser budit výbojkami s výkonem kolem 30 kW a zajistit dokonalé chlazení prostoru pro optické buzení vyplněním chladicí kapalinou (obvykle vodou). Při impulzním provozu stačí k buzení krystalu s 3 % Nd (délka krystalu 30 mm, průměr 2,5 mm) impulz s energií 2J. Nd:YAG laser se v impulzním režimu často provozuje s vnitřní modulací Q rezonátoru. Pro řízení velikosti a tvaru impulzu se nejčastěji používá elektrooptický modulátor.

### Laser Nd:sklo

Skla aktivovaná neodymem v koncentraci 1 - 6 % Nd se v laserové technice používají velmi často především pro jejich snadnou výrobu na rozdíl od monokrystalů granátů. Skleněné materiály je možné vyrábět v rozměrech od vláken po tyče o průměru několika desítek centimetrů s homogenitou lepší než monokrystaly. Proto jsou také budící výkony skleněných



laserů nižší a účinnost vyšší než laserů s monokrystaly. Nevýhodou skel je jejich malá tepelná vodivost, takže se nehodí pro vysoké výkony, zejména v kontinuálním provozu. Používají se především pro vysoké opakovací frekvence nízkoenergetických impulzů, impulzů střední energie (1 - 100 J) s malou opakovací frekvencí a kontinuální provoz s malými výkony. Optimální výsledky pak dávají klíčované lasery (Q - modulace), kdy je možné dosáhnout impulzů s délkou trvání  $10^{-9}$  s a výstupní energií 50 J. Hodnoty špičkových výkonů se pohybují kolem 1 GW. Další zvýšení energie je možné dosáhnout, podobně jako u rubínového laseru, kombinací generátor - zesilovač. Toto zvýšení však hraničí s možným mechanickým a optickým porušením výbrusu. Mezní hodnoty hustoty výstupní energie pro dlouhé impulzy (1 ms) leží u  $1000 \text{ J.cm}^{-2}$ .

K absorpci a emisi záření z neodymového skla dochází na prakticky stejných vlnových délkách jako u neodymových laserů s monokrystaly, pouze absorpční i emisní pásy jsou poněkud rozšířeny amorfním prostředím skla. Nejintenzivnější emise je opět na vlnové délce 1064 nm, ale šířka pásma generovaného záření za laboratorní teploty je kolem 5000 GHz. Doba života horní laserové hladiny záleží na složení skla a pohybuje se v milisekundách. Sklo se zpracovává nečastěji do tyčinek s délkou 100 mm a průměrem okolo 10 mm a k jejich buzení stačí energie 30 - 50 J.

#### *Laser Ti:safír*

Tento laser používá jako nosné prostředí monokrystal safíru  $\text{Al}_2\text{O}_3$  s aktivními ionty  $\text{Ti}^{3+}$  zabudovanými do krystalové mřížky. Ionty titanu v krystalové mřížce nahrazují ionty hliníku. Obsah  $\text{Ti}_2\text{O}_3$  v safírovém krystalu se pohybuje v rozmezí 0,06 – 0,5 %. Laser je přeladitelný v rozsahu 660 – 1050 nm, absorpční spektrum je v rozsahu 400 – 600 nm. Maximum emise je 795 nm, maximum absorpce 488 nm. Díky širokému pásmu zesilovaných vlnových délek je možné generovat impulzy o délce řádově  $10^{-14}$  s (10 fs) a se špičkovým výkonem od mW do desítek TW ( $1 \text{ TW} = 1 \cdot 10^{12} \text{ W}$ ). Pro optimální využití možnosti zesílení a kvůli ochraně před zničením krystalu je vhodné nejprve pulz mnohonásobně časově protáhnout (využitím nelineárních optických jevů), potom teprve zesílit a nakonec opět zkrátit. Po fokusaci pak dosahují hustoty dopadajícího výkonu až desítky EW na  $\text{cm}^2$ . Stejně hodnoty bychom dosáhli soustředěním veškerého slunečního záření, které dopadá na zemský povrch po průchodu atmosférou ( $1,7 \cdot 10^{17} \text{ W}$ ) na plochu velikosti špendlíkové hlavičky (kolem  $1 \text{ mm}^2$ ).

#### *Plynové lasery*

Plynové lasery, které používají jako aktivní látku plyn nebo směs plynů, jsou schopny generovat záření v širokém spektrálním rozsahu od měkkého RTG po vzdálenou IR oblast s výkony od mW do desítek kW při kontinuálním provozu a do stovek TW v impulzním provozu. Podle způsobu čerpání je možné rozdělit plynové lasery na tyto skupiny:

- Lasery s výbojem v plynu
- Lasery s přímým čerpáním (plyny)
- Dynamické plynové lasery
- Fotodisociační lasery
- Chemické lasery

- Excimerové lasery

Uvedené lasery čerpají aktivní látku elektrickým polem nebo elektronovým paprskem (1. a 2. skupina), proudem přehřátého rozpínajícího se plynu s nadzvukovou rychlostí částic (3. skupina), optickým zářením (4. skupina), chemickou energií (5. skupina), kombinovaným čerpáním elektrickým polem a elektronovým paprskem, příp. rychlými neutrony nebo i optickým zářením (6. skupina).

Podle typu energetických přechodů můžeme rozdělit lasery na:

- atomové (He-Ne, Ar, Kr...+)
- iontové (Ar\*, Kr\*, He-Cd\*, He-Se\*....)
- molekulové (CO<sub>2</sub>, CO, H<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>O, HCN, HF, DF ....)
- s parami kovů a jiných prvků (Cu, Au, Mn, Pb, S ....)
- rekombinační (Sr\*, Ca\*, Eu\*...)
- excimerové (*excitované dimery* Ar<sub>2</sub><sup>\*</sup>, Kr<sub>2</sub><sup>\*</sup>, Xe<sub>2</sub><sup>\*</sup>, ...)
- exciplexové (*excitované komplexy* ArF\*, KrCl\*, XeCl\*, XeF\*, KrF\*...)

Jednotlivé typy laserů mohou pracovat kontinuálně i impulzně (na př. CO<sub>2</sub>), jiné mohou pracovat jen impulzně (páry Cu). Specifickou vlastností plynových laserů je velká homogenita aktivního prostředí, což umožňuje používat velké objemy aktivního prostředí a získat vysoké zářivé výkony. Další důležitou vlastností plynových laserů je malá interakce mezi částicemi aktivního prostředí a proto mohou mít plyny velmi úzké absorpční i emisní čáry. Důsledkem je malý počet módů v rezonátoru a možnost konstrukce jednomódových laserů s velmi úzkou emisní čarou.

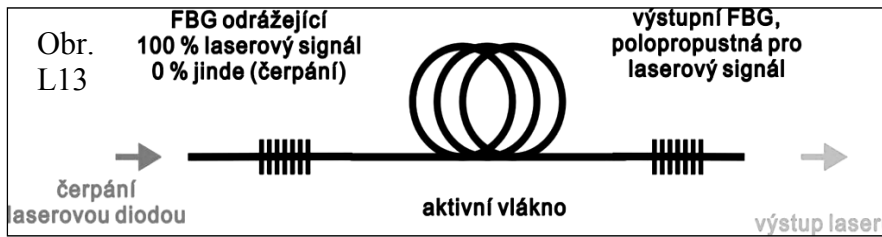
Jako aktivní látky se používají neutrální atomy, ionty a molekuly. Energie atomových laserových přechodů se pohybují v rozmezí 0,1 - 2 eV (blízká IR a červená oblast VIS

Aktivní látka	nm	provoz
ArF <sup>*</sup>	193	impulzní
KrCl <sup>*</sup>	222	"
Ne <sup>3+</sup>	235	"
XeCl <sup>*</sup>	308	"
Ne <sup>2+</sup>	332	"
N <sub>2</sub>	337	"
Ar <sup>+</sup>	488 a 515	kontinuální
Kr <sup>+</sup>	568	"
He-Ne	633; 1152 a 3392	"
He-Cd	325 a 442	"
Xe	2 060	"
CO <sub>2</sub> +N <sub>2</sub> +He	10 600	"
H <sub>2</sub> O	27 900	"
HCN	3370	"

spektra). V iontových laserech se pohybuje energie vyzařovaných fotonů obvykle v rozmezí 2 - 5 eV, tedy ve viditelné a UV oblasti spektra. Excimerové a exciplexové (někdy také označované jako excimerové) jsou určeny pro generaci záření v UV, VUV a měkké RTG oblasti spektra. Molekulové plynové lasery emitují záření v oblasti 5 - 1000 μm. Přehled typických plynových laserů jsou uvedeny v tabulce.

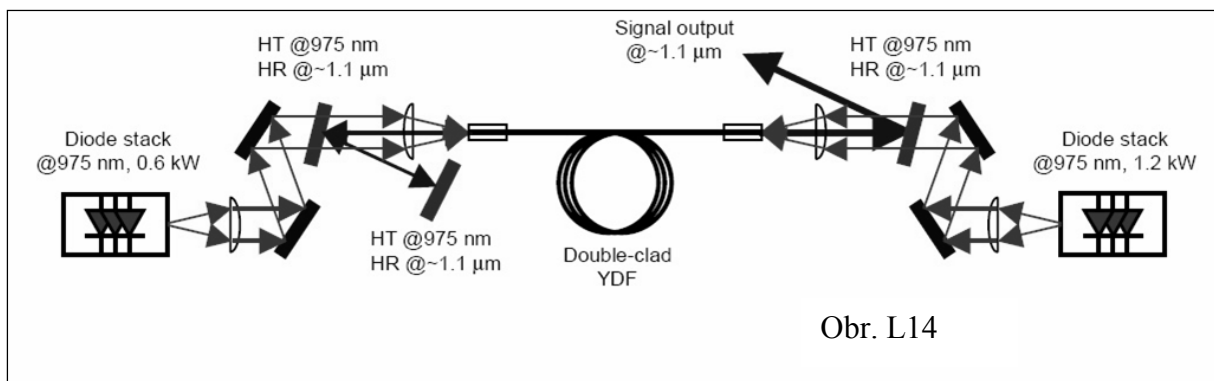
### Vláknové lasery

V poslední době se rozšiřuje použití vláknových laserů, kdy aktivní prostředí je ve formě vláknového optovodiče. V současnosti dosahují zářivých výkonů až 2 kW. Princip vláknového laseru je na obr. L13.



FBG = Fiber Bragg Grating

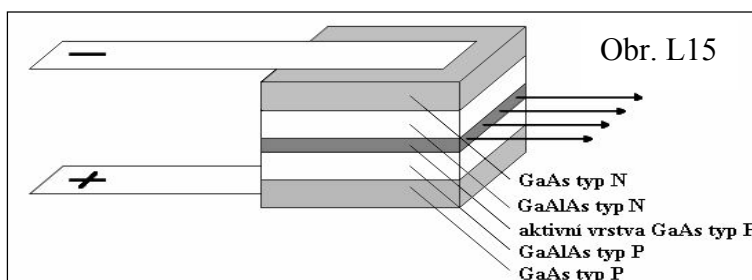
Příklad výkonového laseru dopovaného yterbiem a buzeného polovodičovými diodami s externím F.-P. rezonátorem je na obr. L14:



Obr. L14

### Laserové diody

Polovodičové lasery jsou založeny na vzniku stimulované emise optického záření v polovodičích při kvantových přechodech elektronů z vodivostního do valenčního energetického pásu a existenci zářivé rekombinace nosičů náboje elektronů a děr. Pro generaci koherentního záření je zapotřebí zajistit dosažení inverzní populace v aktivní oblasti laseru a vznik kladné zpětné vazby. Inverze populace se dosahuje obvykle injekcí nosičů náboje přechodem PN (injekční laser), kladná zpětná vazba se obvykle vytvoří úpravou polovodičové diody do formy F.-P. planparalelního rezonátoru. Velmi účinné jsou heterostrukturálních polovodičích. V těchto typech laseru s heteropřechody je vymezení vlnovodu dáno skokovou změnou indexu lomu v oblasti heteropřechodu. Současně s účinným vedením světla zabezpečuje heterostruktura i podmínky k účinnému soustředění menšinových nosičů. Působením heteropřechodu se soustřeďuje záření a injektované nosiče do zvolených oblastí.



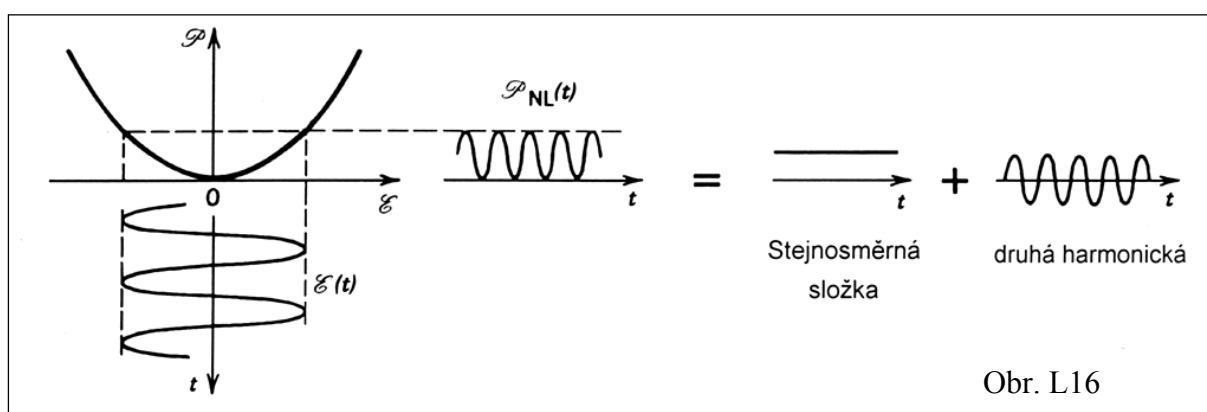
Obr. L15

Polovodičové lasery se často používají k optickému čerpání pevnolátkových laserů, např. ND:YAG. Lasery čerpané polovodičovými lasery mají obvykle vyšší účinnost oproti laserům čerpanými výbojkami (vlnová délka emise diod může být nastavena na absorpční maximum aktivního prostředí) a mohou pracovat s vyššími opakovacími frekvencemi pulzů (až desítky kHz).

### **Frekvenční konverze**

Pro aplikace je důležité mít možnost změny vlnové délky laserového záření. Ta je určena oblastí emise aktivního prostředí, ale lze ji měnit použitím některých nelineárních optických jevů, zejména generací druhé harmonické (změna dvou fotonů laserového paprsku na jeden foton dvojnásobné frekvence ve vhodném materiálu) nebo parametrickou generací (rozdělení jednoho fotonu na dva s nižší frekvencí). Jak změna vlnové délky, tak zesilování vedou nutně k jistému prodloužení pulzů.

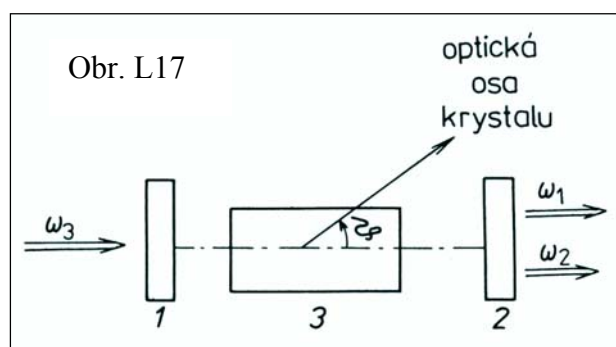
První možností je využít nelineárních jevů druhého (třetího) řádu. Intenzita záření druhé harmonické je úměrná druhé mocnině koeficientu optické nelinearity a intenzity záření dopadající vlny, nepřímo úměrná čtvrté mocnině vlnové délky. K nelineárním optickým jevům dochází, když elektrické pole optické vlny je srovnatelné s elektrickým polem reprezentujícím Coulombovu sílu mezi stavebními prvky látky, tj. mezi elektrony a jádrem atomu, elektrony a ionty krystalu apod. (obr. L15). Intenzita elektrického pole klasických zdrojů záření (Slunce, výbojka) je řádově  $E = 1 - 10 \text{ V/cm}$ , zatímco elektrické pole protonu ve vzdálenosti Bohrova poloměru je řádově  $E = 10^8 - 10^9 \text{ V/cm}$ , dosažitelné v laserovém paprsku.



V následující tabulce jsou používána nelineární optická prostředí – krystaly:

krystal	$\Delta\lambda$ ( $\mu\text{m}$ )	MW/cm <sup>2</sup>
KDP (dihydrogenfosfát draselný)	0,2 – 1,35	400
KDDP (deuterovaný KDP)	0,2 – 1,8	500
ADP (dihydrogenfosfát amonný)	0,2 – 1,2	500
RDP (dihydrogenfosfát rubidný)	0,2 – 1,5	300
CDA (dihydrogenarsenát cesný)	0,26 – 1,6	500
LiIO <sub>3</sub>	0,3 -4,5	60
LiNbO <sub>3</sub>	0,4 – 4,5	120
Ba <sub>2</sub> NaNb <sub>5</sub> O <sub>15</sub>	0,38 - 5	100
HIO <sub>3</sub>	0,4 – 1,3	100
BBO ( $\beta$ -BaB <sub>2</sub> O <sub>4</sub> )	0,2 – 1,5	400

Druhou možností je optický parametrický oscilátor (OPO), který je založen na koherentním rozpadu fotonu o kruhové frekvenci  $\omega_3$  na dva fotony, jejichž kruhové frekvence  $\omega_1$  a  $\omega_2$  (signálová a jalová vlna), při čemž platí:  $\omega_3 = \omega_1 + \omega_2$  a poměr  $\omega_1 / \omega_2 = f(\nu)$



### Literatura

- Engst P., Horák M.: Aplikace laserů. SNTL Praha 1989.  
 Blabla J., Šimeček T., Trkal V.: Kvantové generátory. SNTL Praha 1968.  
 Hábovčík P.: Lasery a fotodetektory. Alfa Bratislava 1989.  
 Kvasil B.: Kvantová elektronika. Academia PRAHA 1968.  
 Kvasil B.: Teorie otevřených rezonátorů. Academia Praha 1971.  
 Klejman H.: Masery a lasery. Alfa, Bratislava 1969.  
 Kuběna J.: Aplikovaná optika I, přednášky PřF MU Brno, 2000.  
 Haderka, O., Valenta, J.: Vesmír 76, 138, 1997/3  
 Kubeček, Peterka: ÚFE Praha 2007, www.ufe.cz  
 Vrbová M. a kol.: Lasery a moderní optika, Prometheus, Praha 1994

## Laserová ablace v ICP spektrometrii

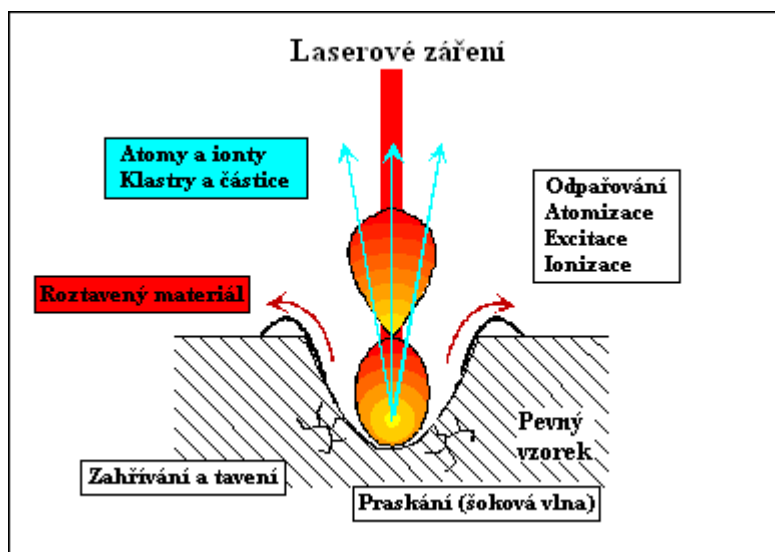
*M. Holá, Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno*

### 1. Úvod

Laserová ablace v analytické chemii zaznamenala v posledních letech velký rozvoj. V mnoha případech nahradila klasickou roztokovou analýzu a umožnila přímou analýzu pevných materiálů. Jedná se o metodu založenou na interakci zaostřeného paprsku pulsního laseru s povrchem vzorku. Při používaných hustotách zářivého toku řádově  $>10^9$  W/cm<sup>2</sup> se materiál vzorku prudce ohřeje, a to i do určité hloubky pod povrch vzorku. Prudký nárůst tlaku uvnitř vzorku vyvolá explozi a tříštění povrchové vrstvy. Odpařený a atomizovaný materiál spolu s ionizovaným okolním plynem dále absorbují záření laseru a vytvářejí tzv. laserem indukované plazma (Laser-induced plasma LIP). Popsané děje při interakci laserového paprsku se vzorkem naznačuje obr. č. 1. V LIP jsou excitovány atomy i ionty vzorku a měření časově závislých signálů obvykle atomových (ale i iontových) čar lze provést kvalitativní i kvantitativní prvkovou analýzu. Měření optické (atomové/iontové) emise z LIP se zabývá Laser Induced Breakdown Spectrometry (LIBS). Druhou možností je excitace a ionizace odpařeného vzorku v účinném plazmovém zdroji s nízkými mezemi detekce a velkým lineárním koncentračním rozsahem. Odpařený (částečně atomizovaný) materiál lze transportovat pomocí nosného plynu do jiného budičeho zdroje, obvykle do ICP. Ve srovnání s konvenčními roztokovými technikami má laserová ablace mnoho výhod. Většina analytických metod vyžaduje rozpouštění pevných vzorků v kyselinách, což znamená velké riziko kontaminace nebo ztráty těkavých složek při přípravě vzorků. U špatně rozpustných materiálů je tento postup navíc velmi zdoluhavý a může vést k neúplnému převedení pevného vzorku do roztoku. Při použití laserové ablace mohou být vzorkovány všechny druhy materiálů bez ohledu na velikost vzorku. Pro chemickou analýzu laserovou ablací je potřeba pouze malé množství vzorku (< mikrogramy) ve srovnání se zmlžováním roztoků (miligramy).

Laserová ablace ve spojení s optickou a hmotnostní spektrometrií (LA-ICP-OES/MS) se stala metodou pro stanovení velkého množství prvků s velmi nízkými limity detekce. Rozsáhlým tématem ke studiu je v této době využití LA-ICP-OES/MS v oblastech životního prostředí, geologie, archeologie, průmyslové výroby atd. [1-3].

V současné době je vývoj LA-kombinovaných metod zaměřen na zlepšení přesnosti a zejména správnosti stanovení. Pro kalibrace je nutné použití standardů s vhodnou maticí, které je většinou obtížné získat nebo připravit. Bez použití vhodných kalibračních standardů se stává hlavní problematikou frakcionace během ablace. Ta omezuje správnost chemické analýzy, protože složení aerosolu, který se odpaří a atomizuje v ICP, se liší od složení analyzovaného vzorku [4].



Obr. č. 1: Interakce laserového paprsku se vzorkem.

## 2. Experimentální uspořádání

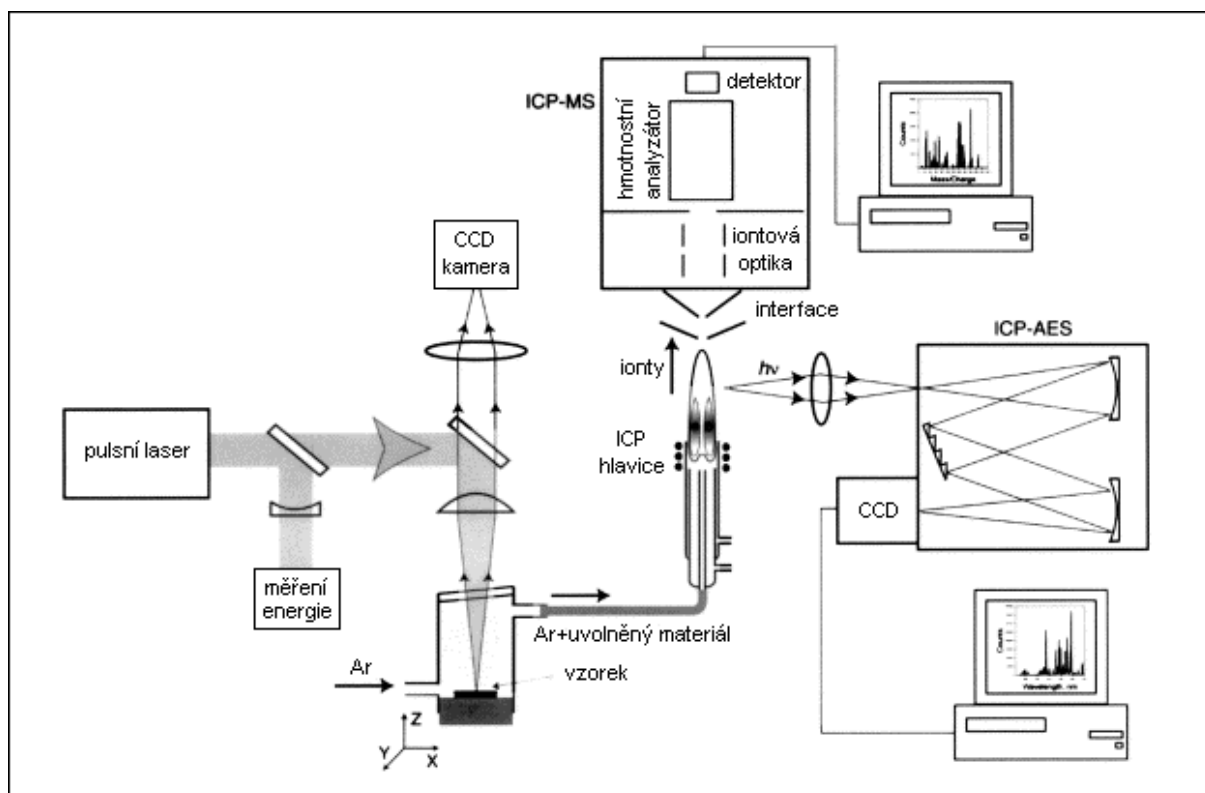
Typické uspořádání pro laserovou ablací se skládá z laseru, ablačního systému (optika, ablační komora) a detekčního systému. Pro generaci koherentního záření jsou nejčastěji používány lasery pulsní. Vzorek je většinou umístěn do mechanicky nastavitelné ablační komory. Jako detekční systém se nejvíce osvědčilo ICP-OES nebo ICP-MS. Pro transport ablatovaného vzorku z ablační komory do ICP se používá argon nebo jiný inertní plyn (obr. č. 2).

### 2.1 Lasery využívané při ablaci

V průběhu vývoje laserové ablace byla použita celá řada pulsních laserů. Mezi první lasery pro chemickou analýzu pevných látek patří lasery rubínové [2]. V současné době je většina experimentů prováděna pomocí Nd:YAG nebo excimerových laserů [1]. Pevnolátkové Nd:YAG lasery jsou široce využívány zejména pro jejich cenovou dostupnost, snadnou údržbu a relativně jednoduché začlenění do malého ablačního systému. Základní vlnová délka je v blízké IČ oblasti při 1064 nm, používaná je také dvoj, tří, čtyř a pětinasobná frekvence (532, 355, 266 a 213 nm) [5]. U excimerových laserů závisí vyzařovaná vlnová délka na použitém plynu, např. 308, 248 a 193 nm pro XeCl, KrF a ArF. Obecně řečeno, kratší vlnové délky poskytují vyšší energie fotonů účinné při štěpení vazeb a ionizaci pevných vzorků. Laserovému záření o vlnové délce 266, 213 a 157 nm odpovídá energie fotonů 4,66, 5,83 a 7,90 eV. Absorpce laserové energie analyzovaným vzorkem a laserem-indukovaným plazmatem podstatně závisí právě na vlnové délce laseru.

## 2.2 Ablací systém

Typické uspořádání pro laserovou ablací obsahuje čočku, ablační komoru a translátor umožňující pohyb vzorku v osách X, Y popř. Z. Čočka může být součástí optického mikroskopu. Povrch vzorku bývá také často snímán CCD kamerou. Vzorek je umístěn do ablační komory, do které laserový paprsek vstupuje přes křemenné okénko. Vytvořený aerosol vzorku je unášen inertním plynem do ICP spektrometru. Ar a He se ukázaly jako nosné plyny poskytující velkou účinnost transportu v závislosti na jejich nízké viskozitě a hustotě vzhledem k ostatním vzácným plynům [2, 6]. Sestrojeno a testováno bylo velké množství různých ablačních cel [5, 7, 8]. Objem komory a transportní hadičky spojující ablační systém s ICP má vliv na účinnost transportu vzorku. Malé objemy redukují čas potřebný na „vymytí vzorku“ z komory a transportního potrubí. Vysoká rychlost průtoku nosného plynu může částečně zamezit usazování vzorku na stěnách ablační cely a hadičky a tím snížit paměťový efekt. Pro vylepšení účinnosti transportu může být vzorek umístěn přímo pod plazmovou hlavici [9].



Obr. č. 2: Experimentální uspořádání pro laserovou ablací.

## 2.3. Detekční systém

Elementární analýza je prováděna pomocí vyhodnocení spektrálních čar v ICP. Intenzita emisní čáry udává koncentraci složky v ablatovaném materiálu. ICP-OES poskytuje velký dynamický rozsah sahající od analýzy stopových prvků po stanovení majoritních složek [10]. Velkou výhodou ICP-OES je možnost simultánní multielementární analýzy. Pro stopové



analýzy jsou potřebné spektrometry s vysokým rozlišením. Nevýhodou OES oproti MS jsou vyšší meze detekce a větší spektrální interference.

Nejběžnějšími ICP-MS systémy jsou přístroje s kvadrupólovým analyzátozem. Používají se ale i analyzátozy s dvojitou fokuzací, průletový analyzátoz (time of flight - TOF) nebo analyzátoz s iontovou pastí [1]. Výhodou TOF a kvadrupólového analyzátozu je rychlost skenování hmotnostního spektra. Ačkoliv jsou měření prováděna sekvenčně, rychlost měření je velká ve srovnání s časovou odezvou zavádění vzorku laserovou ablací.

### **3. Interakce laseru se vzorkem**

Pojmenování „laserová ablace“ obecně vyjadřuje explozivní interakci laserového paprsku a zkoumaného materiálu. Tato interakce zahrnuje přenos zářivé energie laserového paprsku na vzorek s následkem odpaření materiálu, odštěpení atomů, iontů, molekul a fragmentů molekul z povrchu vzorku. To je doprovázeno rázovou vlnou, expanzí a vznikem laserového mikroplazmatu. Tyto procesy jsou nejvíce ovlivňovány hustotou zářivého toku laserového paprsku a tepelnými a optickými vlastnostmi zkoumaného materiálu. Obecně jsou uváděny dva mechanismy, které se uplatňují při interakci laserového paprsku se vzorkem: termické (odpařování) a netermické (ablace) [11]. Při termických procesech elektrony přímo absorbují laserové záření a energii přenášejí na atomovou mřížku. Výsledkem je tavení a odpařování materiálu. V závislosti na skupenském teplu různých chemických prvků mohou termické mechanismy způsobit frakcionaci.

Jestliže je energie fotonů vyšší než vazebná energie sousedních atomů, elektromagnetické laserové záření může přímo rozbít atomovou mřížku a dochází tak k uvolňování atomů a iontů explozí, bez obvyklých zahřívacích efektů [12, 13].

Termické procesy převládají u laserů s nižší hustotou zářivého toku ( $<10^6$  W/cm<sup>2</sup>) a delším trváním pulsu (mikrosekundy a delší), při vyšší hustotě zářivého toku ( $10^9$  W/cm<sup>2</sup>) a kratším trváním pulsu (nanosekundy a kratší) dominují procesy netermické. U laserů s hustotou zářivého toku  $10^6 - 10^9$  W/cm<sup>2</sup> dochází současně k odpařování, ablací a dalším mechanismům.

#### **3.1. Plasma shielding**

Dalším dějem, který zjevně závisí na vlnové délce laseru je „plasma shielding“ (stínění plazmatem) [14, 15]. Laserový paprsek interaguje s obláčkem laserového mikroplazmatu generovaného na začátku ablačního děje a to v závislosti na době pulsu. Laserová energie může být absorbována nebo odrážena mikroplazmatem, k vyšší absorpci dochází při delší vlnové délce [15, 16]. Krátkovlnné UV fotony s vysokou energií prostupují plazmatem velmi účinně a způsobují přímé rozbíjení vazeb ve vzorku. Výsledkem je malá frakcionace.

Absorpce laserového paprsku o vysoké iradianci (iradiance je definovaná jako plošná hustota výkonu, v češtině označovaná jako „ozáření“) z krátkého pulsu může být popsána následovně: Fotony laserového záření dopadají na povrch vzorku. Následuje exploze a odpařování materiálu. Volné elektrony jsou vystaveny laserovému záření a jsou urychleny elektromagnetickým polem. Jestliže je jejich kinetická energie dostatečná, srážejí se s atomy. Výsledkem je ionizace obláčku páry a lavinový nárůst koncentrace elektronů. V průběhu

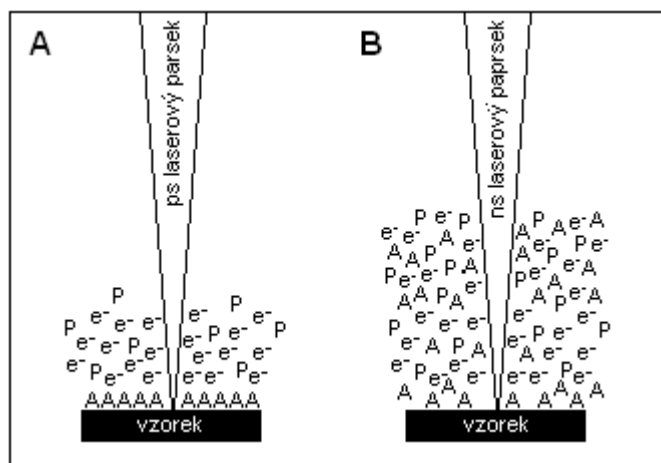
srážek s atomy a ionty mohou tyto elektrony získat energii laserového záření. Tento proces je nazývaný inverse Bremsstrahlung a výsledkem je vznik a udržování laserového plazmatu. V závislosti na hustotě elektronů může plazma stínit laserový paprsek. Absorpční koeficient je závislý na vlnové délce záření. U laserů pracujících v UV oblasti plazma absorbuje pouze slabě. Velká část fotonů dopadá na vzorek a způsobuje vymrštění částic z jeho povrchu v důsledku exploze. Jestliže laser emituje v IČ oblasti, plazma absorbuje většinu záření. Teplota plazmatu roste a dochází k odpařování materiálu z povrchu vzorku.

Vyšší absorpce laserové energie mikroplazmatem je také pozorována u laserů s delší dobou pulsu. Příkladem může být odlišné stínění u pikosekundových a nanosekundových laserů popsané na základě srážek atomů, iontů a elektronů v atmosféře nad povrchem vzorku. Během pikosekundového pulsu se atomy/ionty dostanou pouze několik desítek nanometrů od povrchu vzorku rychlostí řádově  $10^6$  cm/s [11]. Naproti tomu jsou produkovány elektrony s vysokou energií ( $>100$  eV), které mohou dosáhnout rychlosti řádově  $10^9$  cm/s. Tyto rychlé elektrony urazí během pikosekundového pulsu stovky mikrometrů a podstupují mnohem více srážek s atomy plynu než s uvolněnými atomy a ionty. Rychlé elektrony absorbují fotony laserového záření v průběhu srážek s atomy plynu. Během nanosekundového laserového pulsu urazí atomy a ionty několiknásobně delší vzdálenost (u nanosekundové laserové ablace nebyly pozorovány rychlé elektrony). Atomy/ionty podstupují vzájemné srážky, expandují a absorbují fotony laserového záření (obr. č. 3).

Díky odlišnému stínění plazmatem mohou pikosekundové lasery zajistit lepší přesnost analytických výsledků než lasery nanosekundové [17]. Dalším znakem pikosekundových

laserů je vyšší ablační výkonnost ve srovnání s nanosekundovými lasery [18]. Při stejné energii je „ablatováno“ více materiálu s použitím pikosekundového laseru. To je způsobeno menším stíněním a menším zahříváním vzorku v okolí dopadu laserového paprsku.

V poslední době jsou používány také femtosekundové lasery. Při délce pulsu 100 ps a kratším nedochází k interakci laserového paprsku s mikroplazmatem, ale pouze s povrchem vzorku. Dříve než materiál podlehe jakýmkoliv termodynamickým změnám, laserový puls skončí, to znamená, že k uvolnění materiálu dojde až po skončení pulsu. Podrobnější srovnání femtosekundových a nanosekundových laserů uvádí práce [19].



Obr. č. 3: Model pro stínění plazmatem. Vlevo: stínění pikosekundového laseru založené na srážkách rychlých elektronů a atomů plynu. Vpravo: stínění nanosekundového laseru založené na srážkách mezi atomy/ionty vzorku a plynu.

### 3.2. *Frakcionace*

Důsledkem frakcionace, ke které může docházet při laserové ablacii, je odlišné složení analyzovaného mikroplazmatu a průměrného složení vzorku. Frakcionace se může objevit při ablačním procesu, při transportu do ICP a také přímo v ICP.

Frakcionace je závislá na složení vzorku. Proto byly prováděny pokusy spojené se základními vlastnostmi prvků jako je bod tání, bod varu, tlak par, poloměr atomů a iontů, náboj nebo speciace [6, 20-22]. Např. bylo zjištěno, že prvky oxidů s nízkým bodem tání ( $\text{CuO}$ ,  $\text{Bi}_2\text{O}_3$ ) obohacují odpařenou fázi. Outridge a kol. [23, 24] zkoumali ablační a transportní frakcionaci stopových prvků během infračervené (1064 nm) laserové ablace vzorků skla, zubů savců a mědi. Spojují frakcionaci s bodem tání a varu prvků. Jeffries a kol. studovali vzájemnou souvislost mezi frakcionací a poloměrem iontů, velikostí náboje a bodem tání prvků při použití IČ a UV laserů [25]. Frakcionace je také ovlivňována chemickou formou prvku a přítomnou maticí [26, 27]. Velkou roli hrají také vlastnosti laseru (plošná hustota výkonu, délka pulsu, vlnová délka) [50]. Např. frakcionace Zn/Cu ukázala velkou závislost na iradianci laseru a době pulsu. Při použití nanosekundového laseru je dominantním procesem termická vaporizace. Pikosekundové lasery poskytovaly nižší hodnotu poměru obsahů Zn/Cu než lasery nanosekundové. Zn se snadněji odpařuje, to znamená, že při mechanismu ablace pikosekundovým laserem převládají netermické procesy [17]. Větší množství energie může být převedeno na ablatovaný materiál prostřednictvím kratšího pulsu. Redukovaný příspěvek termických procesů souvisí se snížením frakcionace. Studium bylo věnováno také vlivu vlnové délky na frakcionaci [6, 20, 25, 28-31]. Kratší vlnové délky UV laserů způsobují frakcionaci v menší míře ve srovnání s IR lasery.

Dalším faktorem ovlivňujícím frakcionaci je velikost a tvar kráteru. Při zvýšené iradianci laseru se geometrie kráteru po určitém počtu pulsů mění. Z mělkého kráteru s plochým dnem se stává hluboký kráter, jehož poměr hloubky ku poloměru neustále roste, což znamená, že se zvětšuje povrch stěn kráteru. Důsledkem je snížené ozáření na stěnách, které způsobuje větší podíl termických efektů a tím i zvýšenou frakcionaci [4, 32]. Další hypotéza konstatuje, že plazma stísněné mezi stěnami hlubokého kráteru přispívá k procesu vzorkování vedoucí k frakcionaci [4].

K frakcionaci může docházet také během transportu vzorku do ICP. Tato fáze frakcionace zahrnuje selektivní kondenzaci na stěnách hadice a selektivní nukleaci speciací v částice různé velikosti. Míru těchto dějů určuje morfologie částic stejně jako chemické složení vzorku. Velikost průměru částic transportovaných do ICP se pohybuje v rozmezí 2 nm až 5  $\mu\text{m}$  [4]. Částice menší než 2 nm mohou zůstat usazeny na stěnách ablační komory a transportní trubice, částice větší než 5  $\mu\text{m}$  se usazují působením gravitace. Bylo zjištěno, že rozdělení velikosti částic se mění s iradiací vzorku. Při zvyšující se iradianci nejprve účinnost zavádění vzorku do ICP klesá, což je způsobeno pravděpodobně tvorbou nadměrně velkých částic ( $>10 \mu\text{m}$ ) během fáze exploze při laserové ablacii [33]. Práce [34] ukazuje závislost účinnosti transportu částic do ICP na iradianci při ablacii silikonu Nd:YAG laserem s délkou pulsu 3 ns. V počátku se zvyšující se iradiací účinnost klesá, při hodnotě iradiance  $10^{10}$ - $10^{11} \text{ W/cm}^2$  dosahuje účinnost transportu minima a po dalším zvyšování iradiance účinnost roste. Důvodem je silná absorpce laserového záření mikroplazmatem a tím vznik

oblasti s velmi vysokou teplotou a tlakem. Při průchodu částic touto oblastí dochází k jejich rozbití na menší částice, které jsou účinněji transportovány do ICP.

Frakcionaci může způsobovat také ICP v závislosti na rozdělení velikosti částic [35]. Největší částice, které mohou být odpařeny typickým ICP, se svým průměrem pohybují přibližně od 10 do 20  $\mu\text{m}$  [36]. Částice větší než 5  $\mu\text{m}$  jsou však zřídka doneseny až do ICP. I u menších částic však může docházet k neúplné atomizaci a ionizaci v ICP, což přispívá k frakcionaci některých prvků. V ICP může také docházet k matrix efektům. Byl studován vliv matričních prvků jako je Ca, Sr, Li, Na, K, Mg a Al na podmínky ICP [37, 38]. Matriční prvky s nižším druhým ionizačním potenciálem než je první ionizační potenciál Ar (Ca, Sr a Mg) vykazovaly matriční efekty. Nahrazení argonu heliem může znatelně zredukovat matriční efekty.

#### ***4. Parametry ovlivňující ablační děj***

Ablační děj ovlivňuje řada parametrů, které se týkají zejména vlastností laseru a analyzovaného vzorku, ale také celého ablačního systému. Mezi nejdůležitější patří vlnová délka laseru, energie a doba pulsu, frekvence a zaostření laseru, energetický profil laserového paprsku, druh nosného plynu, vlastnosti matrice a povrchu vzorku.

##### ***4.1. Vlnová délka laseru***

Jak již bylo zmíněno, vlnová délka laseru ovlivňuje průběh laserové ablace. Laserové záření v UV oblasti způsobuje přímou ablaci vzorku v důsledku malého stínění plazmatem. IČ záření je absorbováno mikroplazmatem vznikajícím nad povrchem vzorku, dochází k velkému stínění a k odpařování vzorku působením mikroplazmatu. Díky rozdílným dějům převládajícím při různých vlnových délkách je účinnost ablace UV zářením vyšší [39]. Záření s kratší vlnovou délkou může být také zaostřeno na menší plochu vzorku. Obecně řečeno, vlnová délka laserového záření ovlivňuje tvorbu aerosolu, zejména ve smyslu rozdělení velikosti částic a absorpce laserového paprsku. Pro stanovení průměrného složení práškových materiálů je volba vlnové délky laseru méně významná.

##### ***4.2. Energie pulzu***

Energie laserového pulsu je velmi důležitým parametrem, protože ovlivňuje hustotu výkonu laseru a tudíž množství ablatovaného materiálu, které odpovídá emisnímu signálu v ICP [40, 41]. Energie laserového pulsu je hlavním faktorem, kterým můžeme ovlivnit průběh laserové ablace a velikost kráteru. Hodnota energie pulsu je nastavována pomocí štěrbin, filtrů, nastavením napětí na výbojce nebo změnou zpoždění klíčování rezonátoru (Q-switch delay).

##### ***4.3. Šířka pulzu***

Šířka laserového pulsu je dána typem laseru a Q-modulátoru. Ovlivňuje tvorbu mikroplazmatu a v důsledku toho i geometrii kráteru a také množství tepla přeneseného na vzorek. Na době laserového pulsu závisí, zda při ablaci převládají termické nebo netermické procesy.

#### **4.4. Frekvence laseru**

Frekvence laserových pulsů (repetition rate) udává míru ablace materiálu za určité energie laserového pulsu a časovou jednotku, poměr intenzity signálu ku pozadí a čas potřebný pro vytvoření kráteru určité velikosti. Vliv má také na stabilitu signálu v průběhu ablace. Při použití vyšší frekvence (100 Hz) pro nižší energie laserového pulsu (50 mJ) bylo pozorováno vylepšení přesnosti a citlivosti ablační metody [42]. Mezi frekvencí laseru a intenzitou emisního signálu ICP byla pozorována lineární závislost, se zvyšující se frekvencí rostla také intenzita signálu [43]. Nižší frekvence laseru jsou uplatňovány pro ablaci velmi tenkých a velmi koncentrovaných vzorků. Pro některé aplikace může být použit jediný puls laseru.

#### **4.5. Energetický profil laserového paprsku**

Dalším faktorem, který ovlivňuje množství „ablatovaného“ materiálu je energetický profil laserového paprsku. Pevnolátkové Nd:YAG lasery mají většinou Gaussovský profil paprsku, který může být zaostřen na velmi malou plošku vzorku. Tvar ablačního kráteru je v tomto případě kuželovitý [44]. Naproti tomu profily paprsku s plochou horní částí (flat-top), které jsou charakteristické pro excimerové lasery, mohou vytvářet krátery s rovnými stěnami [5, 32]. Tvar stěn kráteru ovlivňuje hloubkové rozlišení a s prohlubováním kráteru může vzrůstat frakcionace [44].

#### **4.6. Zaostření laserového paprsku**

Spolu s energií pulsu je zaostření laserového paprsku rozhodujícím faktorem pro uvolňování materiálu ze vzorku. Rozostření paprsku vede k ozáření větší plochy vzorku a tím k reprezentativnějšímu vzorkování, což je užitečné zejména pro stanovení průměrného složení nehomogenních vzorků. Laserový paprsek je zaostřen na malou plochu vzorku pomocí čočky nebo objektivu. Výběr optiky musí založen na podmínkách ablace a analytických požadavcích (vlnová délka a výkon laseru, velikost ozářené plochy vzorku atd.).

Minimální ozářená plocha po zaostření laserového paprsku je teoreticky dána vlnovou délkou záření, ohniskovou vzdáleností čočky a šířkou laserového paprsku [45]. Díky sférické vadě čočky však teoretická hodnota neodpovídá reálné. Výsledná ozářená plocha je větší také kvůli termickým efektům, protože mikroplazma ohřívá vzorek na větší ploše, než je šířka laserového paprsku.

Pro zaostření paprsku laserů pracujících v blízké IR oblasti spektra se používají skleněné čočky, záření UV laserů je nutné zaostřit materiálem propustným v UV oblasti, nejčastěji křemennou nebo fluoridovou čočkou.

#### **4.7. Transport ablatovaných částic**

Množství vzorku uvolněného laserovým paprskem neodpovídá množství dopraveného až do ICP. Ke ztrátám částic dochází redepozicí na ústí kráteru a usazováním na stěnách ablační cely a transportního potrubí. Při ablaci kovových kompaktních vzorků dochází ke vzniku částic o velikosti 0,1 – 10  $\mu\text{m}$ , ale transport je nejúčinnější pro částice o průměru menším než 2  $\mu\text{m}$  [46]. Snížením energie laseru nedochází ke změně rozdělení velikosti částic, ale redukcí jejich počtu.

Studován byl také vliv délky transportního potrubí na emisní signál. To, že dochází k usazování částic na stěnách potrubí, dokazuje snížení emisního signálu se zvětšující se délkou potrubí [47].

#### **4.8. Vliv nosného plynu na laserovou ablací**

Druh nosného plynu může značně ovlivnit průběh laserové ablace. Zvýšenou citlivost a účinnost transportu např. poskytovala metoda užívající směsi helia a argonu jako nosného plynu [6, 30, 48]. Studovány byly efekty pěti vzácných plynů (He, Ne, Ar, Kr a Xe) na ablační proces nanosekundových a pikosekundových laserů [49]. Při jejich obměňování docházelo ke změnám týkajících se účinnosti vzorkování a excitace v ICP. Vzhledem k Ar docházelo k vylepšení emisního signálu při použití He a Ne, ke zhoršení v případě Kr a Xe. Velikost efektu nosného plynu na laserovou ablací je přímo úměrný ionizačnímu potenciálu a nepřímo úměrný atomové hmotnosti plynu.

Množství ablatovaného materiálu je také závislé na tlaku nosného plynu [50]. Rozdíl v hmotnosti materiálu ablatovaného v Ar a He atmosféře se ukázal jako významný v rozmezí 15-100 kPa. Množství ablatovaného materiálu bylo mnohem menší v Ar atmosféře.

Druh nosného plynu ovlivňuje míru stínění laserového paprsku, tedy výkon paprsku dopadající na povrch vzorku. Stupeň stínění paprsku laseru závisí na ionizačním potenciálu částic plynu [4], to znamená, že plazma se může ochotněji tvořit ve snadno ionizovaných plynech. Přítomný plyn s vyšší atomovou hmotností může redukovat účinnost tvorby aerosolu díky srážkám částic plynu s laserovým mikroplazmatem. Pro He, Ne, Ar, Kr a Xe je první ionizační potenciál 25, 22, 16, 14 a 12 eV a atomové hmotnosti 4, 20, 40, 84 a 131 v uvedeném pořadí. U helia, které má nejvyšší ionizační potenciál a nejnižší atomovou hmotnost, se tudíž předpokládá mnohem menší stínění než u ostatních vzácných plynů.

#### **4.9. Vliv vlastností matrice a povrchu**

Interakce laserového paprsku a materiálu závisí na vlastnostech matrice vzorku, jako je tepelná vodivost nebo míra absorpce. Tyto parametry ovlivňují množství uvolněného materiálu, geometrii kráteru, velikost částic aerosolu. Experimenty ukazují, že množství ablatovaného materiálu se může v závislosti na druhu matrice měnit až o desítky procent [51].

Vlastnosti povrchu vzorku ovlivňují míru absorpce záření na počátku ablace. Před ustálením emisního signálu je obvykle pozorován pík na počátku ablace. Tento nárůst intenzity signálu není způsoben větší hustotou výkonu v počátku ablace a jeho mechanismu není přesně porozuměno, je však pravděpodobně způsoben vlastnostmi povrchu vzorku. Složení povrchu vzorku je odlišné od průměrného složení vzorku, a tak laserový paprsek reaguje v počátku ablace jiným způsobem [52]. Např. kovové vzorky jsou pokryty tenkou vrstvou oxidu. Protože tato vrstva méně odráží laserové záření než kov, je při několika prvních pulsech absorbováno více energie a uvolňováno větší množství materiálu. Stejný efekt byl také pozorován při smočení vzorku vodou nebo kyselinou [43].

Obecně platí, že počáteční nárůst intenzity signálu není zahrnován do dat sloužících pro vyhodnocení průměrného složení vzorku a označuje se jako „preablační čas“.

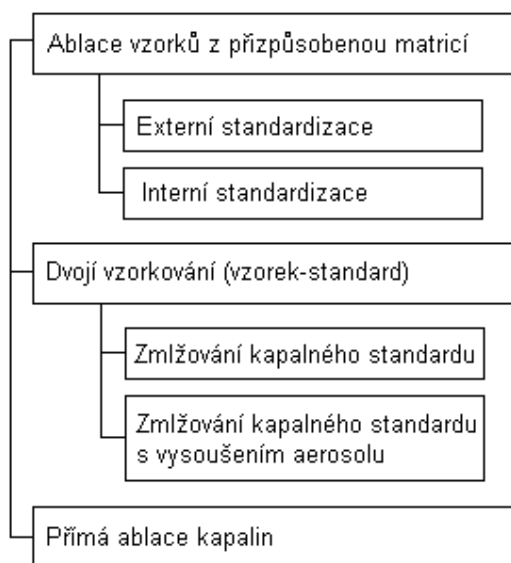
## 5. Kalibrační metody

Můžeme říci, že kvalitativní a kvantitativní analýza v LA-ICP-OES a LA-ICP-MS je rutinní záležitostí. Kvantitativní analýza vyžaduje přesný výběr kalibračního standardu pro konkrétní vzorek. Není vytvořena univerzální metoda pro kalibraci všech pevných materiálů. Kalibrační metody můžeme rozdělit do tří základních skupin (obr. č. 4).

### 5.1. Ablace pevných vzorků s přizpůsobenou maticí (*matrix-matched solid ablation*)

Externí kalibrace využívající „matrix matching“ je nejběžnější metodou pro LA-ICP-MS. Vhodná matrice je nutná, protože míra ablace (množství ablatovaného materiálu za sekundu) závisí na matričním prvku. Pro některé druhy pevných matic (sklo, keramika, cement, kovy) jsou komerčně dostupné certifikované referenční materiály. Ty ale nepokrývají všechny druhy vzorků. Mnoho laboratoří si připravuje vlastní „matrix-matched“ standardy, které se skládají s vhodné matrice a analytu. Techniky pro přípravu standardů zahrnují: přidavek komponent do práškové matrice, homogenizace a lisování s pojivem nebo bez pojiva [53, 54], přidavek standardního roztoku do práškové matrice, společné srážení prvků v matrici s roztokem prvku [55], sušení a lisování [2], tavení skla a výroba sintrovaných kompakťů [56]. Externí kalibrace s „matrix-matched“ standardy byla úspěšně využita pro kvantitativní analýzu [19, 53, 56-60]. Typem vzorků, pro které je externí kalibrace relativně jednoduchá, jsou kovy. Dostupné je velké množství standardů kovů se stejnými vlastnostmi jako má vzorek. Nicméně standard musí být vybrán tak, aby při ablaci nedocházelo k frakcionaci nebo aby byla frakcionace stejná jak u standardu, tak u vzorku [57, 61].

Je možno říci, že problémy zůstávají jak pro externí, tak pro interní kalibrační postupy. Složitost externí kalibrace je způsobená faktem, že získat standard obsahující stejnou matici jako vzorek je velmi těžké. Interní standardizace je limitována podmínkou přítomnosti jednoho prvku o známé koncentraci ve vzorku. Prvky používané jako porovnávací musí být rovnoměrně rozloženy ve vzorku a při ablaci se chovat stejně jako prvky analytu.



Obr. č. 4: Shéma rozdělení kalibračních metod LA.

### 5.2. *Dvojitý vzorkování (dual introduction)*

Tato metoda umožňuje kalibraci bez vzorkování standardů laserovou ablací. Do plazmatu jsou zavedeny dva kanály. Jeden pro ablatovaný materiál, druhý pro zmlžovaný roztok standardu [4, 62, 63]. Falk a kol. [62] použil roztoky s koncentrací Cu 250 mg/l se zvyšujícím se přídatkem analyzovaných prvků. Koncentrace 0, 0,5, 1 a 5 µg/l odpovídaly koncentracím v pevném vzorku 0, 2, 4 a 20 mg/kg. Výsledky analýzy byly mírně vyšší (s chybou do 7%), což bylo způsobeno frakcionací během laserové ablace. Odlišnou odezvu ICP pro zmlžované roztoky a laserovou ablací sledovali Mao a Russo [64].

Plazma vytvářené laserovou ablací je suché ve srovnání s vlhkým aerosolem generovaným zmlžováním roztoků, což způsobuje rozdílnou odezvu analytu u obou technik zavádění do plazmatu. K vyrovnání rozdílů odezvy způsobených odlišnými excitačními mechanismy obou aerosolů může dojít vysušením vlhkého aerosolu před vstupem do plazmatu [54, 65].

### 5.3. *Přímá ablace kapalin*

Tato kalibrační metoda je založena na přímé ablací kalibračních roztoků. Pro srovnání ablačního mechanismu pevných látek a kapalin byla měřena velikost částic vzniklého mikroplazmatu. Při ablací kapalin byla velikost částic větší než v případě ablace pevných látek a signál nasvědčoval kompletní ionizaci všech částic aerosolu [66]. Pro vylepšení absorpčních vlastností roztoku a tím dosažení většího stupně ablace může být do standardního roztoku přidán modifikátor, např. chromofor [67]. Modifikátor musí absorbovat vlnovou délku laseru, nesmí se srážet při kontaktu s analytem a neměl by být toxický. Hlavní výhodou této metody je získání standardu poskytujícího obnovitelný povrch čistého roztoku pro každý laserový puls.



## Literatura

- [1] D. Günther, S.E. Jackson and H.P. Longerich, *Spectrochim. Acta Part B* **54**, 381 (1999).
- [2] S.F. Durrant, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 1385 (1999).
- [3] J.D. Winefordner, I.B. Gornushkin, D. Pappas, O.I. Matveev and B.W. Smith, *J. Anal. At. Spectrom.* **15**, 1161 (2000).
- [4] T.E. Jeffries, N.J.G. Pearce, W.T. Perkins, A. Raith, *Anal. Comm.* **33**, 35 (1996).
- [5] R.E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S.S. Mao, *Talanta* **57**, 425 (2002).
- [6] X.R. Liu, Gary Horlick, *Spectrochim. Acta Part B* **50**, 537 (1995).
- [7] P.W.J.M. Boumans: Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy, Wiley, New York, 1987 R.
- [8] R.E. Russo, *Appl. Spectrosc.* **49**, 14A (1996).
- [9] S.S. Mao, X. Mao, R. Greif, R.E. Russo, *Appl. Phys. Lett.* **76**, 3370 (2000).
- [10] S.S. Mao, X. Mao, R. Greif, R.E. Russo, *Appl. Phys. Lett.* **77**, 2464 (2000).
- [11] J.W. Carr, Gary Horlick, *Spectrochim. Acta Part B* **37**, 1 (1982).
- [12] D. Günther, H. Cousin, B. Magyar and I. Leopold, *J. Anal. At. Spectrom.* **12**, 165 (1997).
- [13] V. R. Bellotto, N. Miekeley, *Fres. J. Anal. Chem.* **367**, 635 (2000).
- [14] P. Engst, M. Horák, Populární přednášky o fyzice 34 – Aplikace laserů, SNTL, Praha 1989.
- [15] D. Günther, I. Horn, B. Hattendorf, *Fres. J. Anal. Chem.* **368**, 4 (2000).
- [16] S.M. Eggins, L.P.J. Kinsley, J.M.G. Shelley, *Appl. Surf. Sci.* **127**, 278 (1998).
- [17] G.C.-Y. Chan, W.T. Chan, X. Mao, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **56**, 1375 (2001).
- [18] T. Ishizuka, Y. Uwamino: Inductively coupled plasma emission spectrometry of solid samples by laser ablation, *Spectrochim. Acta Part B* **38**, 519 (1983).
- [19] V. Margetic, A. Pakulev, A. Stockhaus, M. Bolshov, K. Niemax, R. Hergenroder, *Spectrochim. Acta Part B* **55**, 1771 (2000).
- [20] D. Günther, C.A. Heinrich, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 1369 (1999).
- [21] H. Liu, O.V. Borisov, X. Mao, S. Shuttleworth, R.E. Russo, *Appl. Spectrosc.* **54**, 1435 (2000).
- [22] D. Bleiner, A. Plotnikov, C. Vogt, K. Wetzig, D. Günther, *Fres. J. Anal. Chem.* **368**, 221 (2000).
- [23] S.H. Jeong, O.V. Borisov, J.H. Yoo, X.L. Mao, R.E. Russo, *Anal. Chem.* **71**, 5123 (1999).
- [24] J.H. Yoo, O.V. Borisov, X. Mao, R.E. Russo, *Anal. Chem.* **73**, 2288 (2001).
- [25] D.J. Figg, J.B. Cross, Ch. Brink, *Appl. Surf. Sci.* **127**, 287 (1998).
- [26] J.W. Olesik, S.E. Hobbs, *Anal. Chem.* **66**, 3371 (1994).
- [27] G.C.-Y. Chan, W.T. Chan, X. Mao, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **55**, 221 (2000).
- [28] C. Geersten, A. Briand, F. Chartier, J.L. Lacour, P. Mauchien, S. Sjostrom, J.M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.* **9**, 17 (1994).
- [29] M.A. Shannon, X.L. Mao, A. Fernandez, W.T. Chan, R.E. Russo, *Anal. Chem.* **67**, 4522 (1995).
- [30] Z.W. Hwang, Y.Y. Teng, K.P. Li, J. Sneddon, *Appl. Spectrosc.* **45**, 435 (1991).
- [31] H. Pang, D.R. Wiederin, R.S. Houk, E.D. Yeung, *Anal. Chem.* **63**, 390 (1991).
- [32] W.T. Chan, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **46**, 1471 (1991).
- [33] D. Günther, H. Longerich, H. Cousin, Short course on laser ablativ atomic and mass spectrometry, 1999 Winter conference on plasma spectrochemistry, Pau, France (1999).
- [34] M. Thompson, S. Chenery, L. Brett, *J. Anal. At. Spectrom.* **5**, 49 (1990).
- [35] O.V. Borisov, X.L. Mao, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **55**, 1693 (2000).
- [36] N. Furuta, *Applied Spectrosc.* **45**, 1372 (1991).
- [37] D. Günther, Ch.A. Heinrich, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 1363 (1999).

- [38] A.P.K. Leung, W.T. Chan, X.L. Mao, R.E. Russo, *Anal. Chem.* **70**, 4709 (1998).
- [39] V. Kanický, V. Otruba, J.M. Mermet, *Appl. Spectrosc.* **52**, 638 (1998).
- [40] M.D. Norman, W.L. Griffin, N. J. Pearson, M. O. Garcia, S.Y. O'reilly, *J. Anal. At. Spectrom.* **13**, 477 (1998).
- [41] Z. Chen, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 1823 (1999).
- [42] J. Nölte, F. Scheffler, S. Mann, M. Paul, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 597 (1999).
- [43] M. Gagean, J. M. Mermet, *Spectrochim. Acta Part B* **53**, 581 (1998).
- [44] C. Craig, K.E. Jarvis, L. Clarke, *J. Anal. At. Spectrom.* **15**, 1001 (2000).
- [45] H.F. Falk, B. Hattendorf, K. Krenzel-Rothensee, N. Wieberneit, S.L. Dannen, *Fres. J. Anal. Chem.* **362**, 468 (1998).
- [46] E. Cromwell, P. Arrowsmith, *Anal. Chem.* **67**, 131 (1995).
- [47] X.L. Mao, R.E. Russo, *J. Anal. At. Spectrom.* **12**, 177 (1997).
- [48] Y. Iida, *Spectrochim. Acta Part B* **45**, 1353 (1990).
- [49] M. Gagean, J.M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.* **12**, 189 (1997).
- [50] X.L. Mao, W.T. Chan, R.E. Russo, *Applied Spectrosc.* **51**, 1047 (1997).
- [51] J.J. Leach, L.A. Allen, D.B. Aeschliman, R.S. Houk, *Anal. Chem.* **71**, 440 (1999).
- [52] Günther, R. Frischknecht, H.J. Müschenborn, C.A. Heinrich, *Fres. J. Anal. Chem.* **359**, 390 (1997).
- [53] X.L. Mao, R.E. Russo, *Appl. Phys. A* **64**, 1 (1997).
- [54] H.C. Liu, X.L. Mao, J.H. Yoo, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **54**, 1607 (1999).
- [55] R.E. Russo, X. Mao, W.T. Chan, M. Caetano and M.A. Shannon, *Appl. Surf. Sci.* **96-98**, 126 (1996).
- [56] X.L. Mao, A.C. Ciocan, and R.E. Russo, *Appl. Spectrosc.* **52**, 913 (1998).
- [57] X.L. Mao, O.V. Borisov, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta Part B* **53**, 731 (1998).
- [58] T.E. Jeffries, S.E. Jackscon, H.P. Longerich, *J. Anal. At. Spectrom.* **13**, 935 (1998).
- [59] J.G. Williams, K.E. Jarvis, *J. Anal. At. Spectrom.* **8**, 25 (1993).
- [60] S. Chenery, A. Hunt, M. Thompson, *J. Anal. At. Spectrom.* **7**, 647 (1992).
- [61] P.M. Outridge, W. Doherty and D.C. Gregoire, *Spectrochim. Acta Part B* **51**, 1451 (1996).
- [62] P.M. Outridge, W. Doherty and D.C. Gregoire, *Part B* **52**, 2093 (1997).
- [63] M. Motelica-Heino, O.F.X. Donard, J.M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 675 (1999).
- [64] S.A. Baker, M. Bi, R.Q. Aucelio, B.W. Smith, J.D. Winefordner, *J. Anal. At. Spectrom.* **14**, 19 (1999).
- [65] O.V. Borisov, X.L. Mao, A. Fernandez, M. Caetano, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta B*, **54**, 1351 (1999).
- [66] D. Figg, M.S. Kahr, *Appl. Spectrosc.* **51**, 1185 (1997).
- [67] D. Günther, R. Frischknecht, C.A. Heinrich, H.J. Kahlert, *J. Anal. At. Spectrom.* **12**, 939 (1997).

## Laser-induced breakdown spectroscopy

*T. Vaculovič a K. Novotný, Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno.*

### Úvod

V poslední době se do popředí zájmu dostávají metody umožňující rychlou analýzu pevných vzorků, povrchové mapování i stanovení hloubkového profilu různých materiálů. Mezi takovéto metody se řadí i metody založené na laserové ablaci (LA) - spektrometrie laserem buzeného plazmatu (LIBS – Laser induced breakdown spectroscopy) a laserová ablace spojená se spektrometrií indukčně vázaného plazmatu (LA-ICP-OES/MS). Přestože obě jsou založeny na stejném principu vzorkování, každá z nich využívá jiné procesy, ke kterým při laserové ablaci dohází; zatímco při LA-ICP-MS/OES je pro analýzu využíván generovaný aerosol, v případě metody LIBS je předmětem zájmu záření emitované laserem buzeným mikroplazmatem.

### Historie

Tři roky po představení prvního pulzního laseru (Maiman 1960) se objevuje první analytické použití laseru pro spektrochemickou analýzu (Debras-Guedon 1963). V průběhu 60. let se objevují první zařízení založené na optickém sledování mikroplazmatu od firem Zeiss (Německo-NDR) a Jarrell-Ash (USA) (Moenke 1973). Začátkem 70. let se objevují první publikace využívající klíčované lasery pro spektrální analýzu (Scott 1970; Felske 1972). Kromě aplikací ve spektrochemické analýze bylo laserem indukované mikroplazma (LIP) nejčastěji využíváno fyziky pro základní studium procesů vyhasínání excitovaných metastabilních stavů v plynech (Ursu 1980; Beland 1971; Santiago 1975; Yasojima 1973). Začátkem 80. let se znovu objevují spektrochemické aplikace LIBS kvůli jedinečným vlastnostem této metody, např. detekce nebezpečných plynů a par v ovzduší (Radziemski 1981; Cremers 1983). V 90. letech se aplikace LIBS zabývají praktickými problémy jako monitorování environmentálních kontaminací, jako jsou například analýza soli v mořské vodě (Poulain 1995), analýza koloidů těžkých kovů (Haisch 1997). Od druhé poloviny 90. let dochází k prudkému rozvoji této techniky, především z důvodu zvyšující se dostupnosti vhodné instrumentace. I když dostupné komerční přístroje se dostávají na trh až v posledních letech a metoda se začíná stávat rutinní technikou v mnoha oborech teprve nyní, za počátek masovějšího rozvoje spektrometrie laserem buzeného plazmatu lze považovat první LIBS konferenci roku 2000 v italské Pise. Specifické vlastnosti, ke kterým patří rychlost, snadná automatizovatelnost, možnost konstrukce přenosných zařízení, možnost měření na dálku a v nepřístupných místech, předurčily také směr vývoje v posledních letech. Metody LIBS je využívána při on-line sledování různých výrobních procesů (monitorování uhlíku v ocelích (Aguilera 1992) i v roztavených ocelích (Aragon 1993), analýza hliníkových slitin (Anderson 1995). Neustále dochází také k vývoji instrumentace, zdokonalování laserů, detektorů i spektrometrů (např. zavedení echelle spektrometru ve spojení se CCD kamerou (Vadillo

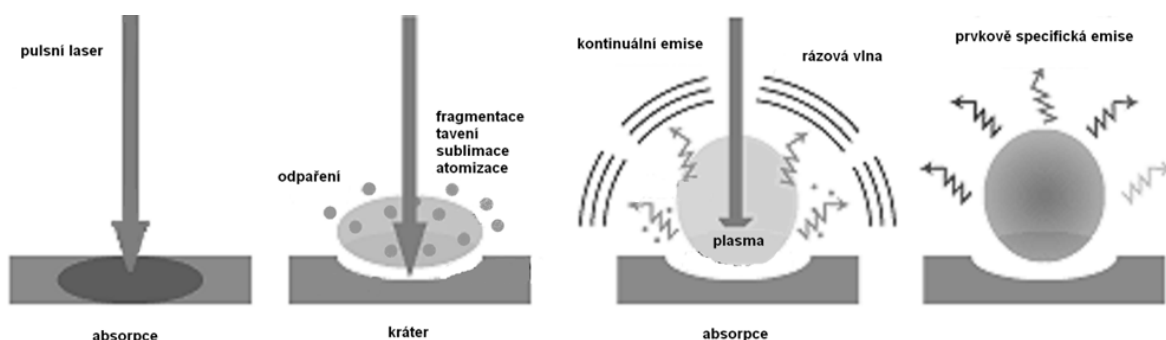
1996). Značným posunem byl vývoj dvoupulzní techniky (double pulse), s využitím dvou laserů jejichž pulzy jsou emitovány v krátkém časovém sledu za sebou. Toto uspořádání vede ke snížení detekčních limitů až o dva řády, do značné míry eliminuje spojité pozadí a je dnes využíváno i v řadě komerčních přístrojů.

### Princip LIBS

LIBS (Laser Induced Breakdown Spectrometry) dříve označována také jako LIPS (Laser Induced Plasma Spectrometry) je formou atomové emisní spektroskopie využívající vysoce energetický laserový pulz jako budící zdroj. Metoda je založena na sledování emise záření mikroplazmatu, které vzniká při laserové ablací. Velkou výhodou této metody je, že analýza může být prováděna bez přímého kontaktu se vzorkem. Jedná se o kvalitativní, semi-kvantitativní nebo srovnávací analýzu, ale po provedení odpovídající kalibrace je možné tuto metodu použít také pro kvantitativní analýzu.

### Laserová ablace

Laserová ablace je pojmenování pro explozivní interakci laserového paprsku se zkoumaným materiálem. Tato interakce zahrnuje přenos zářivé energie laserového paprsku na vzorek s následným odpařením materiálu, odštěpením atomů, iontů, molekul a fragmentů molekul z povrchu vzorku. Toto je doprovázeno rázovou vlnou, vznikem a expanzí laserového mikroplazmatu. Tyto procesy jsou ovlivňovány hustotou zářivého výkonu laserového paprsku a tepelnými a optickými vlastnostmi zkoumaného materiálu. Při interakci laserového záření se vzorkem jsou uváděny dva mechanismy: termické (odpařování) a netermické (ablace) (Russo 1995). Při nižší hustotě zářivého výkonu laseru ( $<10^6$  W/cm<sup>2</sup>) a delším trvání pulzu (mikrosekundy a déle) převládají termické procesy. Netermické procesy jsou pozorovány při vyšších hustotách výkonu laseru ( $>10^9$  W/cm<sup>2</sup>) a kratší době trvání pulzu (nanosekundy a kratší).



Obr.1: Schéma interakce laserového záření s povrchem vzorku

## Laserem indukované plazma (LIP)

Plazma je soubor atomů, iontů a volných elektronů, který se navenek chová jako elektroneutrální a nabitě částice v něm se chovají kolektivně. Základním parametrem používaným k charakterizaci plazmatu je stupeň ionizace – slabě ionizované plazma je takové, ve kterém je poměr počtu elektronů ke všem částicím menší než 10 %.

## Spektrometrie laserem buzeného plazmatu

Metoda využívá jako zdroje excitace výhradně pulzních laserů. Mezi nejčastěji využívané lasery patří pevnolátkové, plynové nebo excimerové. Vysoce energetický laserový pulz je pomocí čočky zaostřen na malou plochu vzorku. Průměr svazku v ohnisku se podřizuje vlastnostem laserového paprsku, vzorku a nárokům na prostorové rozlišení měření. Energie laserového pulzu zaostřená na malou plochu způsobí absorpci fotonů atomy analyzovaného vzorku. Analyzovaný vzorek je prudce ohříván a po překročení skupenského tepla varu daného materiálu dojde k ablaci tenké vrstvy analyzovaného materiálu. Vzniklé páry opět pohlcují energii laseru, prudce expandují a dochází ke vzniku mikroplazmatu. Ve velmi krátkém časovém okamžiku se mikroplazma expanduje nadzvukovou rychlostí, dojde k ochlazení a emisi záření. Toto záření nese informaci o kvantitativním a kvalitativním složení vzorku. K odpaření a excitaci vzorku dochází v jednom kroku. Excitované atomy a ionty emitují charakteristické záření, které je pomocí zaostřovacích čoček nebo vláknové optiky vedeno na spektrometr. Pomocí spektrální analýzy emise se určí prvkové složení ablatovaného materiálu.

Zařízení pro spektrometrii laserem buzeného plazmatu se skládá z laseru, optického systému, posuvu vzorku, spektrometru a detektoru. Nejpoužívanějším laserem je Nd:YAG se základní vlnovou délkou v infračervené části spektra (1064 nm). Tento laser generuje paprsek o délce 5–10 ns. Uplatnění v LIBS analýze mají také femtosekundové lasery, které generují kratší impulzy o délce desítek až stovek fs. Krátké pulzy jsou výhodnější pro stanovení hloubkového profilu a analýzy s vysokým prostorovým rozlišením (menší protavení vzorku do hloubky a kolem kráterů).

Analyzovaný vzorek může být umístěn uvnitř ablační komory, kde lze nastavit různé podmínky (tlak, složení okolního plynu) a sledovat jejich vliv na kvalitu měření. Nejčastěji je měření prováděno na vzduchu za atmosférického tlaku. Dalšími plyny, které jsou využívány pro své příznivé vlastnosti, jsou helium nebo argon. Uvnitř ablační komory jsou umístěny zařízení pro posun vzorku (posuvné platformy), posun může být prováděn také celou komorou a to v osách x, y a z. Povrch vzorku je možné sledovat pomocí CCD kamery. Účelem ablační komory je zlepšení signálu (snížení interferencí) a zlepšení hloubkových profilů.

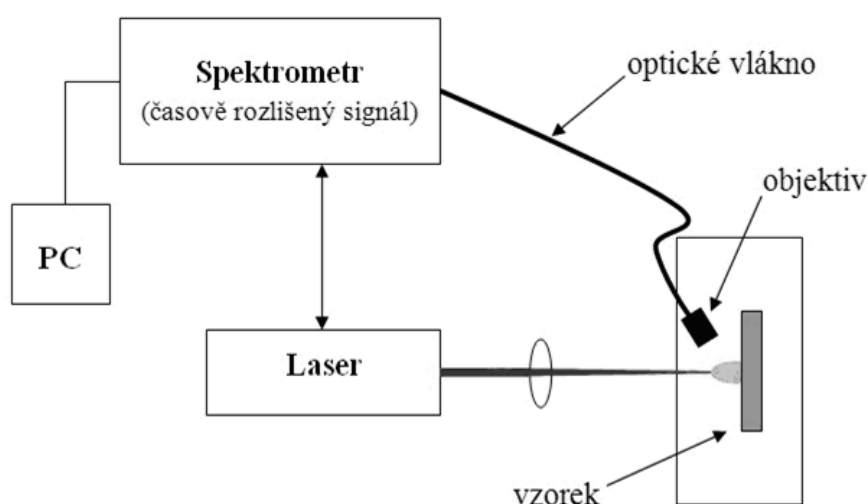
Důležitou součástí LIBS systému je optický systém, který zajišťuje přesné zaměření laserového paprsku na vzorek pomocí zrcátek a čoček. Všechna použitá optika (hranoly, zrcátka, čočky, optika pro tvarování paprsku, okénka a optická vlákna) musí být vysoce odolná vůči ablaci s malou ztrátovou odrazivostí.

Emitovaného záření je rozkládáno podle vlnové délky s využitím různých typů spektrometrů. Spektrometry lze rozdělit na sekvenční (jednokanálové) a simultánní, jednokanálové spektrometry jsou využívány spíše výjimečně. Simultánní měření více spektrálních čar na polychromátorech s fotonásobiči má sice nevýhodu v pevném nastavení vlnových délek, avšak rychlost fotonásobičů umožňuje použití s lasery pracujícími s vysokou frekvencí pulzů (až kHz). Nejvyužívanějšími jsou monochromátory s optickým uspořádáním Czerny-Turner, které jsou vybaveny ICCD detektorem. Rozsah spektrometrů je obvykle v rozmezí od 170 nm (UV oblast) až po 1100 nm (blízká IR oblast). Jednotlivé monochromátory se od sebe liší šířkou spektrálního okna, citlivostí, rozlišením a cenou. Monochromátory typu echelle jsou využívány taktéž ve spojení s ICCD detektory a jejich hlavní výhodou je simultánní záznam spektra v širokém rozsahu vlnových délek.

### Typy uspořádání

Podle účelu pro který se LIBS využívá, existují různé druhy uspořádání jednotlivých komponent. Hlavní rozdíl mezi jednotlivými typy uspořádání je v použití různých metod přenosu laserového paprsku ke vzorku a také přenosu emitovaného záření mikroplazmatu do spektrometru. V laboratorních podmínkách (např. na optickém stole), je často využíváno k vedení paprsku laseru i zachycení záření z mikroplazmatu optické soustavy zrcátek a čoček. V zájmu zjednodušení lze použít např. zrcadla s otvorem, jež propustí laserový paprsek přicházející z laseru na vzorek, ale odrazí záření mikroplazmatu. Toto uspořádání patří k nejjednodušším, co se týká použité optiky.

Pro různá mobilní zařízení využívající metody LIBS je výhodné uspořádání s optickými kabely. Celá soustava může být zjednodušena použitím jednoho optického vlákna jak pro vedení laserového paprsku, tak pro vedení záření z mikroplazmatu. Tento kabel je připojen na adaptér, jenž je připojen současně k laseru i spektrometru. V případech využití tohoto uspořádání pro mobilní zařízení také většinou dochází ke „spojení“ laseru a spektrometru v jednu soustavu, aby bylo dosaženo co nejkompaktnějšího uspořádání. Na konci kabelu je



sonda, která umožňuje definované přiložení k povrchu vzorku, může být proplachována vzácným plynem (např. v zařízeních určených pro měření pod vodou).

Obr. 2: Schéma uspořádání techniky LIBS s optickým vláknem

Pro zařízení k dálkové detekci je využíváno různých teleobjektivů uspořádaných buď v ose laserového paprsku a nebo mimo osu. U těchto zařízení, s dosahem řádově desítek metrů lze kombinovat zaostření laseru pomocí čoček a snímání záření pomocí parabolického zrcadla. Systémy bývají nejčastěji využívány k detekci nebezpečných látek, tavenin, nebo v nebezpečných prostředích.

#### *Double pulse technika*

Double pulse technika (dále jen DP) je speciální případ techniky LIBS, která značně rozšiřuje její možnosti použití. U některých materiálů a prvků může být za určitých podmínek obtížné pomocí LIBS najít vhodné spektrální čáry s dostatečnou citlivostí. Nejčastějším problémem bývá silné rušení pozadím, které znemožňuje stanovení s dostatečnou přesností. DP technika značně zvyšuje citlivost a snižuje detekční limity až o dva řády, což většinou bývá dostatečné i pro špatně stanovitelné prvky. Zároveň však zůstávají zachovány všechny výhody LIBS.

DP režim se od základního uspořádání LIBS liší použitím dvou laserů. Oba tyto lasery jsou použity pro excitaci, důležité je však geometrické uspořádání, pořadí, typ laserů, časování celé soustavy a další podmínky měření. První laser (někdy nazývaný jako preablační), tvoří primární mikroplasma. Tato část měření se neliší od základní LIBS, platí zde stejné principy a lišit se může pouze použitím různých druhů laserů. Do vzniklého mikroplasmatu je s malým zpožděním zaveden paprsek druhého laseru (tzv. re-excitační), který způsobí další ohřátí mikroplasmatu. Reexcitace zapříčiní, že mikroplasma expanduje rychleji, do většího prostoru, s větší energií a později při svém chladnutí emituje více elektromagnetického záření. To je z hlediska získání informací o zkoumaném vzorku výhodnější, protože do spektrometru dopadne více záření. Celé měření se tak stane přesnější, detekční limity nižší a celkově stoupne citlivost.

Pro DP existují tři základní druhy geometrického upořádání jednotlivých laserových paprsků. Rozdílné druhy uspořádání mají velký vliv na zvýšení signálu, které se vyjadřuje jako násobek oproti signálu při základní metodě LIBS. Zvýšení signálu však nebývá pro všechny prvky (spektrální čáry) stejné a liší se při různých podmínkách. Proto různé prvky vykazují v různých uspořádáních rozdílné vlastnosti signálu.

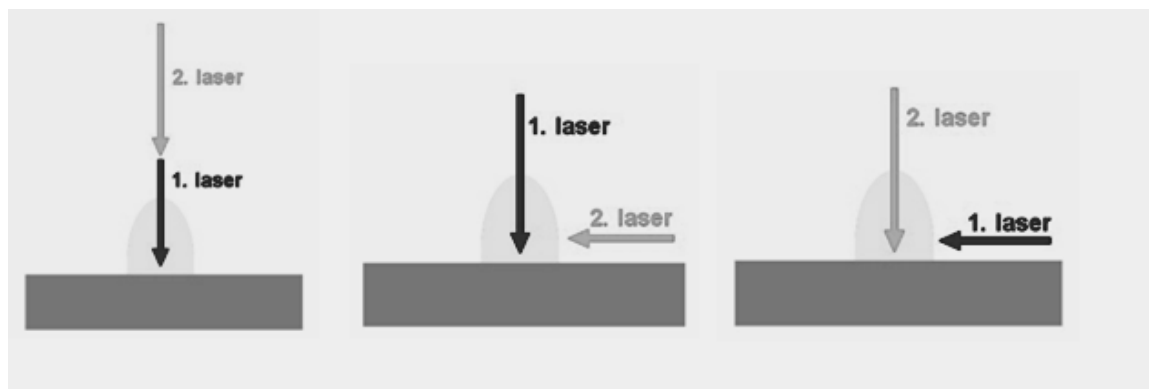
Tyto uspořádání jsou:

1. Kolineární (collinear): Při tomto uspořádání dopadají paprsky obou laserů kolmo na vzorek. Oba paprsky tedy dopadají s určitým zpožděním do stejného místa. Je to pravděpodobně nejjednodušší uspořádání, protože oba paprsky lze vést například mikroskopem. Při tomto uspořádání bývá zvýšení signálu menší než 100x .

2. Ortogonální (orthogonal): V ortogonálním uspořádání je ablační paprsek veden kolmo k vzorku, avšak re-excitační paprsek je zaměřen paralelně s povrchem vzorku. Reexcitační paprsek je zaměřen nad povrch vzorku do místa, kde se předpokládá vznik mikroplasmatu po prvním pulzu. Tato vzdálenost bývá typicky 0,5 mm až 2 mm nad povrchem vzorku. Dosažené zvýšení signálu bývá v rozmezí jednoho až dvou řádů.

3. S použitím pre-ablační jiskry (pre-ablation spark): V tomto uspořádání první laserový paprsek vytvoří ve vzduchu nad povrchem vzorku mikroplazma. Druhý laser pak do něj ablatuje vzorek a odpařený materiál se rozpíná do míst, kde se nachází mikroplazma vytvořené prvním laserem. V tomto uspořádání bývá zvýšení signálu největší a může být více než o dva řády.

Pro dosažení co nejlepších výsledků a největšího signálu je také nutné naprosto přesné zaostření obou laserových pulzů.



Obr. 3: Schéma uspořádání paprsků laserů při DP-LIBS: a) kolineární; b) ortogonální; c) pre-ablační jiskra

Pro dosažení co nejvyššího signálu je pro DP techniku důležité správné načasování pulzů obou laserů. Druhý pulz nejčastěji reexcituje mikroplazma, vzniklé po prvním pulzu se zpožděním v řádu stovek ns až jednotek mikrosekund. Při menší prodlevě je pozadí příliš výrazné, naopak při prodlevě větší než desítky mikrosekund signál slábne a zlepšení v podobě DP postrádá smysl.

Při navrhování časových schémat pro DP je zapotřebí vzít v potaz časování jednotlivých součástí systému. Pro řízení systémů pro DP se používají delay generátory, které dokáží s velkou přesností časovat jednotlivé součásti systému. Pro DP je zvláště důležité naprosto přesné načasování a také možnost jednoduše měnit časování komponent, pro zjištění co nejlepších konfigurací, zpoždění apod. Při časování pulzů je nutno znát podstatu řízení každé komponenty. Např. lasery se mohou lišit způsobem regulace výkonu u detektorů je pak potřeba optimalizovat zpoždění oproti laserům a délku časového okna. Toto vše pak může komplikovat i způsob optimalizace časování, zvláště s ohledem na to, že pro každý prvek a každou emisní čáru se mohou tyto optimální podmínky lišit.

## Aplikace

### Identifikace

Metoda LIBS jde úspěšně využít pro identifikaci různých druhů materiálů a jejich následné třídění do skupin (Aydin 2004; Cravetchi 2003; Goode 2000). Při identifikaci jsou zaznamenávána spektra materiálů a ta jsou poté porovnávána se spektry z knihovny spekter. S výhodou lze využít skutečnosti, že metoda LIBS je velmi málo destruktivní i při identifikaci a analýze předmětů kulturního dědictví. Např., u olejové malby z 18. století se podařilo odlišit



původní část obrazu od části, která byla restaurována v pozdější době. Zároveň se podařilo přesně určit i stáří této malby (Anglos 1997). Se speciálním vybavením lze provádět i identifikace historických předmětů pod hladinou moře (Lazic 2005).

#### *Hloubkové profilování*

Při laserové abalci dochází k odstraňování jednotlivých vrstev vzorku postupně, čehož lze využít při hloubkovém profilování (Novotný 2007). Výhodou je, že použití metody není omezeno pouze na vodivé vzorky, ale hloubkové profilování lze provádět i u nevodivých materiálů (Kozukh 2006, Rusak 2008).

#### *Povrchové mapování*

V poslední době se objevují aplikace metody LIBS pro povrchové mapování. Využívá se skutečnosti, že laserový paprsek lze zaostřit na malou plochu (stovky  $\mu\text{m}$ ), což je dostatečné plošné rozlišení například pro mapování povrchů. Studovanými materiály byly například biologické vzorky (Galiová 2008; Kaiser 2009), slitin a ocelí (Cravetchi 2004; Boue-Bigne F 2008).

#### Literatura

- Aguilera JA, Aragon C., Campos J., Determination of carbon content in steel using laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, **46**, 1382 (1992)
- Anderson D.R., McLeod C.W., English T., Smith A.T., Depth profile studies using Laser-induced plasma emission-spectrometry, *Appl. Spectrosc.*, **49**, 691 (1995)
- Anglos D, Couris S, Fotakis C, Laser diagnostics of painted artworks: Laser-induced breakdown spectroscopy in pigment identification, *Appl. Spectrosc.*, **51**, 1025 (1997)
- Aragon C., Aguilera J.A., Campos J., Determination of carbon content in molten steel using laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, **47**, 606 (1993)
- Aydin U, Makowe J, Noll R, Fast identification of light metal alloys by laser-induced breakdown spectroscopy for material recycling - Development of a demonstrator for automatic sorting of aluminium scrap, *Photonics in measurements*, **1844**, 401 (2004)
- Belland P., De Michelis C., Mattioli M., Self-focusing in laser induced gas breakdown, *Opt. Commun.*, **4**, 50 (1971)
- Boue-Bigne F, Laser-induced breakdown spectroscopy applications in the steel industry: Rapid analysis of segregation and decarburization, *Spectrochim. Acta B*, **63**, 1122 (2008)
- Cravetchi IV, Taschuk M, Tsui YY, Fedosejevs R, Scanning microanalysis of Al alloys by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, **59**, 1439 (2004)
- Cravetchi IV, Taschuk M, Rieger GW, Tsui YY, Fedosejevs R, Spectrochemical microanalysis of aluminum alloys by laser-induced breakdown spectroscopy: identification of precipitates, *Appl. Optics*, **42**, 6138 (2003)
- Cremers D.A., Radziemski L.J., Detection of chlorine and fluorine in air by laser-induced breakdown spectrometry, *Anal. Chem.*, **55**, 1252 (1983)
- Debras-Guedon J., Liodec N., *C.R. Acad. Sci.*, **257**, 3336 (1963)

- Felske A., Hagenah W.D., Laqua K., Uber einige Erfahrungen bei der Makrospektralanalyse mit Laserlichtquellen: I. Durchschnittsanalyse metallischer Proben, *Spectrochim. Acta B*, **27**, 1 (1972)
- Galiova M, Kaiser J, Novotny K, Novotny J, Vaculovic T, Liska M, Malina R, Stejskal K, Adam V, Kizek R, Investigation of heavy-metal accumulation in selected plant samples using laser induced breakdown spectroscopy and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Appl. Physics A*, **93**, 917 (2008)
- Goode SR, Morgan SL, Hoskins R, Oxsher A, Identifying alloys by laser-induced breakdown spectroscopy with a time-resolved high resolution echelle spectrometer, *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**, 1133 (2000)
- Haisch C., Liermann J., Panne U., Niessner R., Characterization of colloidal particles by laser-induced plasma spectroscopy (LIPS), *Anal. Chim. Acta* **346**, 23 (1997)
- Kaiser J, Galiova M, Novotny K, Cervenka R, Reale L, Novotny J, Liska M, Samek O, Kanicky V, Hrdlicka A, Stejskal K, Adam V, Kizek R, Mapping of lead, magnesium and copper accumulation in plant tissues by laser-induced breakdown spectroscopy and laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta B*, **64**, 67 (2009)
- Kozhukh NM, Klyachkovskaya EV, Rozantsev VA, Ershov-Pavlov EA, Gaponenko SV, Layer-by-layer laser spectral microanalysis of art painting - art. no. 61610E, International Conference on Lasers, Applications, and Technologies 2005: Laser-Assisted Micro- and Nanotechnologies (2006)
- Lazic V, Colao F, Fantoni R, Spizzicchio V, Recognition of archeological materials underwater by laser induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, **60**, 1014 (2005)
- Maiman T.H., Optical and microwave - optical experiments in ruby, *Phys. Rev. Lett.* **4**, 564 (1960)
- Moenke H., Moenke-Blankenburg L., Laser Micro-Spectrochemical Analysis, *Crane, Russak & Co*, New York, 1973
- Novotny K, Vaculovic T, Galiova M, Otruba V, Kanicky V, Kaiser J, Liska M, Samek O, Malina R, Palenikova K, The use of zinc and iron emission lines in the depth profile analysis of zinc-coated steel, *Appl. Surf. Sci.*, **253**, 3834 (2007)
- Poulain D.E., Alexander D.R., Influences on concentration measurements of liquid aerosols by laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Spectrosc.*, **49**, 569 (1995)
- Radziemski L.J., Loree T.R., Laser-induced breakdown spectroscopy: time-resolved applications, *Plasma Chem. Plasma Process.*, **1**, 281 (1981)
- Rusak DA, Weaver KD, Taroli BL, Laser-induced breakdown Spectroscopy for analysis of chemically etched polytetrafluoroethylene, *Appl. Spectrosc.*, **62**, 773 (2008)
- Russo R.E., Laser ablation, *Appl. Spectrosc.*, **49**, 14A (1995)
- Santiago J., Robinson A.M., Optical breakdown in a CO<sub>2</sub> spark afterglow, *Phys. Lett.*, **51**, 229 (1975)
- Scott R.H., Strasheim A., Laser-induced plasmas for analytical spectroscopy, *Spectrochim. Acta B*, **25**, 311 (1970)
- Ursu I, Apostol I., Dinescu M., Mihailescu I.N., Moldovan M., Prokhorov A.M., Ageev V.P., Konov V.I., Silenok A.V., Chapliev M.I., Plasma-target coupling in the case of TEA-CO<sub>2</sub> laser produced breakdown in front of a solid target, *Opt. Commun.*, **35**, 96 (1980)

- Vadillo J.M., Milan M., Laserna J.J., Space and time-resolved laser-induced breakdown spectroscopy using charge-coupled device detection, *Fresenius J Anal. Chem.*, **355**, 10 (1996)
- Yasojima Y., Inuishi Y., Threshold minima in the superhigh-pressure gas breakdown by Q-switched lasers, *Phys. Lett.*, **44**, 393 (1973)

## LIBS v analýze archeologických materiálů

*Aleš Hrdlička, Ústav chemie, Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Kotlářská 2, 611 37 Brno, e-mail: [ahrdlicka@chemi.muni.cz](mailto:ahrdlicka@chemi.muni.cz).*

V posledních letech se začíná prosazovat trend přímé spektrochemické analýzy i u typických laboratorních vzorků, jakými jsou předměty kulturního dědictví z archeologických vykopávek. Zkoumá se použití metody LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy) jako možné plnohodnotné náhrady za stávající velmi dobře zavedené techniky laserové ablace s indukčně vázaným plazmatem (ICP) a optickou emisní (OES) nebo častěji hmotnostně spektrometrickou (MS) detekcí. LIBS samozřejmě není v principu schopna podat o zkoumaném předmětu tolik informací jako ICP-MS. Prvky obsažené ve stopovém množství nejsou stanovitelné. Meze detekce bývají jednotky až stovky  $\text{mg kg}^{-1}$ , existují i výjimky přesahující tyto meze. Nedostupné je zejména izotopové složení, které může být dobrým vodítkem nejen pro datování nálezu, ale i původní lokalizaci nebo původ surovin. Z pozůstatků živých organismů lze též vyvozovat závěry o jejich výživě, migraci a postmortálních změnách. To platí hlavně pro skeletální pozůstatky, jako jsou kosti, zuby nebo i vlasy. Na druhou stranu je izotopová analýza dosti nákladná z důvodu relativně vysoké ceny přístrojů, které jako hmotnostního separátoru používají elektrostatický a magnetický sektor s multikolektorem. Toto zařízení rozhodně není v analytických laboratořích běžné a z pohledu jižní Moravy se takové nachází nejbližší ve Vídni.

Dalšími archeologickými materiály pak mohou být prakticky jakékoliv nálezy ve vykopávkách neživého původu: keramika, kovy, stavebniny, sklo, dále též textilie, dřevo, kůže v různém stupni zpracování. Nejde jen o chemické složení nálezů, ale na základě naměřených spekter je možné určit také provenienci, způsob výroby a stáří vzorku. LIBS se jeví jako dostatečně rozvinutá metodika, která je založena na vzorkování laserovou ablací, a tudíž není vázána na vodivost vzorku jako např. doutnavý výboj (GDS), jiskrová/oblouková spektrometrie nebo elektronová mikrosonda (EPXMA). Na výše uvedené vzorky je bez větších obtíží použitelná s ohledem na interakci dostupné vlnové délky laseru s daným vzorkem. Hmota, která je pulzem laserového paprsku ze vzorku vyražena, se však nikam nepřemísťuje na rozdíl od LA-ICP-OES/MS. Vznikne ablační kráter a nad ním řádově v milimetrové vzdálenosti se vytvoří průrazem okolní atmosféry i prudkým zahřátím hmoty vzorku mikroplazma, které dále zahřívá, vypařuje, atomizuje a excituje částice aerosolu vzorku. Atomy nebo ionty vyzařují při konverzi do nižšího nebo základního stavu spektrální čáry charakteristické pro přítomné prvky. Toto záření se snímá a přivádí do spektrografu. Po odeznění pulzu vychládá mikroplazma v řádu mikrosekund a jeho charakter se tedy s časem rychle mění. To klade zvýšené nároky na časovou synchronizaci mezi okamžikem pulzu laseru a okamžikem začátku měření spektrografu. Výběr vhodného okamžiku se provádí zejména s ohledem na nejlepší poměr signálu ku pozadí. Vlastnosti vybuzeného mikroplazmatu závisejí mj. na osnově ablatovaného vzorku. Proto je velmi obtížné dát nějaké obecné doporučení. Navíc každá emisní čára má svůj časový průběh a ani vlnová délka laseru nemusí být pro danou matici optimální. Každý vzorek je svým způsobem originál. Výsledkem je nastavení kompromisních podmínek, které se snažíme udržet neměnné po celou

dobu měření. Dále je třeba počítat s tím, že žádné dva po sobě jdoucí pulzy laseru nemají stejnou energii. Mohou se lišit o jednotky procent, ale výjimkou není ani více než 10 %. Tomu odpovídá i kolísání intenzit čar, které je možné pozorovat během experimentu na obrazovce počítače. Jelikož tyto změny činí i 50 %, používá se metoda sčítání signálu z více pulzů, obvykle nejméně 4, nejvíce asi 100 z jednoho místa ablace.

Tak jako i u jiných metod s laserovou ablací požadujeme kalibrační standardy co nejlépe přizpůsobené osnově vzorku. Nedostatek vhodných referenčních materiálů je všeobecně známý. Pro kosti a zuby (1, 2) se používá např. prášek NIST 1486 („bone meal“), který svým složením napodobuje kost a jeho matrice vychází z hydroxyapatitu. Z něj se lisují tablety a emisní signál při jejich ablací za shodných podmínek jako u vzorku se porovnává se signálem vzorku. Pro skla a některé minerály lze použít standardy řady NIST 600 (např. 610, 612). Praxe ukazuje, že tento postup sám o sobě není vždy dostačující. Obvykle musí být signály korigovány užitím vnitřního srovnávacího prvku a také na ablační rychlost, neboť množství ablatovaného materiálu jedním pulzem se u vzorku a standardu zpravidla neshodují. Chceme-li tento fakt eliminovat, musíme použít profilometr na proměření hloubek kráterů, a to nejlépe bezkontaktní, který neryje hrotem do stěn a dna kráterů. To může podstatně zkreslit měření. Hloubky jsou pak zdánlivě větší a profil kráteru na řezu nesouměrný díky vyrývání valu na čelní straně stopy hrotu – podle tvrdosti materiálu vůči hrotu. S výhodou se používají optické profilometry, které pracují na základě využití barevné vady čoček (3). Vedeme-li přes spojnou čočku na povrch bílé světlo, rozloží se jako v lámavém hranolu na duhu tak, že modrá barva má ohnisko nejbližší čočky a červená nejdále od čočky. Podle toho, jaká barva se od daného místa povrchu nejvíce odrazí, usuzujeme na hloubku odrazu. Odražené světlo se analyzuje spektrografem a rozsah měření hloubky je až 300  $\mu\text{m}$  s nejmenším krokem 50 nm. Zkreslení nastává vlivem různé odrazivosti materiálu pro různé vlnové délky a svislými stěnami kráteru. Zde je určitý mezní úhel. Je-li stěna svislejší, světlo už se neodrazí do detektoru a v profilu vzniká prázdné místo. Pro zjištění hloubky to nevadí, avšak měření velmi členitého dna by mohlo činit potíže.

Navíc nastává situace, že pro několik čar platí přímá úměra mezi ablační rychlostí a emisním signálem, pro jiné však nikoliv. Je zřejmé, že tento problém nevyřeší ani vnitřní porovnávací prvek. Situaci komplikuje i fakt, že zejména kost ani zub nejsou homogenní, skládají se z několika strukturálně velmi odlišných částí, které interagují s dopadajícím paprskem laseru značně rozdílně. K tomu se přidává i fakt, že zub je zpravidla zalit do epoxidové pryskyřice, rozříznut, zabroušen a naleštěn. U kosti tomu tak být nemusí, ale jde-li o příčné řezy podlouhlých kostí, bývají také zality. Tak se stává, že ablatovaná hmota na povrchu je směsí zuboviny a pryskyřice, v některých místech je to jen pryskyřice. Ta jsou však snadno odhalitelná díky nápadnému poklesu emisí čar až téměř k nule. Pokud tedy není k dispozici žádná další korekční metoda, je LIBS pro některé prvky na určitých čarách metodou semikvantitativní. Konkrétní čáry a prvky, pro které toto platí, pak určuje osnova a struktura daného vzorku.

Z hlediska archeologických nálezů obvykle nejde o stopovou analýzu, a tudíž drobné odchylky od optimálních podmínek pro měření čar nejsou na závadu. Zdaleka také není vždy potřeba analyzovat vzorek kvantitativně. Postačí často jen relativní změny na vybraných čarách při prostorovém mapování vzorku. Ve vzorcích se měří jak čáry majoritních prvků

osnovy vzorku tak prvky minoritní, které se do této osnovy zabudovávají a jejichž množství závisí na výživě u kostí, zubů a vlasů a u všech vzorků pak na jejich provenienci.

Mezi maticové prvky kostí a zubů patří hlavně Ca, P, které jsou přítomny v procentuálním množství, a tudíž se u jejich čar mohou projevovat nežádoucí jevy, jako je např. samoabsorpce. Způsobuje zakřivení kalibračních závislostí směrem dolů u vyšších obsahů, což potom znemožňuje užití takové čáry pro vnitřní standardizaci. Ta je ale pro kvantitativní analýzu většinou nezbytná. Při ní se vyžaduje, aby vztažený prvek byl co nejrovnoměrněji ve vzorku rozmístěn a jeho čára měla stejné vlastnosti jako čára korigovaného prvku. U všech ostatních prvků, jejichž obsahy jsou asi  $150 \text{ mg kg}^{-1}$  a méně, tak můžeme dojít ke zkresleným výsledkům. Může též dojít k saturaci detektoru (CCD, ICCD). Tento jev vyžaduje pozornost operátora, jinak dojde ke znehodnocení kvantitativních výsledků. Může se objevit i u minoritních, ale stále hojně zastoupených prvků, např. Mg, Na na rezonančních čarách, i když jejich obsah bývá kolem  $400\text{-}500 \text{ mg kg}^{-1}$ . Předjít saturaci můžeme např. zkrácením integrační doby nebo jejím posuvu v čase dále od pulzu laseru nebo zmenšením energie pulzu laseru. Tím ovšem zase přicházíme o signál na čarách minoritních prvků. Takovými sledovanými prvky jsou u kosterních pozůstatků hlavně: Sr, Ba, Zn, Al, Cu, Cd, Pb. První dva vypovídají o výživě, zinek o růstových procesech, hliník o postmortální kontaminaci a ostatní (i prvky zde nejmenované) pak o kontaminaci stravy.

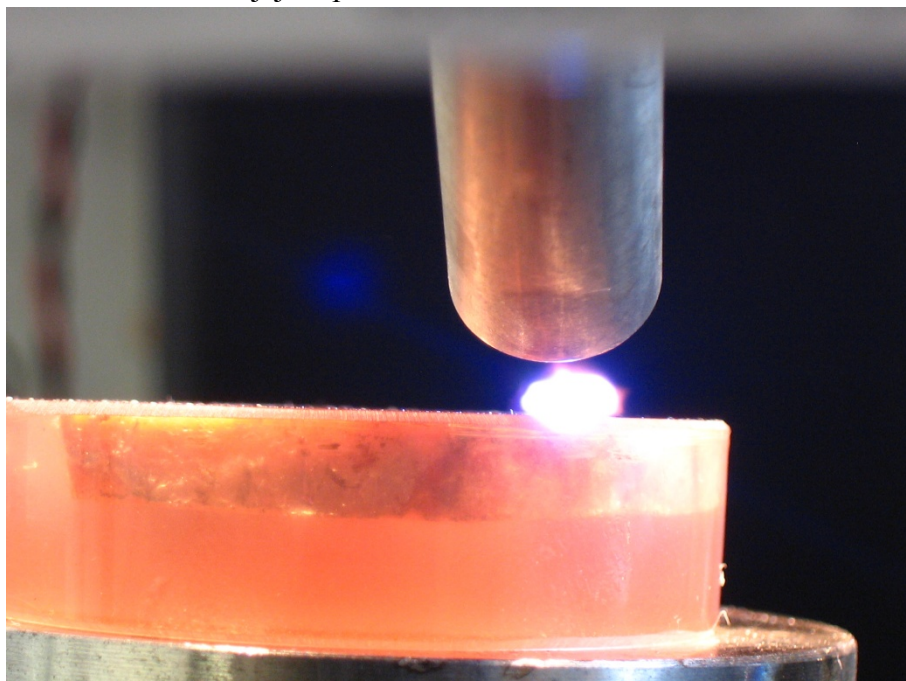
Maticové prvky u vzorků neživého původu závisejí na slitině nebo druhu keramiky či stavební hmoty. Často to bývá měď, dále vápník a hliník u keramiky.

#### *Prostorové rozlišení a metoda dvojího pulzu (double pulse – DP-LIBS)*

Prostorově rozlišená analýza je jedním z hlavních přínosů laserové ablace. Pro LIBS zde platí ve větší míře totéž co pro LA-ICP-MS/OES, avšak určité rozdíly existují. U hloubkového rozlišení se může projevit jev, kdy mikroplazma ablatuje stěny kráteru, což se projeví v topografii mikroplazmatu. Spektrum jeho vnější části odpovídá ablaci stěny. Snímáme-li mikroplazma vstupem optického kabelu byť z malého prostorového úhlu, pak výsledný záznam odpovídá směsi ablace stěn a dna kráteru. Tím dochází ke zhoršení hloubkového rozlišení. Poměrně jednoduchým mechanickým odstíněním okrajových částí mikroplazmatu je možné v určitých případech hloubkové rozlišení zlepšit (4). Tento jev je však stále spíše ve stadiu výzkumu a bude třeba ještě dalších výsledků k vyvození konečných závěrů. U archeologických nálezů se může týkat keramických vrstev, glazur a různých maleb. Hloubkové rozlišení činí zpravidla několik mikrometrů, i když ablační rychlost jsou desítky nm u kovů až po jednotky mikrometrů na pulz u některých keramických nebo kalcifikovaných vzorků. Nelze tedy tyto dva pojmy zaměňovat.

Laterální rozlišení je důležité u kalcifikovaných tkání, bočních nábrusů keramiky, kamenů a obecně pro povrchové mapování jakýchkoliv nálezů. Nábrusy kostí a zubů jsou typickými příklady povrchového mapování prvkového složení. Zde je třeba řešit problém zachování dostatečného množství ablatovaného materiálu a emise jeho částic v mikroplazmatu. U běžných kráterů při LIBS s průměry  $200 \mu\text{m}$  a více dosahuje mikroplazma dostatečné velikosti a zářivosti pro detekci maticových i minoritních prvků (desítky až stovky  $\text{mg kg}^{-1}$ ) ve vzorcích. Tyto velikosti kráterů jsou zhruba na horní hranici, která vyhovuje pro rozlišení jednotlivých oblastí, jako jsou např. přírůstové linie na zubech. Pro dosažení lepšího

laterálního rozlišení lze zmenšit kráter, avšak s druhou mocninou průměru kráteru klesá i objem ablatovaného materiálu a jeho emise, což již na minoritní prvky nestačí (5). Se zkracující se vlnovou délkou laseru se též při stejné pořizovací ceně zmenšuje i energie pulzu laseru. Modifikace DP-LIBS může tento problém vyřešit. Pro první pulz použijeme laser ultrafialový se slabou energií a kvalitním profilem paprsku, kterým je možné vypalovat krátery 100 i méně  $\mu\text{m}$  v průměru. Druhý laser může být infračervený Nd:YAG 1064 nm s relativně silnými pulzy 50 až několik set mJ. Po dobuzení prvotního mikroplazmatu nastane nárůst intenzit čar i o dva řády, zlepší se i poměr signálu k pozadí. Tím zachováme prostorové rozlišení srovnatelné s LA-ICP-MS a zlepšíme meze detekce na hodnoty lepší, než by měla jednoduchá LIBS, na hodnoty LA-ICP-MS se však nedostaneme. Mapováním nábrusů zubů či kostí pomocí DP-LIBS může zjednodušit analýzu, neboť není třeba upravovat vzorek tak, aby mohl být uzavřen do ablační cely a rovněž provozní náklady jsou nižší nejméně o spotřebované vzácné plyny. Ukázka je zachycena na obr. 1, na obr. 2 je pak fotografie ablačních kráterů a jejich profil.

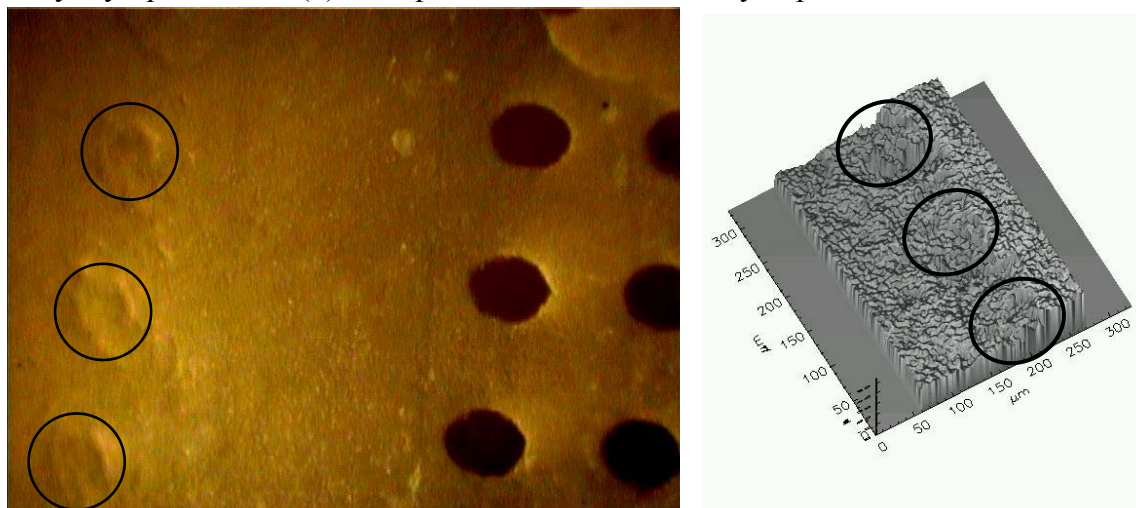


Obr.1: DP-LIBS nábrusu holenní kosti v Lab. atomové spektrochemie: 1. pulz kolmo – Nd:YAG laser, 266 nm, plochý profil paprsku, 10 mJ, 2. pulz zprava – ND:YAG laser 1064 nm, 100 mJ. Shora směřuje vstup do optického kabelu – průměr 1 cm.

### *LIBS pod vodou*

Nálezy není v některých případech možné přemístit do laboratoře. To je i případ některých podmořských objevů. LIBS v takovém prostředí je komplikována vývinem mikroplazmatu v kapalině, vznikem bublin z vodní páry a suspenzí z ablatovaného materiálu. Mikroplazma se též rychleji chladí než v plynu a rychleji vyhasíná. Zvyšuje se ablační práh pro daný materiál i pro průraz vody oproti plynu. Proto je nutné použít až řádově větší energie pulzu laseru při výsledně slabší emisi než v plynu. Pro většinu vzorků je dostačující Nd:YAG laser 1064 nm s energií pulzu kolem 200 mJ. U dřeva však nebylo dosaženo ablačního prahu, i když průraz

vody byl pozorován (6). Naopak u suchého dřeva byla pozorována silná emise včetně



Obr. 2: Ablací krátery z DP-LIBS zubu soba v Lab. atomové spektrochemie po 28 pulzech, 266 nm, 10 mJ, plochý profil paprsku. Průměr kružnic je 0,1 mm.

stopových prvků. Hlavní problém zřejmě spočívá v prudkém nárůstu ablačního prahu u namočených celulózových vláken. Na základě naměřených spekter byla úspěšně provedena identifikace materiálu u železných, měděných, zlatých a stříbrných slitin. Analýzu podstatně usnadňuje kvalita povrchu vzorku. U hladkých kovových povrchů stačí pro identifikaci i jediný pulz. Je-li povrch členitý nebo narušený korozí, je třeba počty pulzů navýšit a analyzovat povrch na více místech. Dále je možné identifikovat např. mramor a rozlišit jej od ostatních vápenných hornin.

Pro DP-LIBS pod vodou je nutné volit jiné časy mezi pulzy i jinou prodlevu pro začátek měření a integrační dobu.

### *Spektroskopické měření tvrdosti*

Emisní spektrometrie nemusí sloužit pouze ke stanovení složení vzorku, ale do jisté míry i ke sledování změn jeho struktury. Tak jako u kvantitativní analýzy jde i v tomto případě o srovnávací měření, kdy se intenzity určitých čar mění podle druhu materiálu, i když obsah příslušného prvku zůstává nezměněn. Jde v podstatě o využití matričních jevů. Jednou z možností je lokální měření tvrdosti. Spočívá v tom, že se rázová vlna vyvolaná v plynu prudkým zahřátím a rozepnutím mikroplazmatu odráží snadněji od tvrdé překážky než od měkké. Interakce rázové vlny s povrchem vzorku se tak děje v rozmezí dvou extrémů. Jeden je dokonale pružný odraz rázové vlny od povrchu, kdy nedochází k žádné výměně energie mezi vlnou a vzorkem. Ten se stlačí a opět narovná zpět jako dokonalá pružina bez tření, a tím dojde k odrazu vlny bez ztráty energie. Druhý extrém je dokonale nepružný náraz vlny do vzorku, kdy dochází k úplnému pohlcení energie vlny blízko povrchu vzorku. Následkem je destrukce vzorku, rozlámání, rozpraskání a vyražení materiálu ven, dále pak rozkmitání a zahřátí, tavení a vypaření části vzorku v oblasti ablačního kráteru. Ve skutečnosti je působení rázové vlny někde mezi těmito extrémů a mění se podle tvrdosti materiálu. Bylo ověřeno, že tvrdost je úměrná rychlosti odražené rázové vlny. Měřitelným projevem tohoto úkazu jsou změny poměrů intenzit iontových a atomových čar. Rázová vlna významně přispívá k ionizaci

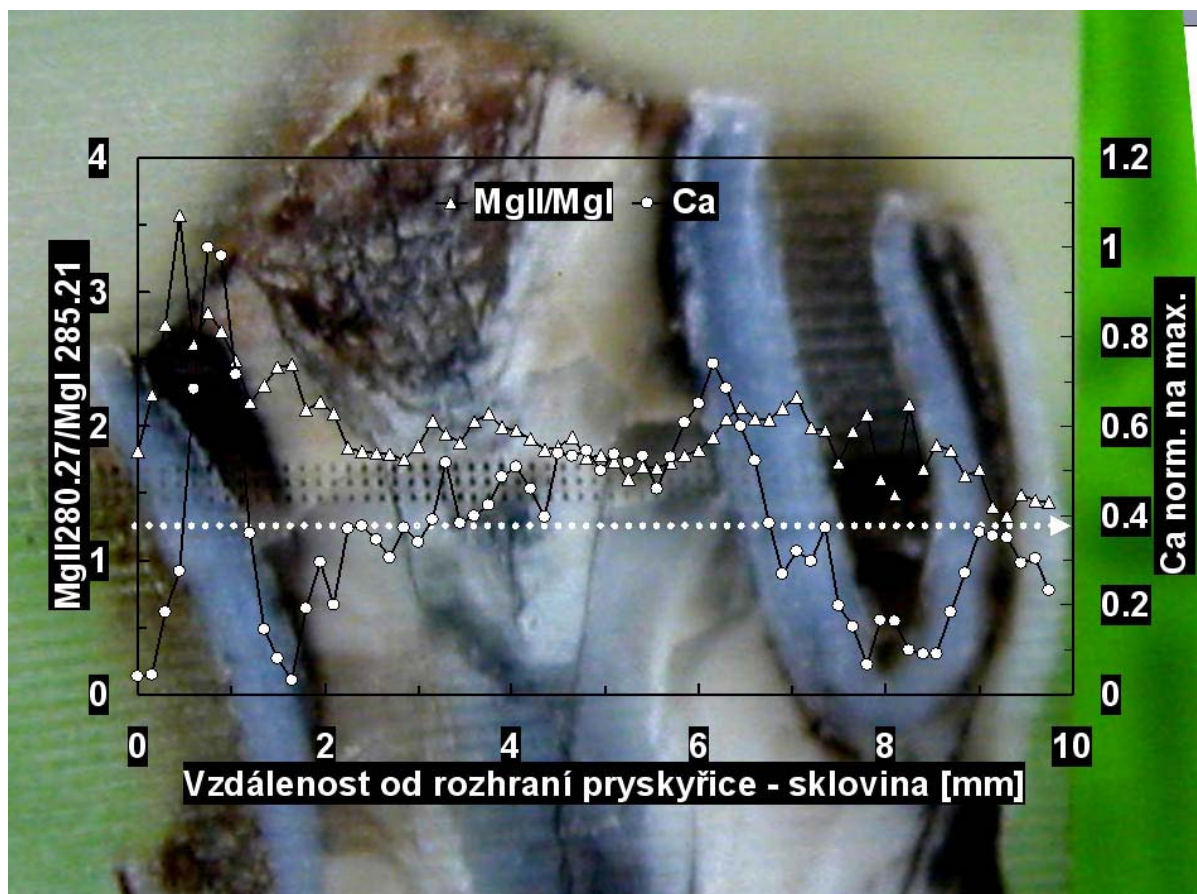


mikroplazmatu, více částic s vyšší rychlostí snadněji při srážkách ionizuje atomy. Tím roste množství iontů na úkor atomů, což se také projeví v intenzitách iontových a atomových čar. Pro měření se vybírají silné čáry matričních prvků. Je zřejmé, že není-li emise snímána přímo z mikroplazmatu, není uvedený princip využitelný (např. LA-ICP-OES).

Archeologické vzorky mívají zejména vápníkové a hořčíkové čáry vhodné pro taková měření. Používá se např. poměr Mg (II) 280,26/Mg (I) 285,22 nm a lze jej porovnat s přímým měřením tvrdosti dle Vickerse. Čáry vápníku Ca (II) 373,69/Ca (I) 428,9 nm jsou sice také teoreticky vhodné, ale pocházejí od nejhojnějšího matričního prvku. V kostech a zubech je vápník zastoupen i více než čtvrtinou, proto se často objevuje silná samoabsorpce. Také vzájemná vzdálenost těchto čar ve spektru je již značná, a proto je problém měřit je v jednom časovém okamžiku současně běžnými spektrometry konstrukce Czerny-Turner při zachování dostatečného rozlišení. Široké spektrální intervaly se lépe měří přístroji konstrukce echelle.

U kalcifikovaných vzorků se ukázalo, že lze sestavit lineární kalibrační závislosti poměru čar vůči tvrdosti vzorku. Zajímavých výsledků bylo dosaženo u zubů. Pomocí poměrných změn lze spolehlivě od sebe rozlišit sklovinu, cement, dentin a pulpu. Provádíme-li sken LIBS přes řez zubu, pak nejvyšší poměr iontové ku atomové čáře očekáváme ve sklovině, dále v dentinu, cementu a nejméně v pulpě. Tam však může být již výsledek analýzy celkově dosti zkreslený díky měkké tkáni, která u fosilních zubů nebývá zachována a zbývá jen prázdná nebo kontaminovaná dutina. V místech pod korunkou zubu, kde není přítomna sklovina, je nejtvrďší částí dentin, krytý na povrchu cementem, a dále tvrdost klesá směrem ke kořenovému kanálku. U kostí není struktura tak rozlišená, u podlouhlých kostí jde zpravidla o vnější nosnou část kompaktu a o vnitřní výplň spongiosu. Ablační analýza má smysl právě v kompaktě, zatímco ve spongiose převládá pryskyřičná výplň.

Vliv tvrdosti na poměry čar se zdá být experimentálně prokazatelný i u techniky DP-LIBS. Jako ukázka je na obr. 3 výsledek experimentu v Lab. atomové spektrochemie PřF MU. Nebyl prováděn za různých podmínek, pouze při optimálním nastavení pro DP-LIBS. Zatím však nebyl mechanismus u DP-LIBS detailně prozkoumán. Pikosekundové pulzy u jednopulzové LIBS vykazovaly větší poměr čar než nanosekundové při zachování směrnice závislosti na tvrdosti (7). To by odpovídalo větší amplitudě stlačení plynu kratším pulzem. Není zřejmé, kdy rázová vlna po odrazu od povrchu vzorku dospěje do mikroplazmatu. Její rychlost bývá i několik  $\text{km s}^{-1}$ , a tak se může stát, že zpětný odraz na vzdálenost asi 2 mm proběhne ještě před vznikem sekundárního mikroplazmatu při časovém odstupu 2. pulzu 1  $\mu\text{s}$ . Sekundární mikroplazma by tak působilo jako do jisté míry lineární zesilovač. Zachoval by se stejný stupeň ionizace jako u primárního mikroplazmatu, jen existující ionty a atomy by byly ve větší míře excitovány. V publikovaných studiích na betonu, ulitách a skořápkách byla rychlost vlny 1,9 – 3,6 Machu (8). Přitom se ukázalo, že tvrdost materiálu není přímo úměrná rychlosti rázové vlny. Graficky vykazuje tvrdost spíše mocninný nárůst oproti lineárnímu růstu rychlosti. Ačkoliv to nebylo dostatečně prokázáno např. regresí naměřených reprezentativních bodů, odpovídá toto zjištění zřejmě skutečnosti, že kinetická energie je přímo úměrná druhé mocnině rychlosti. To by také naznačovalo linearitu při ionizaci atomů v mikroplazmatu předáním části kinetické energie rázovou vlnou.



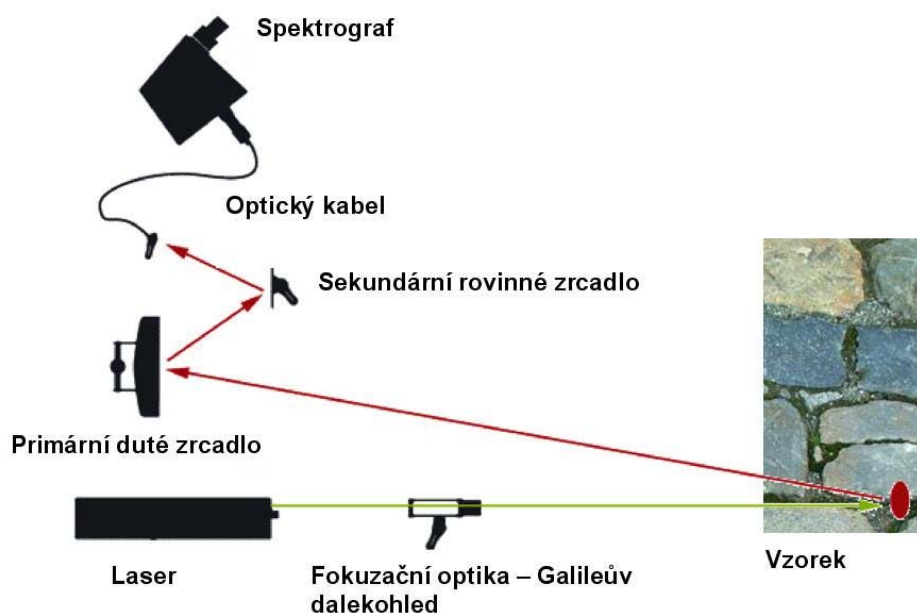
Obr. 3: DP-LIBS mapování tvrdosti různých částí zubu soba ve směru šipky. Největší tvrdost odpovídá sklovině – okrajová lamela vlevo a lamela tvaru U vpravo. Viditelné krátery jsou z LA-ICP-MS.

#### *LIBS s dálkovou detekcí (remote LIBS, stand-off LIBS)*

Archeologie ve smyslu odkrývání a sběru předmětů z vykopávek nevyžaduje použití LIBS s dálkovou detekcí. Předměty jsou zcela přístupné a většinou i přemístitelné do laboratoře. V obecném kontextu ochrany a analýzy předmětů kulturního dědictví má však R-LIBS rozsáhlé uplatnění při analýze a čištění částí staveb a soch, kam se nelze jednoduše dostat ani s přenosnou aparaturou LIBS, nebo při zkoumání geologických útvarů (9).

Princip R-LIBS je stejný jako u kontaktní LIBS, avšak aparatura je náročnější a větší. R-LIBS se provádí na vzdálenosti od asi 1 m do několika set m. Zaostření paprsku laseru na velkou vzdálenost vyžaduje kvalitní optiku, která umožní ablací vzorku dosažením potřebné irradiance. I když je pro zaostření použita několikaprvková soustava čoček pro kompenzaci vad nebo jejich kombinace se zrcadlem, nemívají ablační krátery menší průměry než asi 1 mm. To znamená použití silnějšího laseru, který zvýšenou energií pulzu vykompenzuje velkou plochu kráteru. Vzorek tedy může být mapován s rozlišením horším než asi 1 mm, což v principu u velkých objektů nevádí. Ukazuje se, že právě vady čoček určují velikost kráteru, daleko za nimi pak zůstává Airyho difrakční kritérium. Pro zachování proměnné ohniskové vzdálenosti je nejjednodušší použít expander z rozptylky a spojky, založený na Galileově dalekohledu, u něhož nemůže dojít k nežádoucímu průrazu atmosféry paprskem mezi

čočkami. Změnou vzájemné polohy těchto čoček měníme výslednou ohniskovou vzdálenost. Detekce se provádí zpravidla dutým zrcadlem, které sbírá záření LI-plazmatu z co největšího prostorového úhlu a soustřeďuje ho v ohnisku do vstupu optického kabelu, který záření vede do spektrografu. Možné je uspořádání se sekundárním rovinným zrcadlem vycházejícím z Newtonova dalekohledu mimoosé (Herschel) (obr. 4) nebo souosé, které však zastíní až čtvrtinu sběrné plochy. Existuje i celá řada jiných uspořádání (9, 10). Je zřejmé, že na vzdálenost např. 20 m se při typické velikosti zrcadla 20-30 cm dostane do spektrografu jen zlomek záření, a tudíž jsou u R-LIBS analýzy limity detekce znatelně horší než při LIBS. Celé zařízení musí být také mobilní.



Obr. 4: Příklad mimoosého uspořádání experimentu R-LIBS.

#### *Užití akustického signálu při LIBS*

Při laserové ablací dochází k doprovodným zvukovým jevům, které jsou důsledkem vzniku rázové vlny, na jejíž vznik se spotřebuje část energie pulzu laseru. Ta se v určité vzdálenosti od mikroplazmatu transformuje v normální zvukovou vlnu, která je měřitelná pomocí mikrofonů. Pokud je akustický signál úměrný množství odablatovaného materiálu a/nebo irradianci, může se využít pro zaostřování paprsku nebo vnitřní standardizaci. Zde ovšem musí platit předpoklad, že emise čar charakteristických prvků pro daný materiál je přímo úměrná jeho ablatovanému množství. Každý puls laseru má jinou energii, a proto množství ablatovaného materiálu kolísá, každý materiál má jinou ablační rychlost a jinou optimální irradianci. U vrstev povrchových nečistot, zkorodovaných vrstev nebo glazur může změna akustického signálu indikovat odstranění vrstvy (čištění) nebo propálení se glazurou. Pro LIBS stačí použít jako detektor i malý, velmi levný mikrofon, který se umístí do blízkosti místa ablace v několikacentimetrové vzdálenosti (11). Zařízení je funkční i tehdy, je-li ablace prováděna v cele a mikrofon je umístěn vně nebo v hadici pro odvod aerosolu z cely (12). Zařízení však prodražuje nutnost užití záznamového zařízení, jako je např. osciloskop,

vhodný zesilovač, karta do počítače apod... Použití běžného mikrofonu i tzv. transduceru pro ultrazvukové kmitočty se jeví pro tyto účely jako rovnocenné.

### *Vybrané aplikace*

Na základní vlnové délce 1064 nm je možné použít velmi rozšířený Nd:YAG laser téměř na všechny druhy vzorků s výjimkou skla, které sice praská a drolí se, ale špatně se ablatuje. Ablací krátery mohou být při vhodném zaostření již od 0,1 mm (13), zcela výjimečně ještě menší. Z naměřených spekter je možná identifikace keramiky, a to glazury i střepu, dále pak také barviv na základě obsažených kovů, jako Pb, Zn, Fe, Cu... Podle poměrů Mg, Ca, Si a Al je možné např. stanovit původ střepů z různých míst (Kréta - (13)). Výběrem vhodného prvku, který je/není přítomen v glazuře/střepu můžeme metodikou LIBS charakterizovat rozhraní mezi vrstvami glazur a střepem, jako př. Mg, Si, Al. U keramiky Terra Sigillata byl hloubkový profil nejlépe charakterizován Fe a Ca (14, 15). Třídění této keramiky podle provenience na základě LIBS bylo provedeno pomocí umělých neuronových sítí (AAN) s úspěšností více než 90 % (16).

Kalcifikované tkáně nejsou příliš často předmětem analýz LIBS. Jde spíše o recentní vzorky. U zubů existuje studie souvislosti mezi obsahem hliníku, používáním bělicí pasty, bílých výplní a amalgámových výplní zubů (17). Možné je také povrchové mapování zubní korunky nebo skeny zubu od korunky ke kořenu. Mapují se minoritní prvky a poměr Mg/Ca, který při překročení určité úrovně indikuje místo postižené kazem. U kostí byla všechna měření vztažena na vápník, neboť ten je právě v hydroxyapatitové matici nahrazován dvojmocnými substituenty (Sr, Ba, Pb aj...), které pocházejí ze stravy, nebo jsou přítomny kontaminanty jako např. Al (18). Před kvantitativním měřením LIBS se ověřovala existence lokální termodynamické rovnováhy měřením elektronové hustoty a elektronové a iontové teploty.

U kovových nálezů se výzkum soustředil hlavně na měděné slitiny. Zkoumalo se užití ns i fs laserů pro kvantitativní LIBS Sn a Pb, přičemž jejich použití bylo shledáno téměř rovnocenným, odhlédneme-li od výhod fs laserů při prostorově rozlišené analýze (19). U mikroplazmatu bylo zjištěno, že se dříve přiblíží stavu termodynamické rovnováhy po fs pulzu než u ns a také rychleji klesá intenzita pozadí, ns LIBS však poskytuje mnohem intenzivnější mikroplazma i čáry, což vede k podstatně větší citlivosti kalibračních závislostí (20). Kromě provenience je dalším parametrem datování na základě složení. Tak např. zvýšený obsah As v měděných nálezích na úroveň 0,1-2 % může indikovat dobu bronzovou (21). Klíčovými prvky pro klasifikaci nálezů archeometrickými metodami jsou u měděných slitin: Ag, Al, As, Ca, Fe, Mg, Na, Pb, Sb a Si (22).

Kombinací různých vlnových délek laseru lze dosáhnout zároveň očištění povrchu prvním pulzem a poté vzorek analyzovat druhým pulzem, což lze provádět i v uspořádání DP-LIBS (335 nm 1. pulz, 266 nm druhý). Metodika byla odzkoušena na římských bronzových mincích (23). Simulovalo se též čištění a hloubkové profilování archeologických kovových objektů s ochrannou povrchovou vrstvou vosku nebo PMMA. Ačkoliv byly použity excimerové lasery krátkých vlnových délek, jako je ArF 193 nm a dokonce femtosekundový KrF 248 nm, bylo hloubkové rozlišení lepší u ArF laseru, což může souviset s nelineárním absorpčním koeficientem PMMA na 248 nm. Konec vrstvy byl indikován poklesem emise CN pásu na 388,3 nm (24).

LIBS může být i použita na čištění nití výšivky (25). Měděné nitě byly úspěšně vyčištěny od koroze 532 nm laserem při fluenci  $0,25 \text{ J cm}^{-2}$ . Nitě byly tvořeny navinutím tenkého měděného pruhu kolem bavlněného jádra. Při udržení fluence  $<1 \text{ J cm}^{-2}$  tak nebylo poškozeno bavlněné vlákno (25).

Identifikace barviv na povrchu pomocí LIBS je další klíčovou disciplínou. Provádí se na základě typických spektrálních obrazů složených z charakteristických emisních čar pro dané barvivo. Některé prvky jsou pro určité barvivo typické, jako např. Zn, Hg, jiné se objevují v celé řadě pigmentů. Např. uhlík je přítomen nejen v uhlí, ale i lněném oleji jako součást ostatních barviv. Tento olej je také příčinou pozorování vodíkových a kyslíkových čar. Následující seznam je ukázkou čar identifikovaných ve spektru LIBS pořízeném pomocí Nd:YAG laseru na 1064 (označeno \*) při irradianci  $0,5\text{-}4 \text{ GW cm}^{-2}$  a 532 nm při  $1,76 \text{ GW cm}^{-2}$  (13, 26):

Zinková běloba:  $\text{ZnO}$ , bílá, Zn: 250,2 (II); 255,95 (II); 277,1 (I); 280,19 (II); 307,21 (I); 328,23 (I); 330,26 (I); 334,5 (I); 468,01 (I); 472,22 (I); 481,05 (I); 492,4 (II); 518,2 (I); 589,43 (II); 636,23 (I); O: 777,5 (I); 844,6 (I)

Malachit:  $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu(OH)}_2$ , zelená, Cu: 224,26 (II); 229,44 (II); 236,99 (II); 296,12 (I); 324,75 (I); 327,4 (I); 427,51 (I); 451,6 (II); 465,11 (I); 515,32 (I); 521,82 (I); 578,21 (I); 809,26 (I); O: 777,5 (I); 844,6 (I); H: 656,27 (I); C: 247,86 (I)

Kostní uhlí:  $\text{C} + \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , černá, C: 247,86 (I); Ca: 315,89 (II); 317,93 (II); 373,69 (II); 393,37 (II); 396,85 (II); 422,67 (I); 527,02 (I); 534,95 (I); 558,88 (I); 610,27 (I); 612,22 (I); 616,64 (I); 643,91 (I); 646,26 (I); 649,38 (I); 714,82 (I); 720,22 (I); O: 747,64 (I); 777,5 (I); 844,6 (I)

Ultramarín červený:  $\text{Na}_7\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}\text{S}_3$ , fialová, Na: 266,1 (II); 588,99 (I); 589,59 (I); Al: 236,81 (I); 251,33 (I); 257,51 (I); 309,28 (I); Si: 243,52 (I); 288,16 (I); 413,02 (II); 634,71 (II); O: 777,5 (I); 844,6 (I)

Kadmiová červeň:  $\text{CdS}_x\text{Se}_{(1-x)}$ , červená, Cd: 226,50 (II); 228,80 (II); 231,28 (II); 257,29 (II); 274,85 (II); 325,25 (I); 326,11 (II); 340,37 (I); 346,62 (I); 361,05 (I); 441,56 (II); 467,81 (I); 479,99 (I); 508,58 (I); 643,85 (I); Ba: 455,4 (II); Ca: 393,36 (II); 396,85 (II)

Rumělka (cinnabarit):  $\text{HgS}$ , červená, Hg: 313,18 (I); 365,12 (I); 398,4 (II); 404,66 (I); 435,83 (I); 546,07 (I);

Ultramarín modrý:  $\text{Na}_7\text{Al}_6\text{Si}_6\text{O}_{24}\text{S}_3$ , modrá, Na: 330,13 (II); 588,99 (I); 589,59 (I); 616,08 (I); 818,33 (I); 819,48 (I); Al: 237,16 (I); 305,71 (I); 308,21 (I); 309,28 (I); 394,4 (I); 396,15 (I); 606,84 (II); 607,32 (II); Si: 221,81 (I); 288,16 (I); 243,51 (I); 263,13 (I); 250,69 (I); 251,43 (I); 251,69 (I); 251,92 (I); 252,41 (I); 252,85 (I); 390,55 (I); 413,09 (II); 634,89 (II); 637,31 (II); O: 777,5 (I); 844,6 (I)

Nebeská modř:  $\text{CoO} \cdot n\text{SnO}_2$  Co: 253,03 (II); 412,13 (I); 448,25 (II); O: 777,5 (I); 844,6 (I); Sn: 283,99 (I); 326,23 (I); 380,1 (I); 452,47 (I); 517,45 (I)

Olovnato-cínová žluť\*:  $\text{Pb}_2\text{SnO}_4$  nebo  $\text{PbSn}_{1-x}\text{Si}_x\text{O}_3$ : Pb: 257,73 (I); 261,37 – 261,42 (I); 266,32 (I); 280,20 (I); 283,31 (I); 287,33 (I); 357,27 (I); 363,96 (I); 368,35 (I); 373,99 (I); 401,96 (I); 405,78 (I); Sn: 266,124 (I); 270,65 (I); 277,98 (I); 281,36 (I); 284,00 (I); 286,33 (I); 291,35 (I); 300,91 (I); 303,41 (I); 317,51 (I); 326,23 (I); 333,06 (I).

## Literatura

1. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Zub>, <http://en.wikipedia.org/wiki/Tooth>
2. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kost>, <http://en.wikipedia.org/wiki/Bone>
3. I. Ohlidal, M. Ohlidal, D. Franta, V. Čudek, V. Buršíková, P. Klapetek, K. Páleníková, *Diamond Relat. Mater.*, 14, 2005, 1835–1838.
4. T. Čtvrtníčková, F. Fortes, L. Cabalín, J. Laserna, Optical Restriction of Plasma Emission Light for Nanometric Sampling Depth and Depth Profiling of Multilayered Metal Samples, *Applied Spectroscopy* 61, 2007, 719 – 724.
5. A. Hrdlička, L. Prokeš, K. Novotný, V. Konečná, V. Kanický, V. Otruba, Spatially resolved laser induced breakdown spectroscopy in orthogonal double pulse configuration and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry of archaeological findings, *Chem. Listy* 102, 2008, s1372–s1375.
6. V. Lazic, F. Colao, R. Fantoni, V. Spizzicchio, Recognition of archeological materials underwater by laser induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta B* 60, 2005, 1014 – 1024.
7. Z.A. Abdel-Salam, Z. Nanjing, D. Anglie, M.A. Harith, Effect of experimental conditions on surface hardness measurements of calcified tissues via LIBS, *Appl. Phys. B* 94, 2009, 141–147.
8. Z.A. Abdel-Salam, A.H. Galmed, E. Tognoni, M.A. Harith, Estimation of calcified tissues hardness via calcium and magnesium ionic to atomic line intensity ratio in laser induced breakdown spectra, *Spectrochim. Acta B* 62, 2007, 1343–1347.
9. B. Sallé, P. Mauchien, S. Maurice, Laser-Induced Breakdown Spectroscopy in open-path configuration for the analysis of distant objects, *Spectrochim. Acta B* 62, 2007, 739–768.
10. S. Palanco, C. Lopez-Moreno and J.J. Laserna, Design, construction and assessment of a field-deployable laser-induced breakdown spectrometer for remote elemental sensing, *Spectrochim. Acta B* 61, 2006, 88–95.
11. A. Hrdlička, L. Zaoralíková, M. Galiová, T. Čtvrtníčková, V. Kanický, V. Otruba, K. Novotný, P. Krásenský, J. Kaiser, R. Malina, K. Páleníková, Correlation of acoustic and optical emission signals produced at 1064 and 532 nm laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) of glazed wall tiles, *Spectrochim. Acta B* 61, 2009, 74–78.
12. V. Kanický, V. Otruba, J.-M. Mermet, Use of internal standardization to compensate for a wide range of absorbance in the analysis of glasses by UV laser ablation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Appl. Spectrosc.* 52, 1998, 638–642.
13. K. Melessanaki, M. Mateo, S.C. Ferrence, P.P. Betancourt, D. Anglos, The application of LIBS for the analysis of archaeological ceramic and metal artifacts, *Applied Surf. Sci.* 197-198, 2002, 156–163.
14. A.J. López, G. Nicolás, M.P. Mateo, V. Piñón, A. Ramil, A. Yáñez, Análisis de cerámicas romanas Terra Sigillata mediante espectroscopía de plasmas inducidos por láser (LIPS), *Bol. Soc. Esp. Ceram.* V. 44, 2005, 368-372.
15. A.J. López, G. Nicolás, M.P. Mateo, V. Piñón, M.J. Tobar, A. Ramil, Compositional analysis of Hispanic Terra Sigillata by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B* 60, 2005, 1149–1154.

16. A. Ramil, A.J. López, A. Yáñez, Application of artificial neural network for the rapid classification of archaeological ceramics by means of laser induced breakdown spectroscopy (LIBS), *Appl. Phys. A* 92, 2008, 197–202.
17. O. Samek, D.C.S. Beddows, H.H. Telle, G.W. Morris, M. Liška, J. Kaiser, Quantitative analysis of trace metal accumulation in teeth using laser-induced breakdown spectroscopy, *Appl. Phys. A* 69, 1999, S179–S182.
18. O. Samek, D.C.S. Beddows, H.H. Telle, J. Kaiser, M. Liška, J.O. Caceres, A. González Ureña, Quantitative laser-induced breakdown spectroscopy analysis of calcified tissue samples, *Spectrochim. Acta B* 56, 2001, 865–875.
19. A. De Giacomo, M. Dell'Aglio, O. De Pascale, R. Gaudio, A. Santagata, R. Teghil, Laser Induced Breakdown Spectroscopy methodology for the analysis of copper-based-alloys used in ancient artworks, *Spectrochim. Acta B* 63, 2008, 585–590.
20. A. Elhassan, A. Giakoumaki, D. Anglos, G.M. Ingo, L. Robbiola, M.A. Harith, Nanosecond and femtosecond Laser Induced Breakdown Spectroscopic analysis of bronze alloys, *Spectrochim. Acta B* 63, 2008, 504–511.
21. F.J. Fortes, M. Cortés, M.D. Simón, L.M. Cabalín, J.J. Laserna, Chronocultural sorting of archaeological bronze objects using laser-induced breakdown spectrometry, *Analytica Chim. Acta* 554, 2005, 136–143.
22. M. Corsi, G. Cristoforetti, M. Giuffrida, M. Hidalgo, S. Legnaioli, L. Masotti, V. Palleschi, A. Salvetti, E. Tognoni, C. Vallebona, A. Zanini, Archaeometric Analysis of Ancient Copper Artefacts by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy Technique, *Microchim. Acta* 152, 2005, 105–111.
23. F. Colao, R. Fantoni, V. Lazic, L. Caneve, A. Giardini, V. Spizzichino, LIBS as a diagnostic tool during the laser cleaning of copper based alloys: experimental results, *J. Anal. At. Spectrom.* 19, 2004, 502–504.
24. P. Pouli, K. Melessanaki, A. Giakoumaki, V. Argyropoulos, D. Anglos, Measuring the thickness of protective coatings on historic metal objects using nanosecond and femtosecond laser induced breakdown spectroscopy depth profiling, *Spectrochim. Acta B* 60, 2005, 1163 – 1171.
25. O. Abdel-Kareem, M.A. Harith, Evaluating the use of laser radiation in cleaning of copper embroidery threads on archaeological Egyptian textiles, *Appl. Surf. Sci.* 254, 2008, 5854–5860.
26. M.P. Mateo, T. Čtvrtníčková, G. Nicolás, Characterization of pigments used in painting by means of laser-induced plasma and attenuated total reflectance FTIR spectroscopy, *Appl. Surf. Sci.* 255, 2009, 5172–5176.

Autor děkuje Ministerstvu školství, mládeže a tělovýchovy České republiky za výzkumný záměr č. 0021622411, v jehož rámci byl příspěvek vytvořen.

# Aplikace synchrotronu – rentgenová mikroradiografie a mikrotomografie

J. Kaiser<sup>1</sup>, R. Malina<sup>1</sup>, M. Holá<sup>2</sup>, M. Galiová<sup>2</sup>, K. Novotný<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav fyzikálního inženýrství, Fakulta strojního inženýrství, Vysoké učení technické v Brně, Technická 2896/2, 616 69 Brno

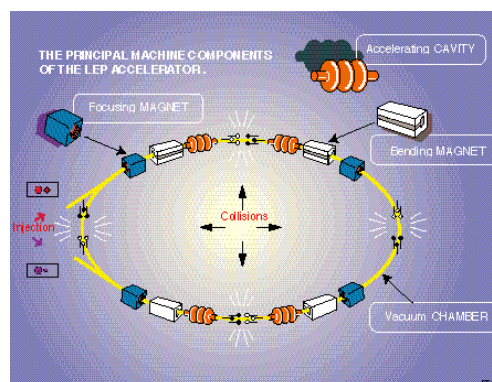
<sup>2</sup> Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno

## Resumé

Synchrotronové záření, a to zejména záření elektronových synchrotronů třetí generace, nachází své uplatnění v široké škále vědních oborů sahajících např. od nanotechnologií přes zobrazovací techniky až k biomedicině a strukturní chemii. V článku se zaměříme na využití synchrotronového záření k nedestruktivní vizualizaci a analýzu objektů využitím rentgenové mikroradiografie a mikrotomografie.

## 1. Synchrotron a synchrotronové záření

Synchrotronové záření je elektromagnetické záření nabitých částic (např. elektronů) pohybujících se po zakřivených drahách uvnitř uzavřené vakuové trubice rychlostmi blízkými rychlosti světla. Pohyb částic je urychlován, zakřívován a fokusován pomocí silných magnetů (obr. 1), které udržují elektrony ve středu trubice. Synchrotronové záření je vyzařováno ohybovými magnety (undulátory a wigglery [1]) v akumulacním prstenci urychlovače částic ve směru tečny pohybu částice. Synchrotronové zdroje záření třetí generace se vyznačují vysokou intenzitou a vysokou prostorovou koherencí svazku, který je vyslán do malého úhlu a pokrývá velkou část elektromagnetického spektra [2].



Obr. 1. a) fotografie synchrotronu *European Synchrotron Facility* (ESRF) v Grenoblu [3] a b) schéma synchrotronu se silnou fokusací v CERN-u [4].



Elektronový synchrotron je nejvšestrannější využitelný typ urychlovače. Slouží pro provádění experimentů, díky nimž lze získat jedinečné informace o chování hmoty na molekulární a atomární úrovni. Získané poznatky se uplatňují např. při návrhu léčiv, pokročilých materiálů, rozvoji nanotechnologií a environmentálních analýz [5]. Parametry synchrotronového záření v jednotlivých pracovních stanicích umístěných tangenciálně kolem urychlovacího prstence jsou přizpůsobeny daným aplikacím. Např. záření s energií v rozsahu tzv. „*water-window*“, tj. 280 eV - 505 eV (4.4 - 2.3 nm) je vhodné pro mikroskopii živých organismů, buněk, bakterií, virů atd. Záření s vyšší energií (keV) se s výhodou uplatňuje pro materiálovou analýzu. V rámci tohoto článku se zaměříme na vybrané aplikace tvrdého synchrotronového záření pro vizualizaci mikroskopických struktur objektů, a to jak dvou (2D) tak i třídímenzionálních (3D).

## 2. Rentgenová mikroradiografie a mikrotomografie

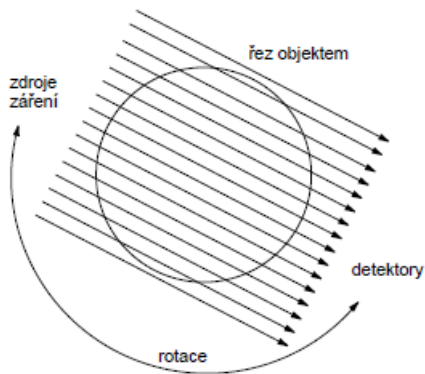
Rentgenová mikroradiografie a mikrotomografie jsou techniky, které umožní snímání vnitřní struktury 2D resp. 3D objektů s vysokým plošným resp. prostorovým rozlišením. Název tomografie pochází z řeckých slov *tomos* (řez) a *grafó* (kreslím), což znamená, že tomografie je technika schopná zobrazování v řezech, tedy možnost zobrazování vnitřní struktury bez fyzického narušení objektu. Nejlépe to popisuje motto používané v lékařství – tomografie je „okno“ do našeho těla, které není potřeba otevírat [2]. Mikrotomografie je proces tomografické rekonstrukce libovolného objektu s rozlišením v řádu mikrometrů. První mikrotomografický systém byl navržen a sestaven Elliotem na začátku 80. let 20. století. První publikovaná mikrotomografická rekonstrukce malého sladkovodního mlže *Biomphalaria glabrata* [6], velkého cca 0,6mm měla rozlišení kolem 15 mikrometrů. Hlavní výhody použití synchrotronového záření pro zobrazení objektů pomocí tvrdého rentgenového záření jsou shrnuty v tabulce 1.

Vlastnost	Vyplývající výhoda
Monochromatické záření	Možnost zobrazení na energiích odpovídajících <i>K</i> a <i>L</i> absorpčním hranám. Kvantitativní tomografická měření. Optimalizace energie rentgenového záření a tím snížení dávky rentgenového záření.
Prostorová koherence	Možnost využití zobrazení pomocí fázového kontrastu.
Intenzita záření	Redukce expozičních časů.
Kolimovaný svazek	Paralelní svazek, jednodušší tomografická rekonstrukce, redukce rozptylu záření.

Tab. 1.: Výhody použití tvrdého synchrotronového záření pro mikroradiografii a rentgenovou mikrotomografii.

## 2.1 Princip tomografie

Tomografie umožňuje kvantitativní pohled dovnitř zkoumaného objektu, aniž bychom museli objekt rozřezat nebo do něj jinak zasahovat [2]. K sestrojení (rekonstrukci) vnitřní struktury objektu stačí získat projekce objektu (Obr. 2).



Obr. 2. Princip získávání projekcí (převzato z [2]).

Kruh na obr. 2 představuje příčnou rovinu objektu, tedy řez, v němž chceme zjistit průběh hledané veličiny. Touto rovinou prochází objektem svazek paprsků vhodného záření. Za objektem je svazek detekován a zaznamenán. Budeme-li nyní současně otáčet zdroj a detektor vzhledem k objektu, získáme pro každý úhel natočení úhlovou projekci objektu. Všechny úhlové projekce tvoří sadu, která je základem k rekonstrukci vybrané fyzikální veličiny v jednom řezu. Výsledný prostorový obraz objektu pak získáme opakováním postupu pro řezy v různé výšce objektu a následnou interpolací.

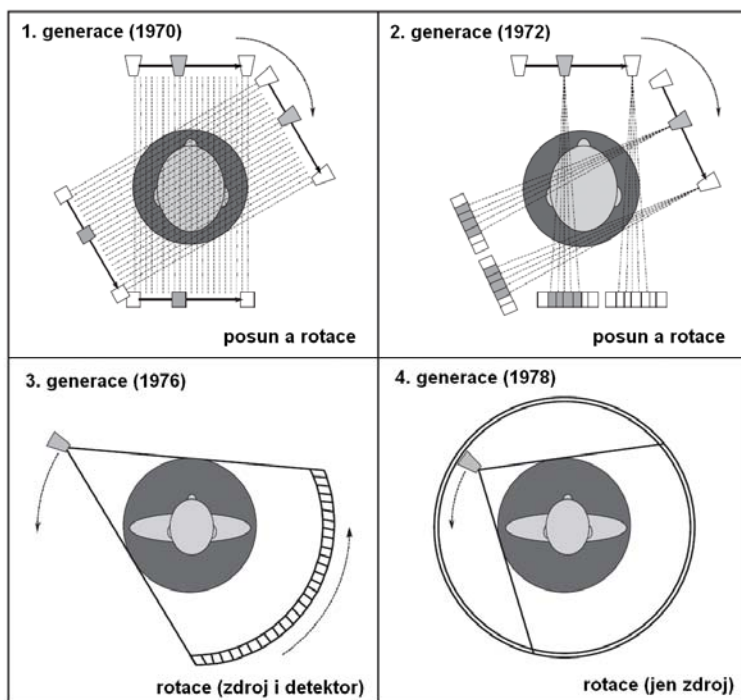
Z hlediska matematiky je proces získání projekcí popsán přímou Radonovou transformací (RT), která představuje proces výpočtu křivkových integrálu dané dvojrozměrné funkce  $f(x,y)$ . Radon ve své práci z roku 1917 [7] dokázal, že každá funkce dvou proměnných je jednoznačně definována svými křivkový Tomografy můžeme dále dělit z hlediska konstrukčního na čtyři generace (obr. 3.), případně můžeme ještě rozlišovat, zda pro získávání úhlových projekcí otáčíme objektem (např. v případě využití synchrotronového záření) a zdroj s detektorem jsou pevné nebo otáčíme detektorem (a zdrojem) a objekt je pevný.

mi integrály podél všech přímek roviny.

Radonovi se ovšem podařilo najít i inverzní transformaci, která z hodnot integrálů (projekcí) vytvoří (rekonstruuje) zase původní funkci.

Tomografii můžeme rozdělit jednak podle druhu interakce záření s objektem na absorpční, emisní a fázovou, jednak podle samotného druhu záření na optickou, rentgenovou a další.

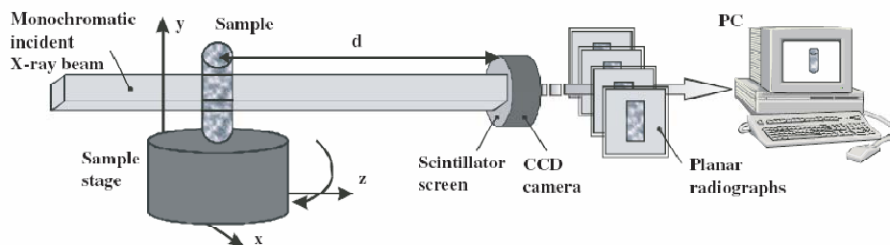
Tomografy můžeme dále dělit z hlediska konstrukčního na čtyři generace (obr. 3.), případně můžeme ještě rozlišovat, zda pro získávání úhlových projekcí otáčíme objektem (např. v případě využití synchrotronového záření) a zdroj s detektorem jsou pevné nebo otáčíme detektorem (a zdrojem) a objekt je pevný.



Obr. 3. Historický přehled vývoje geometrie tomografů (převzato z [2]).

### 3. Vybrané aplikace

Experimenty diskutované v následujících kapitolách byly prováděny na synchrotronu Elettra v Terstu (Itálie). K měřením se využívala pracovní stanice SYRMEP (SYnchrotron Radiation for MEDical Physics) který má následující parametry: rozměr „bodového“ zdroje: 1.1 mm x 0,1 mm; vzdálenost zdroj-vzorek: 24 m; rozměr stopy v rovině vzorku: 150 mm x 6 mm a fotonový tok (při energii 15 keV)  $2 \times 10^8$  fotonů/mm<sup>2</sup>s (pro energii elektronového svazku v urychlovacím prstenci 2 GeV). Pomocí monochromátoru s krystalem křemíku s orientací (111) je možné vybrat úzkou spektrální oblast s energiovým rozlišením  $dE/E$  přibližně  $2 \times 10^{-3}$ . Záření je tedy i časově koherentní. Schéma experimentální stanice SYRMEP pro rentgenovou mikrotomografii je znázorněno na obr. 4.



Obr. 4. Mikrotomografická stanice na SYRMEP.

### 3.1. Absorpční a fázový kontrast

Index lomu prostředí pro EUV a rentgenové záření odvozený využitím vlnové rovnice [1] a z předpokladů, že vlnová délka záření je srovnatelná s atomovými rozměry a energie záření je srovnatelná s vazební energií elektronů v atomu se běžně používá ve tvaru:

$$n=1-\delta+i\beta \quad (1)$$

V konvenční absorpční radiografii se detekuje změna intenzity záření látkou. Změna intenzity se dá popsat pomocí vztahu:

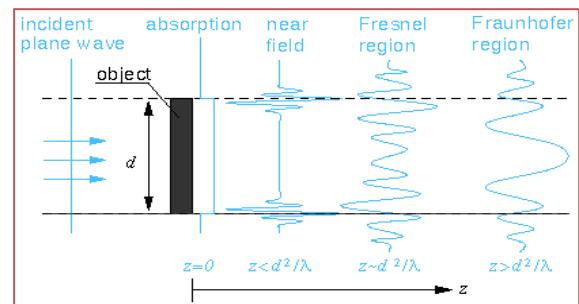
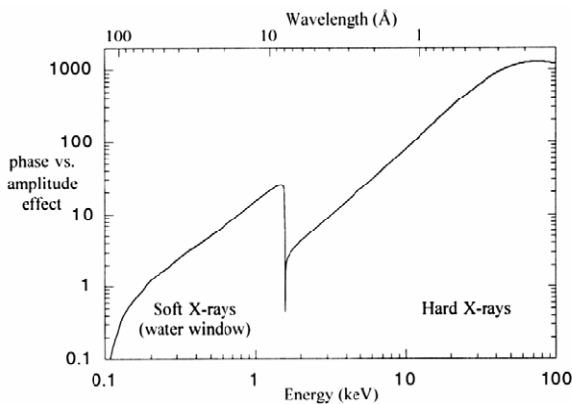
$$\Delta I/I=e^{c\Delta\mu}, \quad (2)$$

kde  $c$  je rozměr vzorku ve směru šíření záření a lineární absorpční koeficient  $\Delta\mu$  souvisí s imaginární částí indexu lomu  $n$  se vztahem:

$$\mu=4\pi\beta/\lambda, \quad (3)$$

kde  $\lambda$  je vlnová délka záření. Vysoká koherence synchrotronového záření umožňuje detekovat i změny fáze původní vlny, způsobené zkoumaným objektem. Změna fáze souvisí se změnou reálné části indexu lomu  $\delta$ :

$$\Delta\Phi=2\pi c\Delta\delta/\lambda. \quad (4)$$



a)

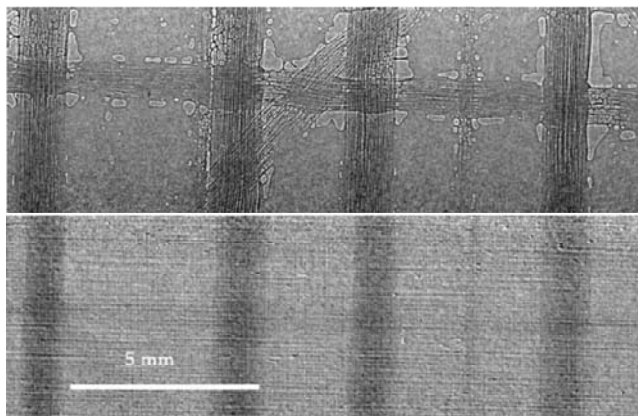
b)

Obr. 5. a) závislost poměru koeficientů  $\delta/\beta$  pro hliník pro měkké a tvrdé rentgenové záření [8] a b) možnost experimentální realizace zobrazení ve fázovém kontrastu využitím synchrotronového záření [9].

Hodnoty  $\delta$  a  $\beta$  pro lehké materiály a rentgenové záření jsou v rozmezí  $10^{-5} \div 10^{-6}$  a  $10^{-8} \div 10^{-9}$ . Obrázek 5a) ukazuje výhodu detekce fázového kontrastu pro rentgenové záření. Poměr  $\delta/\beta$  je znázorněn pro měkké i tvrdé rentgenové záření. Je patrné, že fázový kontrast již při záření energie 20 keV je asi 100 x vyšší než absorpční.

Z experimentálního hlediska je realizace zobrazení využitím fázového kontrastu snadná, spočívá ve správném nastavení vzdálenosti detektor – vzorek (Obr. 5b)). Je ale nutno poznamenat, že výsledný obraz je vždy konvolucí fázového a absorpčního kontrastu a k získání informace o samotné změně fáze je nutno použít speciálních technik („*phase retrieval*“) [10].

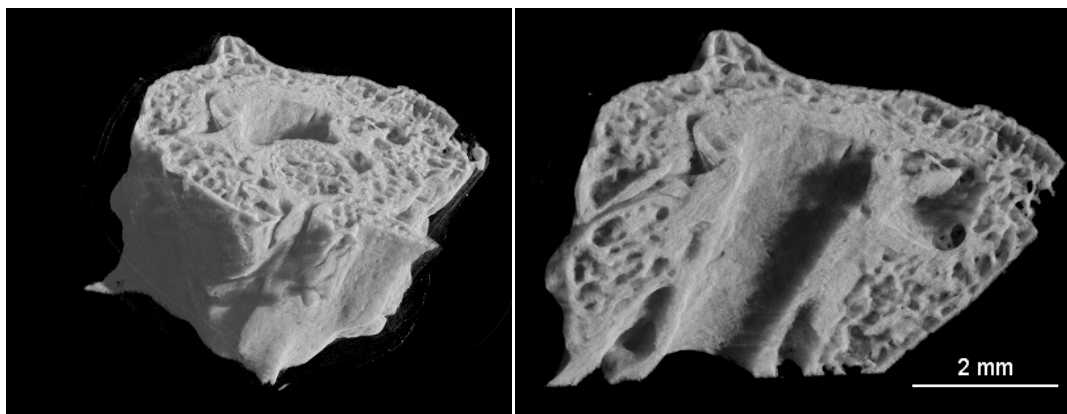
Využití fázového kontrastu je demonstrováno na mikroradiografu speciální tkaniny pro plachty plachetnic (Obr. 6.). Vzduchové bubliny, které se vytvořili při slepení dvou látek, jsou viditelné jenom pomocí fázového kontrastu



Obr. 6. Snímky části moderní tkaniny pro plachetnice (kombinace Twaron® + Spectra®) získány na synchrotronu Elettra v Terstu s využitím absorpčního kontrastu ( $E=15$  keV,  $z=2$  cm) (horní snímek) a fázového kontrastu ( $E=15$  keV,  $z=66$  cm) (dolní snímek). Rozměry zkoumaného objektu 16,8 mm x 5,3 mm (převzato z [9]).

### 3.2. Mikrotomografie

Na obr. 7 je demonstrována možnost aplikace mikrotomografického zařízení na pracovní stanici SYRMEP synchrotronu Elettra v Terstu na zobrazování paleontologických vzorků. Část obratle asi  $10^6$  let starého hada byl rekonstruován z 1440 projekcí. Vzdálenost vzorek-detektor byla 20 cm, použitý detektor měl pixely o velikosti  $9 \mu\text{m}$ .

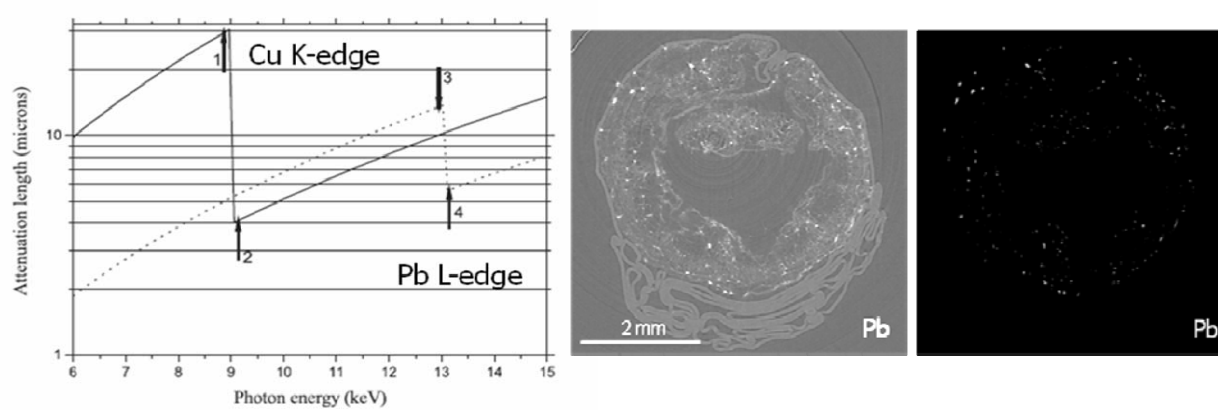


Obr. 6. Tomografická rekonstrukce hadího obratle.

### 3.3. Dvouenergiová mikroradiografie a mikrotomografie

(Kvazi)monochromatické synchrotronové záření umožňuje selekci úzkého spektrálního rozsahu a při použití speciálního opto-mechanického systému, lokalizaci pomocí absorpce záření vybrané vlnové délky (energie) odpovídající chemickým prvkům uvnitř vzorku (obr. 8a). Energii synchrotronového záření absorbují K, L, M ... elektrony daného prvku, proto je velikost absorpce nezávislá na chemických vazbách a přímo určuje koncentraci daného prvku [10].

Pomocí rozdílu hodnot map intenzit (2D radiogramů) vzorku nebo tomografických řezů, měřených použitím záření s energií větší a menší než je hodnota energie absorpční hrany, se dá určit kvalitativně (i kvantitativně) rozložení daného chemického prvku uvnitř zkoumaného objektu (obr. 8b).



a)

b)

Obr. 8. a) Vybrané absorpční hrany pro měď a olovo a energie vhodné pro dvouenergiové měření. b) Rozložení olova v tomografickém řezu kořenové části slunečnice (*Helianthus annuus*). Mapa olova spolu se vzorkem (vlevo) a mapa rozložení olova (vpravo).

### Závěr

V článku jsou diskutovány možnosti aplikace záření elektronových synchrotronů třetí generace v oblasti mikroradiografie a mikrotomografie. Jsou popsány speciální techniky zobrazení využívající fázového kontrastu a dvouenergiové mikroradiografie a mikrotomografie.

### Poděkování

Výzkum byl podporován grantem ME09015 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a grantem Central European Initiative (CEI).

## Literatura

- [1] ATTWOOD, D.: Soft X-rays and Extreme Ultraviolet Radiation. Cambridge, Cambridge University Press 1999, s. 123 - 188. (ISBN: 0521-65214-6)
- [2] MALINA, R. Optická tomografie a rentgenová mikrotomografie. Brno, 2007. 96 s. Dizertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Vedoucí dizertační práce doc. Ing. Jozef Kaiser, Ph.D.
- [3] European Synchrotron Facility, Online na: [www.esrf.eu](http://www.esrf.eu)
- [4] WAGNER, V.: Urychlovače. Online na: <http://hp.ujf.cas.cz/~wagner/prednasky/subatom/experiment/urychlovace.html>
- [5] Středoevropská synchrotronová laboratoř – CESLAB, Online na: [www.ceslab.cz](http://www.ceslab.cz)
- [6] ELLIOTT, J. C. –DOVER, S. C. X-ray microtomography. J. Microscopy. 1982, vol. 126, s.211-213.
- [7] RADON J. Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten. Berichte über die Verhandlungen der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig. 1917, Jg. 69, s. 262–277.
- [8] FAVRETTO, S.: Applications of X-ray computed microtomography to material science: Devices and perspectives. Trieste, 2008, 168 s. Dizertační práce. Elettra Synchrotron Trieste, Vedoucí dizertační práce Dr. Lucia Mancini
- [9] Elettra, Trieste, Online na: [www.elettra.trieste.it](http://www.elettra.trieste.it)
- [10] KAISER, J. –REALE, L. –RITUCCI, A. –TOMASSETTI, G. –POMA, A. –SPANO, L. –TUCCI, A. –FLORA, F. –LAI, A: –FAENOV, A. –PIKUZ, T. –MANCINI, L. –TROMBA, G. –ZANINI, F.: Mapping of the metal intake in plants by large-field X-ray microradiography and preliminary feasibility studies in microtomography. *Europ. Phys. J. D* vol. 32, 2005, 113-118.

# Nové směry v RTG spektrometrii

T. Černohorský, Univerzita Pardubice

## 1 Úvod

Rentgenfluorescenční spektrometrie patří již několik desetiletí mezi zavedené instrumentální techniky. Dlouhou dobu tato technika vykazovala stabilní počet aplikačních možností, což bylo dáno jednak vyšší cenou komerčně dostupných spektrometrů a relativně omezeným počtem zásadních inovací. To se projevovalo také na relativně stabilním počtu publikovaných prací. K zásadní změně dochází až v posledních deseti letech, kdy se otevřely zcela nové aplikační možnosti XRF spektrometrie. Ty jsou dány hlavně následujícími třemi inovačními proudy:

- inovace vedoucí ke zcela novým možnostem XRF spektrometrie (XRF mikrofluorescence, 3D XRF tomografie, nové bezkalibrační postupy, ...).
- inovace hardware umožňující výrobu mobilních zařízení nové generace, které dosahují již parametrů dříve typických pouze pro laboratorní zařízení
- zásadní inovace hardware, které posouvají již známe techniky do zcela nových aplikačních možností, zde se jedná zejména o oblast XRF s totální reflexí (TR XRF)
- inovace vedoucí k prostému snižování ceny XRF spektrometrů

Z hlediska praktického rozšíření má asi největší význam posledně jmenovaný inovační trend – snižování ceny XRF spektrometrů. Příchod nových technologií a výrazné snížení ceny výpočetní techniky vedlo také k výraznému snížení ceny kvalitních XRF spektrometrů. Tím se tato technika stala ekonomicky výhodnou pro celou řadu aplikací, které byly dlouhodobě známy, nebyly ale používány pro vysokou pořizovací cenu spektrometrů. Jedná se zejména o masivní rozšíření XRF spektrometrie do oblasti analýzy životního prostředí, analýzy drahých kovů, do oblasti rutinní analýzy druhotných surovin, do kontrolní praxe při výrobě potravin, krmiv, plastů, pigmentů, kapalných i tuhých paliv, atd. Dalšího širokého rozšíření se metoda dočkala v kriminalistické, archeologické nebo restaurátorské analýze a zejména v armádních aplikacích, které jsou nezřídka „hnacím motorem“ inovací v oblasti miniaturizace zařízení.

## 2 Pokroky v komerční instrumentaci

### 2.1 Přenosné ED XRF spektrometry (Energiově-disperzní spektrometry)

Miniaturizace v oblasti mikroelektroniky a logaritmický nárůst výpočetního výkonu procesorů výrazně zasáhl i oblast rentgenfluorescenční analýzy. Již několik let se tak nabízejí možnosti výroby skutečně přenosných a vysoce výkonných spektrometrů. Určitý čas zabrala



ještě miniaturizace ostatních komponent ED XRF spektrometrů, ale v posledních pěti letech se běžně setkáváme s plnohodnotnými přenosnými spektrometry s váhou do tří kilogramů a převoznými systémy na úrovni laboratorních systémů s váhou do 10 kg!

Radionuklidy se používají jako budící zdroje již ve velmi omezené míře (pouze tam, kde se předpokládá nutnost dlouhodobého provozu bez zdroje elektrické energie nebo například pro stanovení nízkých koncentrací Cd v plastech) a jsou nahrazeny novými generacemi miniaturizovaných rentgenek o malém výkonu, ale zejména příkonu (velký důraz je kladen na jejich účinnost a tím zmenšení spotřeby energie) . Jako první se objevily miniaturní rentgenky f. Moxtek (USA) s výkonem 3.5 W (35kV a 100 $\mu$ A) a maximálním příkonem 8 W. Obrázek 1 ukazuje reálnou velikost rentgenky a speciální kompaktní zdroj, který byl také vyvinut pro tuto rentgenku. Díky příznivému tvaru a „end window“ konstrukci je možné minimalizovat vzdálenost mezi vzorkem, rentgenkou a detektorem a dosahovat tak přijatelných DL i při nízkém výkonu rentgenky. Tento typ rentgenky jako první otevřel cestu ke komerční výrobě kvalitních přenosných spektrometrů s buzením rentgenkou. V krátké době byla firma Moxtek následována ostatními výrobci (Niton, Oxford) s vlastními konstrukcemi miniaturizovaných rentgenek o nízkém příkonu. Již se úspěšně podařilo překonat i dříve limitující faktor těchto rentgenek - nižší maximální napětí (typicky 35 kV) a horší účinnost (40 – 60%). Nejnovější modely miniaturizovaných rentgenek se vyznačují rozměry menšími než 1 cm, max. příkonem až 50 kV a účinnostmi přesahující 80%, což je plně dostačující pro naprostou většinu analýz. Příkon rentgenky je stále limitujícím faktorem u přenosných zařízení, neboť představuje hlavní zátěž bateriových napájecích zdrojů. Přestože moderní spektrometry používají vysoce výkonné lithium-iontové nebo lithium-polymerové baterie, je doba použití spektrometrů bez zdroje elektrické energie omezena pouze na několik hodin.



Obr. 1: Miniaturizovaná „End Window“ rentgenka včetně vysokonapětového zdroje firmy MOXTEK (USA).

Dalšího výrazného pokroku se dosáhlo u detektorů, kdy do oblasti přenosných zařízení pronikly nové typy peltierovsky chlazených polovodičových detektorů (termoelektrické chlazení využívající Peltierova efektu). V předchozích letech se ojediněle objevovaly spektrometry s detektory na bázi CdZnTe, HgI<sub>2</sub>, v současné době se převážně používají různé typy Si PIN detektorů, není ale již výjimkou i použití SDD nebo QDD detektorů (viz dále), které poskytují lepší rozlišení a umožňují načítání vyšších toků (impulzů za vteřinu) a

tím výrazné zkrácení doby analýzy, což je u přenosných přístrojů velmi významné. Výrazný pokrok byl zaznamenán také v oblasti zesilovačů, AD převodníků a multikanálových analyzátorů. Zejména díky finanční podpoře z oblasti zbrojních a kosmických aplikací byly vyvinuty nové integrované obvody a specializované procesory umožňující umístění veškeré elektroniky ED (energiově-disperzního) spektrometru na jednu miniaturizovanou desku. Jako výpočetní systémy se zpočátku používaly specializované procesory, v současné době se takřka výhradně využívá komerčně dostupných „hand held“ počítačů s operačním systémem Windows Pocket PC (častěji) nebo Palm OS. Výpočetní výkon i velikost operační paměti (600 MHz procesory, 1 GB operační paměti) jsou již dostatečné i pro provádění bezkalibračních analýz na bázi nejmodernějších algoritmů. V řadě případů se tak tyto vpravdě „příruční“ spektrometry stávají plnohodnotnými analytickými systémy, zejména pokud nejsou kladeny nároky na nízké DL, případně vysokou přesnost kvantitativní analýzy.

## **2.2 Laboratorní ED XRF spektrometry**

Pokroky v této oblasti nepřinesly v posledních letech žádnou zásadní inovaci vedoucí k výraznému zlepšení vlastností spektrometrů, byly zaměřeny zejména na výrazné snížení ceny spektrometrů při alespoň částečném zachování vlastností velkých systémů vybavených SiLi detektory. Vznikla tak vlastně nová kategorie tzv. „stolních“ ED XRF spektrometrů, která měla zcela zásadní vliv na masové rozšíření XRF spektrometrie do nových aplikačních oblastí a která nabízí spektrometry zcela jiných vlastností než byla předcházející generace „stolních“ ED XRF spektrometrů používajících zpravidla plynově-proporcionální detektory a případně i buzení radionuklidů. Využitelnost těchto spektrometrů byla velmi limitována a byla v minulosti pro řadu uživatelů zklamáním, které vedlo k určité skepsi při použití stolních XRF spektrometrů v určitých aplikačních oblastech.

Nová generace stolních ED XRF spektrometrů je charakterizována zejména:

a) použitím detektorů o vysokém rozlišení. Nejčastěji jsou používány polovodičové detektory s peltierovským chlazením – v upořádání „Drift Chamber“ (SDD – Silicon Drift Chamber Detector) nebo SiPIN. Nejnověji se objevují spektrometry s tzv. QDD detektory (Quantum Dots Detektor), které jsou ale v podstatě pouze další inovační modifikací SDD detektorů. SDD a QDD detektory poskytují velmi dobré rozlišení (126 až 145 eV na MnKa), možnost akumulace vyšších toků fotonů a velmi dobrou citlivost pro středně těžké prvky. Zejména schopnost analyzovat vysoké toky (řádově až statisíce impulsů za vteřinu) je příčinou velmi širokého rozšíření těchto detektorů. Horší je citlivost pro těžké prvky, kdy vlivem malé tloušťky detektoru dochází ke snížení účinnosti záchytu nebo k průletu bez záchytu u fotonů o vysokých energiích. Pro některé prvky je snížena citlivost (Ag, Cd, ...) nebo je nutné prvky analyzovat pouze s využitím čar série L. Citlivost pro lehké prvky (S – Na) je omezena zejména tloušťkou použitého Be okénka a samozřejmě, jako u všech polovodičových detektorů, výrazně klesající účinnosti pro fotony nízkých energií. K dispozici jsou již také speciální typy detektorů, kde je Be okénko nahrazeno velmi tenkým polymerním filmem, čímž se podařilo rozšířit spektrum analyzovaných prvků až ke kyslíku. Jejich zásadní nevýhodou je velmi malá odolnost okénka detektoru, takže může snadno dojít k jeho zničení. V případě kontaminace povrchu okénka jej také není možné vyčistit. Druhou skupinu tvoří

různá konstrukční řešení SiPIN detektorů. Na rozdíl od „Drift Chamber“ detektorů, které se vyrábí prakticky pouze v kategoriích „high end“, se u Si PIN detektorů můžeme setkat s širokým spektrem detektorů, které na jedné straně pokrývá levné detektory s jednostupňovým chlazením a omezenou rozlišovací schopností (220 – 250 eV) až po špičkové detektory s dvojitým peltierovským chlazením, velkou tloušťkou detektoru a ultratenkými Be okénky na straně druhé. „High end“ SiPIN detektory tak dnes poskytují rozlišení od 140 do 170 eV a velmi dobrou citlivost od lehkých prvků až po středně těžké prvky (i Cd je ještě zachyceno se 100% účinností). Samozřejmě i v tomto případě je nutné celou řadu prvků analyzovat pouze na L čarách.

Z hlediska rozlišení a šířky analyzovaných prvků stále nejlepší vlastnosti nabízejí SiLi detektory, které ale vyžadují chlazení kapalným dusíkem a stále se pohybují ve vyšších cenových hladinách, kdy cena samotného detektoru často překračuje cenu celého ED spektrometru postaveného na některé z levnějších verzí SiPIN detektoru. Z těchto důvodů se u stolních spektrometrů setkáváme se SiLi detektorem zřídka a velmi často se jedná o některou z levnějších variant tohoto typu detektorů.

b) budící zdroje. I v této oblasti bylo dosaženo významných pokroků. Veškeré moderní stolní spektrometry používají jako budící zdroj rentgenku. Nejčastěji se používá „End Window“ uspořádání a rentgenky o malém příkonu se vzduchovým chlazením. V zásadě jsou dnes dva trendy v konstrukci budící části spektrometrů. Jednodušší se snaží o dosažení co nejužší geometrie rentgenka-vzorek-detektor s minimálními vzdálenostmi. Je tak možné použít rentgenku o velmi nízkém výkonu (3 – 20 W) a přesto je možné dosáhnout velmi dobrých detekčních limitů (DL). Výhodou těchto uspořádání je buď úplná absence pohyblivých dílů nebo jejich minimalizace (karusel s budícími terči nebo polarizátory mezi rentgenkou a vzorkem) a možnost fokusace záření na relativně malou plochu vzorku. Druhým trendem je použití polarizovaného budícího záření, případně sekundárního záření, které vzniká ozářením terče z vhodného materiálu. Výhodou tohoto řešení je výrazné snížení spojitého záření spektra, případně selektivní buzení pouze omezené skupiny prvků a tím snížení DL. Mezi rentgenkou a vzorkem musí být umístěn polarizační člen, nebo terč a je tak nutné používat rentgenky o větších výkonech (typicky 50 – 100 W) a zároveň je omezena možnost fokusace záření na menší plochu vzorku. Je nutné počítat také s tím, že v některých případech se prodlouží čas analýzy (vlastní analýza se skládá z několika částí, kdy jsou samostatně integrovány segmenty spektra buzené za různých podmínek). I v oblasti vysokonapěťových zdrojů rentgenek došlo k pokroku a nejmodernější spektrometry tak dnes nabízejí parametry typické pro velké stolní systémy (rozsah napětí plynule nastavitelný od 5 do 50 kV, proud nastavitelný od 0 do 100 % s krokem lepším jak 0.1 % včetně autooptimalizačních procedur). Některé modifikace spektrometrů dnes nabízejí také různé typy kolimátorů, které buď pouze omezují plochu kam dopadá záření rentgenky, nebo umožňují i částečnou fokusaci záření. V tomto uspořádání je pak možné selektivně budit rentgenfulorescenční záření z relativně malé plochy vzorku a provádět tak lokální analýzu.

c) dalšího výrazného zlepšení se dosáhlo i v oblasti zpracování signálu. Moderní procesory impulzů pracují v digitálním režimu, nabízí velmi krátké konverzní časy (až 1 uS) a velké

vyrovnávací paměti. Multikanálové analyzátoři běžně pracují s 4096 kanály, což je více než postačující pro detektory s rozlišením do 130 eV.

d) v oblasti software výbavy přístrojů dnes není prakticky žádný rozdíl mezi stolními ED spektrometry a velkými laboratorními systémy. Nejmodernější systémy nabízejí uživatelsky velmi příjemné balíky programového vybavení pracující pod nejmodernějšími platformami a nabízející široké spektrum možností analýzy spekter, následných manipulací se spektry, různých typů bezkalibračních analýz (viz. dále) a v některých případech i plnohodnotné balíky klasické kvantitativní analýzy postavené na vícenásobné regresní analýze.

V oblasti „velkých“ laboratorních ED spektrometrů nedošlo v posledních letech k žádné zásadní inovaci. I v této oblasti se významně prosazují SDD a QDD detektory, které již ve většině případů nahradili SiLi detektory. SiLi detektory (ať již chlazené dusíkem, nebo vícenásobnými peltierovskými články) o velké ploše a dostatečné tloušťce, poskytující rozlišení až 120 eV, velmi dobrou citlivost a mají ale nižší schopnost akumulace vysokých toků fotonů. Setkáváme se tak s nimi pouze u některých „high end“ modelů, někdy i v kombinaci s Ge detektory pro přímou detekci fotonů o vysoké energii (K čáry těžkých prvků). Špičkové spektrometry jsou vybaveny výkonnými rentgenkami a systémy pro polarizované i „targetové“ buzení vzorku, v nejmodernějším uspořádání pak v 3D geometrii snižující dále úroveň pozadí. Pro řadu aplikací se tak staly skutečně kvalitní alternativou vlnově disperzním systémům, bohužel se ale těmto systémům přiblížily i svoji cenou (v některých případech ji i překračují) a jejich uplatnění je ekonomické pouze tam, kde jsou kladeny nároky na vysokou rychlost při plně multielementární analýze a současně se nevyskytují závažné spektrální interference (analýza biologických vzorků, potravin, analýza některých vzorků životního prostředí, analýza vzdušných aerosolů, atd.).

### **2.3 Vlnově-disperzní přístroje (WD XRF spektrometry)**

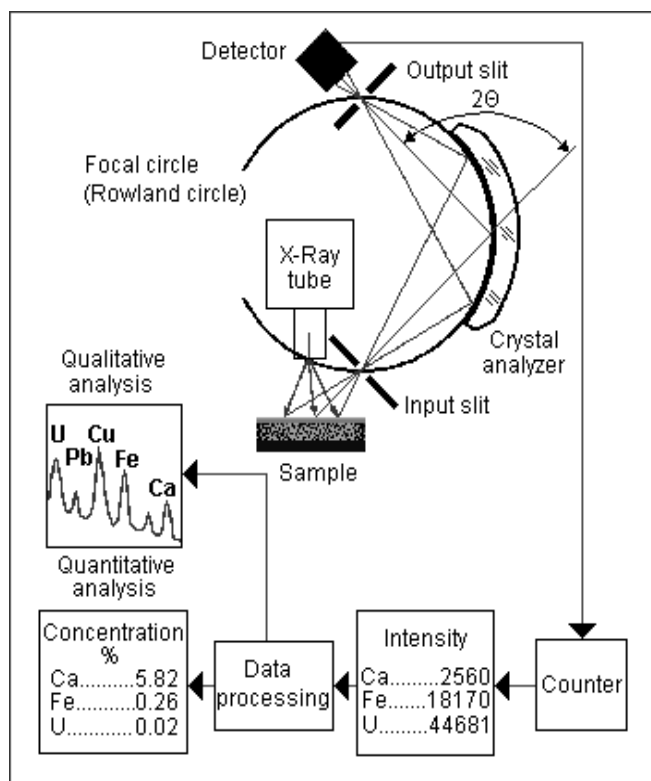
V oblasti vlnově-disperzních přístrojů je možné zaznamenat čtyři trendy:

- *výroba specializovaných stolních vlnově-disperzních systémů* – jde zpravidla o jednoúčelové spektrometry pro analýzu S, Cl nebo i dalších halogenidů v petrochemických produktech. Kombinují polarizační buzení (viz. kapitola o ED XRF spektrometrech) s vlnově-disperzním uspořádáním nastaveným pouze pro jeden prvek. Dosahuje se tak velmi nízkých detekčních limitů, při zachování požadavků na vysokou rozlišovací schopnost (DL okolo 0.1 ppm).

- *výroba malých stolních vlnově disperzních spektrometrů* s velmi dobrým rozlišením, nízkou cenou a omezeným rozsahem analyzovaných prvků. Tyto spektrometry jsou reakcí na výrobu stolních ED XRF spektrometrů, které otevřely cestu XRF i do laboratoří kde dříve bylo nasazení této techniky neekonomické. Používají se zejména tam, kde v důsledku neřešitelných spektrálních interferencí není možné použít stolní ED spektrometry (analýza stopových obsahů v přítomnosti vysoké koncentrace rušícího prvku, analýza směsí vzácných zemin, ...).

Typickým příkladem takového řešení je spektrometr, který používá samofokusující optiku v Johansonově uspořádání (obr. 2). Spektrometr používá pouze jeden krystal (LiF 200) a pracuje tak v rozsahu prvků od Ca po U s tím, že prvky od Mo po Sb jsou analyzovány pouze

v druhém řádu spektra. Nízkopříkonová rentgenka (4 W) i vstupní štěrbinová optického systému jsou umístěny v těsné blízkosti vzorku. Díky samfokusující optice odpadá nutnost použití kolimátorů a dosahuje se tak velmi vysoké energetické prostupnosti (o více jak dva řády ve srovnání s tradičními systémy). Mechanismus goniometru zajišťuje během záznamu spektra pohyb jak detektoru tak i krystalu a je tak možné i při malých rozměrech dosáhnout velmi dobrého rozlišení (60 eV na MnKa v prvním řádu spektra a 30 eV ve druhém řádu) i reprodukovatelnosti nastavení vlnových délek (krok 1 mÅ s přesností 0.1 mÅ). Spektrometr je osazen speciálním typem zataveného plynově-proporcionálního detektoru s diskriminátorem výšky a dvoukanálovým zpracováním impulzů, takže je simultánně prováděn záznam ve dvou řádech spektra. Máme tak k dispozici sekvenční WD XRF systém s omezeným rozsahem prvků, který nabízí pro velkou část prvků DL na úrovni jednotek  $\text{mg.kg}^{-1}$  a to i pro spektrálně komplikované matrice, tedy typické výhody WD XRF spektrometrů. Další velkou výhodou je výrazně menší vliv kvality přípravy vzorku (viz. dále) a nízké energetické zatížení vzorku, spektrometr je tak vhodný i pro analýzu termicky nestabilních vzorků.



Obr. 2: Schéma uspořádání stolního vzduchového skenujícího WD XRF spektrometru Spectroscan MAKC G.

- *druhým trendem je snaha o výrobu malých plnohodnotných WD XRF systémů, které svoji cenou budou konkurovat ED XRF spektrometrům při zachování výhod WD XRF systémů.* Touto cestou se dnes ubírá většina tradičních výrobců WD XRF spektrometrů. Došlo k vylepšení optických systémů, detektorů a elektroniky, takže je možné konstruovat i tradiční plnohodnotné spektrometry s rentgenkami o nižších příkonech (typicky 600 W ale i 40 W!) a docílit tak kompaktních rozměrů při snížení ceny. V některých případech se pak nabízejí i kompromisní spektrometry určené spíše pro určitý typ aplikace za velmi zajímavé ceny. V zásadě je ale možné konstatovat, že se na trh dostaly spektrometry s velmi dobrým rozlišením a vynikající citlivostí pro lehké prvky (až po B) s cenami na úrovni velkých laboratorních ED XRF systémů. Samostatnou kategorií tvoří v této oblasti pak spektrometr, který používá samofokusující optický systém popsaný výše, s tím rozdílem, že se jedná o vakuový spektrometr osazený pěti krystaly a 250 W rentgenkou speciální konstrukce. Vzorkový prostor je permanentně oddělen od vakuové části spektrometru ultratenkým Be okénkem (5  $\mu\text{m}$ ) a vzorek je tak vždy umístěn na vzduchu. Spektrometr pracuje v rozsahu prvků od Na po U a je konstruován jako skutečná alternativa k ED spektrometrům, neboť nabízí nízké energetické zatížení vzorku a malý vliv úpravy vzorku (rozptýlené záření na částicích vzorku prochází vstupní štěrbinou a ohnutým krystalem v Johansonově uspořádání je opět fokusováno na detektor), což jsou typické výhody ED spektrometrů. Navíc ale nabízí velmi vysoké rozlišení (9 eV na Si  $K\alpha$ ), možnost analýzy lehkých prvků v kapalných vzorcích bez nutnosti použití He (DL pro S je  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  i když je vzorek umístěn na vzduchu) a vynikající DL i pro spektrálně velmi složité vzorky – tedy veškeré výhody WD XRF spektrometrů.

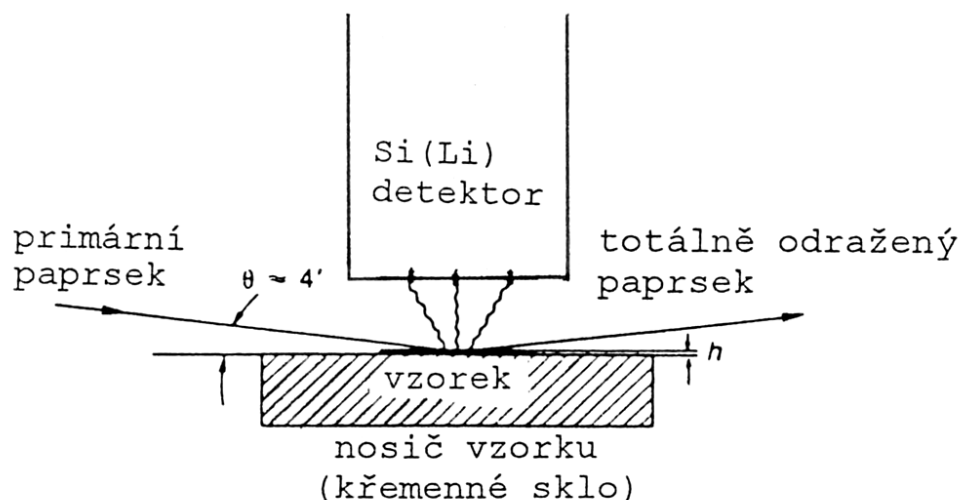
- *třetím trendem je výroba maximálně sofistikovaných „velkých“ laboratorních systémů.* V této oblasti se jedná zejména o možnosti „mapování“ vzorků (měření s malými kolimátory a motorizovaným posunem vzorku), další zlepšení v konstrukci opticky a detektorů vedoucí ke zkrácení času analýzy, měření tloušťky vrstev v závislosti na natočení vzorku, možnosti analýzy oxidačních stavů u spektrometrů s velkým rozlišením, atd.

#### **2.4 Spektrometry s totální reflexí (TR XRF)**

Tato technika je jednou z variant energiově-disperzní XRF (obr. 3). Vzorek je nanesen ve formě velmi tenkého filmu na vyleštěný, dokonale rovný nosič. Fokusovaný rentgenový paprsek z rentgenky dopadá na opticky rovný povrch nosiče pod úhlem menším než je úhel kritický a je totálně odražen (reflektován). Vzorek je ionizován a emituje rentgenfluorescenční záření, které je detegováno Si(Li) detektorem umístěným těsně nad vzorkem. Běžně používané materiály pro nosiče jsou velmi čistý křemík, germanium, skelný uhlík nebo akrylát Perspex.

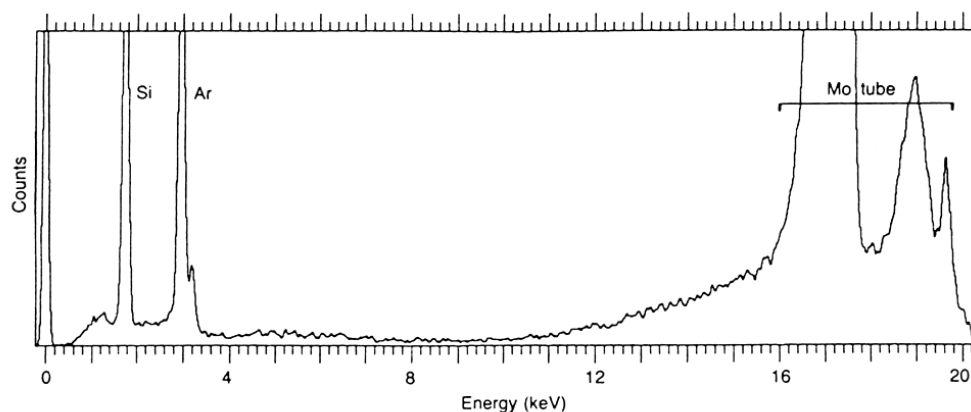
Velikost kritického úhlu je závislá na materiálu nosiče a vlnové délce záření. Pro Mo  $K\alpha$  a Si nosič je kritický úhel 1.79 mrad (6.1 minuty). Hloubka penetrace rentgenova záření je závislá na úhlu dopadu záření. Pro Si nosič a Mo  $K\alpha$  to je 1  $\mu\text{m}$  ( $1^\circ$ ) až 100  $\mu\text{m}$  ( $45^\circ$ ). Pro totální reflexi je však hloubka penetrace pouze 3 nm! Vzorek se tak chová jako extrémně slabá folie a rozptýlené záření je minimální. To vede ke snížení pozadí a výraznému zlepšení detekčních limitů. Podmínkou pro uskutečnění totální reflexe je, aby vzorek byl ve

formě velmi tenkého filmu. Ve spektru budícího zdroje je nutné také potlačit vysokoenergetické spojité spektrum, protože to by penetrovalo do větší hloubky nosiče, a v důsledku rozptylu záření by zvyšovalo spojité pozadí spektra. K tomu se u tradičních spektrometrů používá buď jednoduchých nebo dvojitých křemenných reflektorů rentgenova záření, které se umísťují mezi rentgenku a vzorek (nevýhodou jsou velké ztráty záření a nutnost použití rentgenek o velkém výkonu). Nejnovější spektrometry používají jednoduché nebo dvojitě samofokusuující monochromátory se synteticky připravenými ML (multilayer) krystaly.



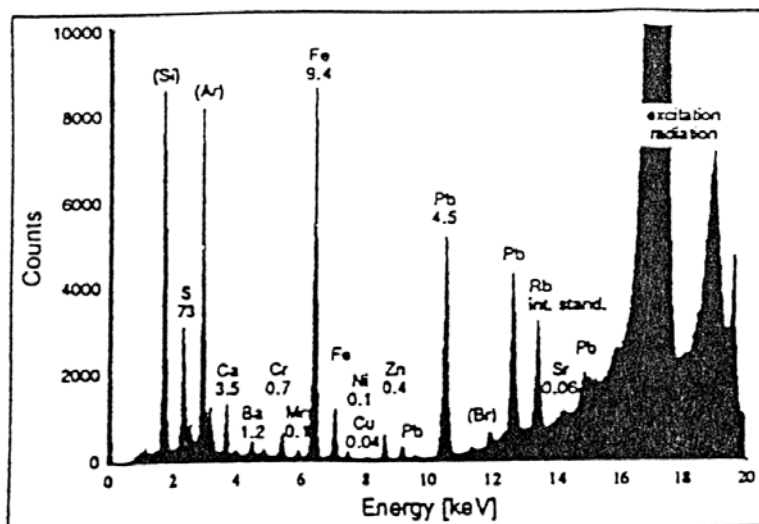
Obr. 3: Základní schéma metody TRXRF

Jak ukazuje obr. 4 spektrum kromě píku Si (nosič), Ar (z ochranné atmosféry) a Mo (rentgenka) vykazuje velmi nízké pozadí, což vede k vynikajícím detekčním limitům metody. Absolutní detekční limity se pro 1000 s akumulaci spektra pohybují mezi 2 až 10 pg pro velký počet prvků. Při dávkování 50  $\mu\text{l}$  vodného roztoku, jeho vysušení a následné analýze to odpovídá koncentracím 40-200  $\text{ng.l}^{-1}$ . Protože vzorek je ve formě velmi tenkého filmu, vlivy matrice prakticky nehrají roli a kvantitativní analýza je velmi jednoduchá. Ke vzorku se přidá jeden element ve známé koncentraci, který se ve vzorku nevyskytuje, jako vnitřní standard a k němu je vztažen přepočten kalibračních závislostí všech ostatních prvků.



Obr. 4: TRXF spektrum čistého Si-disku získané na spektrometru firmy Atomika Německo)

TRXRF je nejčastěji používána pro analýzu velmi čistých přírodních materiálů jako jsou srážkové vody a pitné vody. Analýza biologických materiálů a aerosolů je možná pouze po předchozí totální mineralizaci. Poměrně rozšířená je také kontrola kvality velmi čistých technologických produktů, jako je superčistá voda, velmi čisté kyseliny a rozpouštědla. Speciální aplikací je kontrola čistoty povrchu materiálů pro výrobu mikroprocesorů. Obr. 5 ukazuje spektrum vzorku srážkové vody s intenzitami přepočtenými na koncentrace.



Obr. 5: TRXRF spektrum srážkové vody. Hodnoty koncentrace jsou v  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Rb bylo použito jako vnitřní standard. Spektrometr Atomika Extra IIA (Německo).

Vzhledem k výrazným pokrokům v oblasti nanostrukturálních materiálů a fokusovaných svazků s polykapilárními optikami (viz. dále) se v posledních dvou letech začínají objevovat i levné a malé komerčně dostupné systémy pro TRXRF využívající rentgenky o nižších výkonech (do 500 W) s poněkud horšími detekčními limity (desetiny až jednotky  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ). Díky relativně malým rozměrům a malému příkonu jsou tak ideální pro nasazení v mobilních laboratořích, například při rychlé kontrole kontaminace pitných vod.

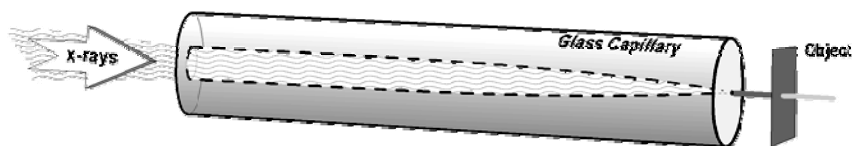
## 2.5 Rentgenová mikrofluorescenční spektrometrie

Tato technika využívá fokusace záření rentgenky na malou plochu, což umožňuje provádění lokální analýzy, případně mikroanalýzy malých množství vzorku, které bylo doposud typické zejména pro elektronovou mikroskopii. Oproti této technice ale nabízí výrazně lepší citlivost analýzy (zejména středně těžkých prvků) a větší hloubku analýzy (informace přichází z větší hloubky vzorku a analýza je tak méně povrchově závislá). Vzorek dále není nutné před analýzou upravovat (napařovat vodivou vrstvu).

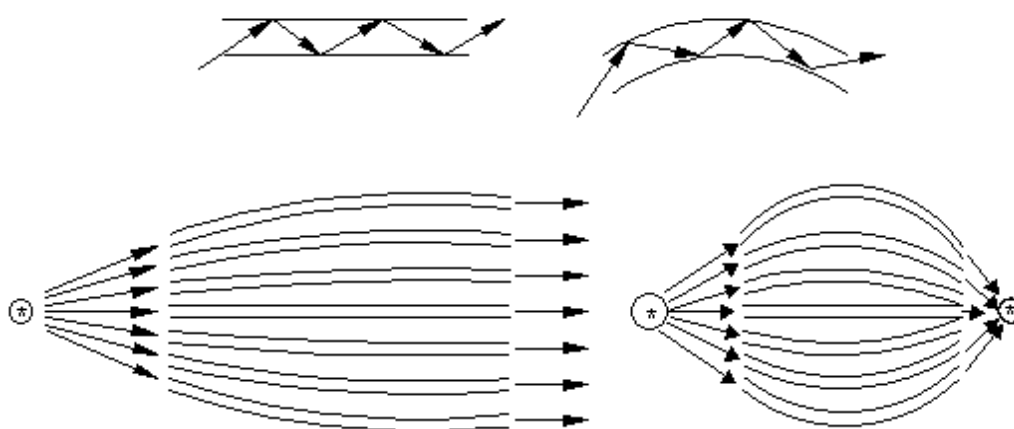
K fokusaci záření se používají takzvané kapilární optiky. Nejjednodušší je použití monokapiláry (obr. 6). Záření z rentgenky vstupující do skleněné kapiláry pod menším než kritickým úhlem je reflektováno (stejný princip jako TRXRF spektrometrie) a je tak vedeno bez větších ztrát kapilárou. V případě zúžené kapiláry je díky postupnému zúžení záření fokusováno z průměru 0.5 až 1 mm na relativně malou plochu vzorku (5 - 10  $\mu\text{m}$ ) a dosahuje



se tak velmi vysokého toku (zesílení o dva až tři řády) rentgenového záření, takto vysoké hustoty toku byly doposud typické pouze pro synchrotronové záření (viz. dále). Další možností je použití polykapilární optiky (obr. 7), které dále zvyšuje účinnost fokuse a hlavně klade podstatně menší nároky na rentgenku, resp. kvalitu svazku produkovaného rentgenkou.



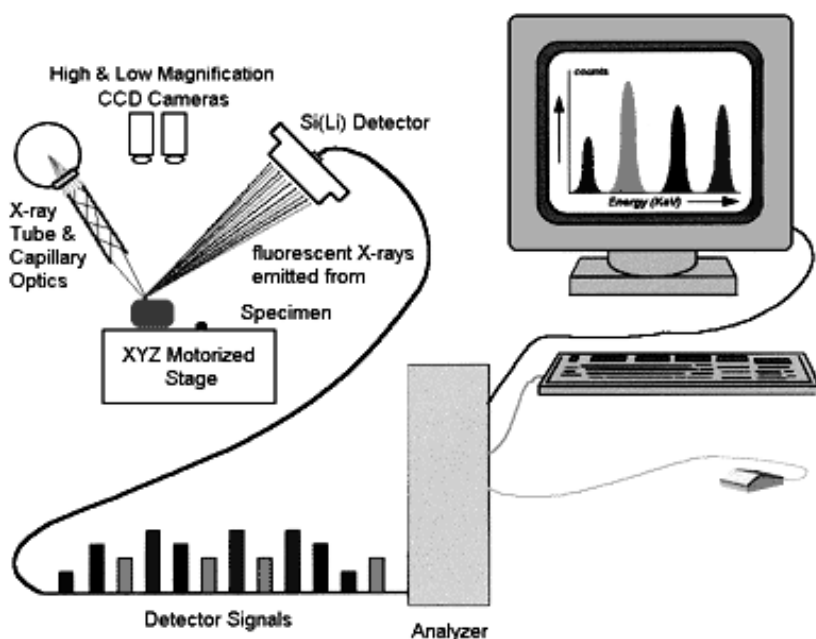
Obr. 6: Schéma tzv. „tapered“ monokapilární XRF optiky



Obr. 7: Schéma funkce polykapilární XRF optiky

Hlavní aplikační pole pro mikrofluorescenční spektrometrii je v rentgenových mikroskopech. Schéma typického rentgenového mikroskopu je na obr. 8. Záření z rentgenky je fokusováno buď monokapilárou nebo polykapilárou na malou plochu vzorku. Měřené místo je možné zobrazit s pomocí integrovaného optického mikroskopu. Vybuzené rentgenfluorescenční záření je analyzováno zpravidla SiLi nebo SDD detektorem. Díky motorizovanému XYZ posunu vzorku je možné jednak měnit velikost ozařované plochy (posunem v ose Z) a také provádět plošné analýzy (skenování v osách X a Y). Některá zařízení jsou vybavena i detektorem umístěným pod vzorkem pro měření absorpčních rentgenových spekter tenkých vzorků.

Další aplikací je mikroanalýza, byly publikovány absolutní detekční limity nižší než  $10^{-13}$  g pro přechodné prvky. Kapilární optiky nacházejí v poslední době také významné uplatnění u přenosných XRF spektrometrů, kdy výrazně zlepšují účinnost buzení při použití nízkovýkonových rentgenek (fokusují záření na vzorek).



Obr. 8: Základní funkční schéma XRF mikroskopu Eagle II firmy EDAX.

## 2.6 Pokroky v oblasti bezkalibrační analýzy

S rostoucím počtem aplikací XRF spektrometrie stoupá význam bezkalibrační analýzy, což je v řadě případů způsobeno malým počtem dostupných standardů pro klasickou empirickou kalibraci a jednak tím, že bezkalibrační analýza umožňuje eliminovat vliv geometrie vzorku (zakřivení povrchu), zejména u kovových vzorků (jedná se o poměrovou metodu). V komerční sféře jsou zatím stále nejčastěji používány algoritmy založené na metodě fundamentálních parametrů (FPM). Problematika bezkalibrační analýzy se významně liší pro WD a ED XRF. V oblasti WD XRF je nejrozšířenějším systémem nadále software Uniquant, vysoce je ale hodnocen software firmy Rigaku a nový FPMII ruských autorů. Z publikovaných dat vyplývá, že WD XRF je zatím jednoznačně lepší platformou pro čistě matematické použití bezkalibrační analýzy pokud jsou analyzovány i lehké prvky (silikátová analýza, ...). V případě ED spektrometrů je pro zpřesnění výsledků v řadě případů nutné vnášení dalších korekčních faktorů specifických pro příslušnou matici. To je pravděpodobně dáno jednak výrazně horší rozlišovací schopností pro lehké prvky a tím pádem vnášením chyby způsobené dekonvolucí spektra a jednak složitější povahou spektrálního pozadí spektra, zejména tehdy, analyzují-li se relativně malé obsahy v přítomnosti vysoké koncentrace spektrálně blízkého prvku.

V oblasti ED XRF je k dispozici velký počet programů pro bezkalibrační analýzu a vývoj se soustředil zejména do dvou oblastí – zlepšení analýzy spektrálních dat před vlastní FPM analýzou a modifikace vlastní metody FPM. Pro zlepšení analýzy spektrálních dat jsou využívány nové chemometrické výpočty, zejména pak ve spojení s novou generací spektrometrů poskytujících velmi nízké směrodatné odchylky (vysokou přesnost měření). V oblastech modifikací FPM se prosazují nové iterační postupy, například adaptivní metoda s vícenásobnou iterací. V každém kroku jsou modifikovány konstanty popisující samoabsorpční

a koexcitační efekty a je vypočtena syntetická funkce popisující tvar spektra. Následně je porovnán skutečný tvar s vypočteným a jsou patřičně upraveny konstanty pro další iteraci. Takovýto systém poskytuje vysokou přesnost analýzy pokud jsou analyzovány vzorky obsahující pouze středně těžké a těžké prvky (u majoritních prvků běžných slitin na úrovni 0.3%). Další zpřesnění metody je možné optimalizací databáze konstant pro individuální typ slitiny. V takovém případě je možné dosahovat přesnosti analýzy na úrovni 0.1%, což je významné například při analýze slitin drahých kovů. Žádná z běžných FPM metod u ED spektrometrů ale není schopná poskytnout správné výsledky v širokém rozsahu koncentrací pro některé kritické vzorky (zpravidla tam, kde se jedná o dva sousedící prvky), příkladem může být analýza slitin Pt a Au nebo Pt a Ir. Řešení nabízí pouze postupy, které kombinují metodu FPM s metodou empirických modelů. V prvním kroku se provede kompletní analýza metodou FPM. Výstupem z této analýzy jsou koncentrace nezatížené geometrií vzorku, které ale mohou být zatíženy chybou vlastní metody FPM. Druhým krokem je aplikace vícenásobné postupné regresní analýzy, kde vstupem regrese nejsou intenzity čar ve vzorku ale již koncentrace získané metodou FPM. Tímto postupem je možné dosáhnout významného zpřesnění i u extrémních matic. Oproti klasické empirické analýze jsou zde ale dva zásadní rozdíly. Je kompletně eliminován tvar geometrie vzorku a je možné také analyzovat materiály s nečistotami neobsaženými v kalibračním modelu. Ty prvky, které nejsou obsaženy v regresním modelu jsou vyhodnoceny pouze metodou FPM a jejich koncentrace je dopočtena do normalizace na 100%. Například u materiálů PdPtRh (prvky obsažené v regresi) je možné analyzovat také Ru s chybou lepší než 0.12 % (pro obsahy do 5% Ru).

### 3 Pokroky v experimentální sféře

V oblasti vývoje a výzkumu se pozornost v posledních letech soustředila zejména na následující oblasti:

#### *Využití synchrotronového záření pro XRF spektrometrii*

Synchrotronové záření je emitováno nabitými částicemi, které se pohybují relativistickou rychlostí po kruhové dráze. Pouze elektrony a pozitrony je možné urychlit na tak velké rychlosti, aby intenzita synchrotronového záření byla dostatečná. Dostává se tak dokonale polarizované záření v rozsahu od infračervené oblasti až po rentgenovské oblasti spektra, které např. pro rentgenovskou oblast dosahuje až o dva řády vyšších intenzit než jiné dostupné zdroje, proto je možné ho kombinovat s monochromátory a provádět buzení monochromatickým zářením. Tento typ buzení umožňuje analýzu rozměrově velmi malých a tenkých vzorků s vynikajícími detekčními limity ( $10^{-14}$  -  $10^{-10}$  g). Protože toto buzení vyžaduje velmi výkonné urychlovače částic, používá se tato metoda pouze pro speciální výzkumné účely.

#### *TRXRF*

Velký počet prací je také věnován aplikacím z oblasti TRXRF spektrometrie a dalšímu vývoji této techniky. Nejzajímavější práce v posledních letech byly věnovány měření tloušťky a složení velmi tenkých vrstev a použití vlnově-disperzních spektrometrů v TRXRF. Při měření tloušťky a složení velmi tenkých vrstev se využívá změny úhlu dopadajícího záření. Změnou úhlu je možné měnit hloubku penetrace budícího záření. Použití vlnově-disperzních

spektrometrů dále vedlo ke snížení detekčních limitů techniky vlivem dalšího snížení spojitého záření spektra.

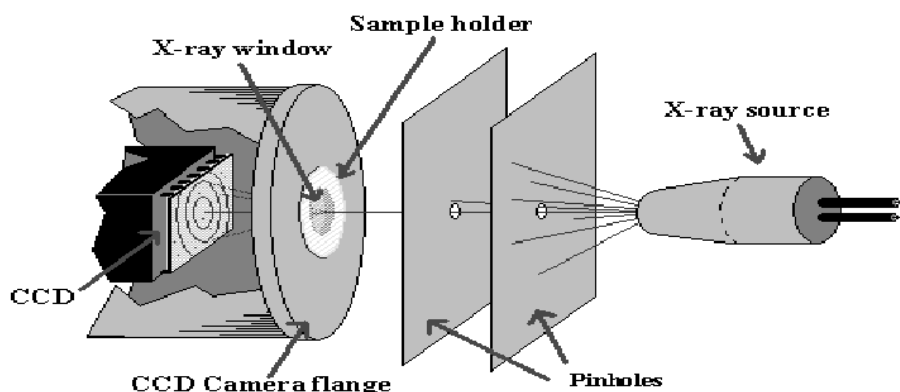
### *Mikrofluorescence*

Mnoho prací je věnováno také vývoji nových kapilárních a zejména polykapilárních optik a optimalizaci systémů pro lepší zobrazovací schopnosti a rozšíření použitelných budících energií. Samostatnou aplikací je pak 3D mikrofluorescenční tomografie, která využívá polykapilární optiky jednak k prostorově přesně lokalizované excitaci a zároveň je tato technika aplikována i před vlastní detektorem a umožňuje prostorově selektivní snímání vzniklého XRF záření. Technika tak poskytuje 3D prvkové obrazce například u malých biologických objektů, je například možné sledovat kumulaci různých prvků v organismech jako je *Daphnia magna*.

### *Detektory s vysokým energetickým rozlišením*

V oblasti detektorů se největší pozornost soustřeďuje na vývoj nových typů detektorů, které nabízejí vysoké energetické rozlišení. Většina těchto zařízení je postavena na principu mikrokalorimetrů a vyžaduje použití velmi nízké teploty (méně než 300 mK). Nejnadějněji se jeví tzv. STJ (superconducting tunnel junction) detektory u kterých bylo dosaženo již rozlišení 13 eV při energii 6 KeV. Praktické uplatnění těchto detektorů je zatím minimální v důsledku přetrvávajících velkých technických problémů. V oblasti tradičních SiLi detektorů se publikované práce zaměřují zejména na vývoj nových matematických modelů popisujících děje v detektoru, které by umožnily další zlepšení vlastností těchto detektorů. V oblasti SiPIN detektorů dochází k intenzivnímu vývoji vedoucímu zejména k zlepšení účinnosti detektorů v oblasti vyšších energií, toho se dosahuje buď zvýšením tloušťky detektoru nebo výrobou nových typů materiálů s určitým obsahem germánia. Velmi významné jsou pokroky v plošných detektorech, které jsou tvořeny polem samostatných ED detektorů. Hlavní aplikační pole bylo doposud v astronomii, firma MOXTEK ale vyrobila experimentální spektrometr umožňující simultánní měření jak rentgenfluorescenčních spekter tak i difrakční analýzu. Funkce přístroje je zřejmá z obr. 9.

#### **A Simultaneous X-ray Diffraction (XRD) and X-ray Fluorescence (XRF) Small Instrument for the Microanalysis of Rocks and Minerals**



Obr. 9: Funkční schéma simultánního mini XRF a XRD spektrometru firmy MOXTEK.

### *Zpracování spekter a bezkalibrační analýza*

V oblasti nových postupů matematického zpracování spekter se pozornost soustřeďuje na moderní chemometrické postupy doposud více využívané v jiných oblastech spektrální analýzy (zejména NIR) jako jsou neuronové sítě a genetické modely. Pro vyhodnocení komplexních informací z XRF spekter byly použity také metody PLS nebo PCR.

#### **4 Závěr**

Z výše předložených informací vyplývá, že XRF spektrometrie se v posledních letech opět stala dynamicky se rozvíjející analytickou technikou s vysokým počtem nových aplikací nejen v oblasti výzkumu, ale zejména v oblasti běžné laboratorní praxe. Hovorově je možné říci, že tato technika „chytila druhý dech“ a po mnoha letech stagnace zažívá výrazný rozvoj. Tento trend můžeme pozorovat i v České republice, kde v posledních několika letech také došlo k výraznému nárůstu počtu instalovaných spektrometrů.

# Nejistoty analytických metod

*Přemysl Lubal*

*Ústav chemie, oddělení analytické chemie, Přírodovědecká fakulta*

*Masarykova univerzita Brno*

*Kotlářská 2, 61137 Brno*

Každý měřicí proces, který probíhá v analytické chemii a produkuje výsledky (např. stanovení koncentrace analytu), je zatížen různými chybami. Tyto chyby, které mohou být různého původu a projevují se během měřicího procesu, jsou buď náhodné nebo mají systematický charakter plynoucí většinou z podstaty měření, a přispívají k celkové neurčitosti. Hodnota výsledků stanovení je spolu s informací o přispěvcích jednotlivých chyb vyjádřena jako **celková nejistota výsledku měření**. Je plnohodnotným údajem o výsledku analýzy, jak je deklarováno moderní analytickou chemometrií ve shodě s mezinárodními organizacemi (**EURACHEM** – An **E**uropean Focus for **A**nalytical **C**hemistry, **IUPAC** – **I**nternational **U**nion for **P**ure and **A**ppplied **C**hemistry, **ISO** – **I**nternational **S**tandardisation **O**rganisation, aj.). V neposlední řadě se ukazuje, že znalost této informace je vyžadována jak zadavateli, tak analytickými laboratořemi.

Podle výše uvedených organizací pak platí i definice nejistoty jako „odhad přiřazený k výsledku měření (zkoušky) a charakterizující interval hodnot, o němž se tvrdí, že uvnitř něho (s předem známou pravděpodobností) leží skutečná hodnota měřené veličiny“ [1, 2]. Jiná definice uvádí, že nejistota je parametr přidružený k výsledku měření, která charakterizuje míru rozptýlení hodnot, které by mohly být původně přisuzovány měřené veličině. Jako doplněk dříve uvedené definice je nutné ji opatřit několika vysvětlujícími poznámkami. Tento parametr může vycházet buď z definice směrodatné odchylky nebo intervalu spolehlivosti a lze ji rozložit na základě statistického rozdělení využívající výsledků série opakovaných měření (nejistota typu A), které lze popsat směrodatnou odchylkou. Jak bude ukázáno později, naopak pro nejistotu typu B se pak vybírá rozdělení na základě zkušenosti neměřené (v experimentu nesledované) hodnoty (většinou se používá rovnoměrné nebo trojúhelníkové rozdělení), které se používají pro hodnoty uvedené v certifikátu nebo jiné specifikaci bez udání úrovně hladiny významnosti (např. objem odměrné baňky  $25,00 \pm 0,05$  ml udávaný výrobcem). Také lze využít již dříve známých dat pocházejících z validace metod.

Doporučený postup vyhodnocení nejistoty měření je proto uveden v různých zdrojích, mj. příručce EURACHEM [1,2], která je český překladem anglické příručky [1] a uvádí, že „vyhodnocení nejistoty není ani rutinní prací ani čistě matematickou záležitostí, ale závisí na detailní znalosti podstaty měřené veličiny, metody měření a použitého postupu. Kvalita a užitečnosti nejistoty uváděné s výsledkem měření tedy zásadně závisí na pochopení, kritické analýze a souladu všech těch, kteří se podílejí na určení její hodnoty“ [1-3]. Celý postup pak vyžaduje:

- odborné pochopení významu nové veličiny v definičních vztazích,
- detailní znalost analytického procesu,
- schopnost používání chemometrických nástrojů,
- výběr vhodné metodiky výpočtu,
- mít zkušenosti a informace pro posouzení reálnosti získané hodnoty nejistoty.

Podrobnější postup je pak uveden dále v textu, doporučený postup odhadu nejistoty může být následující – viz Obr.1.



**Obr. 1:** Postup odhadu nejistoty

V prvním kroku specifikace je nutné si definovat předmět měření, pak kvantitativní vztah, který vyjadřuje závislost hodnot měřené veličiny na vstupních parametrech, jež mohou být měřené veličiny, konstanty nebo kalibrační standardy, když pak všechny jsou zdrojem nejistoty.

Dalším krokem je identifikace zdrojů nejistot. Předpokládejme, že chybu určitého analytického měření lze rozepsat jako

$$x = X + \delta(\text{metoda}) + \delta(\text{laboratoř}) + \delta(\text{série}) + \varepsilon \quad (1)$$

kde  $X$  je skutečná hodnota měřené veličiny,  $\delta(\text{metoda})$  odchylka metody,  $\delta(\text{laboratoř})$  odchylka laboratoře,  $\delta(\text{série})$  odchylka v rámci série měření a nakonec  $\varepsilon$  je náhodná chyba měření. V normální analytickém postupu není skutečná hodnota  $X$  známa, ale je odhadnuta jako výsledek  $\underline{x}$ , pro který je definována neurčitost ve formě směrodatné odchylky chyby metody  $u_b$ . Pak platí pro kombinovanou nejistotu stanovení:

$$u(x) = \sqrt{u_b^2 + \sigma^2(\text{laboratoř}) + \sigma^2(\text{série}) + \sigma_\varepsilon^2} \quad (2)$$

Úkolem hledání zdroje nejistot je pak identifikace jednotlivých příspěvků a stanovení jeho příspěvku k celkové kombinované nejistotě. Většinou využíváme standardního operačního postupu (SOP), kdy uvažujeme jako potenciální zdroje nejistoty, *např.* vzorkování, podmínky skladování, vlivy přístrojů (správnost kalibrace přístrojů), čistota chemikálií, neúplnost využívané chemické reakce, experimentální podmínky měření (teplota, vlhkost), stabilita vzorku, vliv operátora a výpočtu, korekce na slepý pokus, *aj.* Velmi výhodné je grafické znázornění pomocí Ishikawova diagramu příčin a následků („fish-bone diagram = diagram rybí kostí“ (viz *např.* Obr. 4), který se konstruuje na základě SOP. Často je výhodné analytický proces rozdělit do bloků a vyhodnocovat nejistoty těchto vybraných bloků, které pak probíhají ve formě kalibračních smyček. Tento rigorózní „zdola-nahoru“ (složka po složce) postup využívá komplexního matematického modelu, kdy každý příspěvek je vázán na určitou proměnnou, která se vyhodnotí, a ty se pak slučují do celkové nejistoty. Naopak empirický „shora-dolů“ postup využívá vnitřních zdrojů laboratoře o přesnosti a správnosti, *event.* údajů z mezilaboratorních testů zkušebních laboratoří, které využívají referenčních materiálů (RM):

$$U = \sqrt{U_A^2 + U_{RM}^2 + \Delta^2} \quad (3)$$

kde  $U_A$  je nejistota typu A,  $U_{RM}$  je nejistota referenčního materiálu a  $\Delta$  je rozdíl mezi naměřenou a deklarovanou hodnotou. Tyto nejistoty pocházející z validačních studií, které pak v sobě zahrnují nejistotu deklarované hodnoty RM, reprodukovatelnost měření RM, rozdíly mezi naměřenou a deklarovanou hodnotou RM, rozdíl mezi složením vzorku a RM a v neposlední řadě operace prováděné se vzorkem, ale ne s RM. William Horwitz se v osmdesátých letech zabýval reprodukovatelností výsledků, kdy analyzoval téměř 7000

mezilaboratorních porovnání během posledních 100 let a získal přibližný vztah pro výpočet relativní směrodatné odchylky jako funkce koncentrace [4]:

$$\text{RSD} (\%) = 2^{(1-0,5 \log C)} \approx 2C^{(-0,1505)} \quad (4)$$

Jak je z výše uvedeného vztahu patrné, tak neurčitost stanovení je pro stanovení makro- a mikrokoncentrací prakticky srovnatelná. Pro klesající koncentraci analytu stoupá velmi výrazně neurčitost zejména v případě stopových analýz, kdy je nutné brát v potaz tento významný fakt. Přibližný vztah (4) slouží pouze pro řádové zhodnocení nejistoty konkrétního postupu v laboratoři.

Výpočet kombinované nejistoty využívá zákonu o šíření nejistoty, který je ve vztahu vstupních a ovlivňujících veličin k výsledku měření. Pro vyhodnocení kombinované nejistoty je možné využít několik způsobů vyhodnocení, o kterých bude diskutováno později. Nutným předpokladem je znalost faktu, zda některé veličiny spolu navzájem nekorelují a pokud ano, tak jakým způsobem lze eliminovat navzájem korelované veličiny. V závěru se pak zhodnotí celková bilance nejistot v tzv. „neurčitostním balíku – „uncertainty budget“. Velice často se v praxi ukazuje, že pouze malá část přispívá k celkové kombinované nejistotě, proto má smysl se zabývat pouze těmi příspěvky, které přesahují 1/3 velikosti maximální nejistoty. V závěru se pak porovnají tyto výsledky s hodnotami, které poskytují mezilaboratorní testy. Ty pak velmi často korespondují s dlouhodobým sledováním pomocí regulačních diagramů [5] a s dlouhodobou zkušeností a obecnými poznatky o výkonnosti použité metody. Celý postup by měl být dostatečně zdokumentován.

V dalším výkladu se budeme zabývat nástroji pro výpočet kombinované nejistoty. Výpočet standardní nejistoty se provádí dvojitým způsobem. V případě, že není uveden tvar distribuční funkce, se používá rovnoměrné rozdělení

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (5)$$

nebo symetrické rovnoměrné rozdělení

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad (6)$$

které je pravděpodobnější a tudíž rozšířenější, proto se používá častěji. Tento způsob se používá tehdy, když není typ neurčitosti deklarován výrobcem (*např.* deklarace objemu). V opačném případě se používá většinou normální rozdělení. Přehled používaných rozdělení je uveden v Tabulce 1 [1-3, 6].

Výpočet kombinované nejistoty pak vychází z definice zákona šíření (propagace) nejistot pro obecný vztah:

$$Y = F(x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_n) \quad (7)$$

který lze definovat jako

$$s(Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial Y}{\partial x_i}\right)_{x_j}^2 \times s^2(x_i) + \sum_{i,j=1}^n \frac{\partial Y}{\partial x_i} \frac{\partial Y}{\partial x_j} \times s(x_i, x_j)} \quad (8)$$

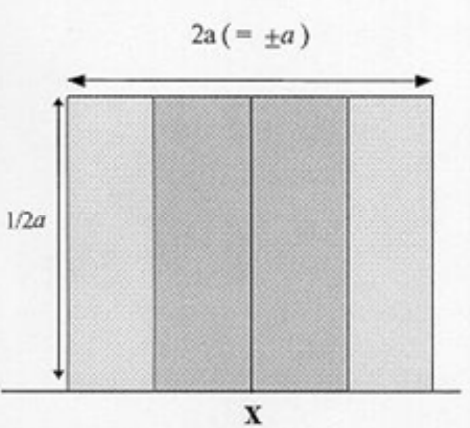
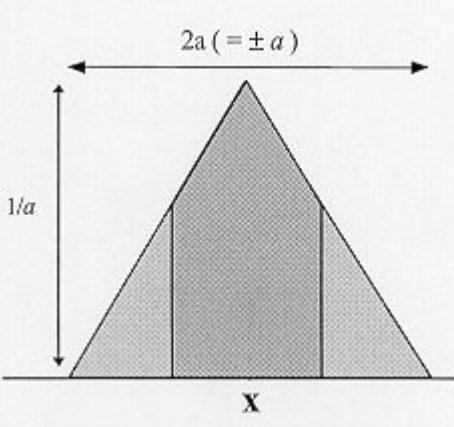
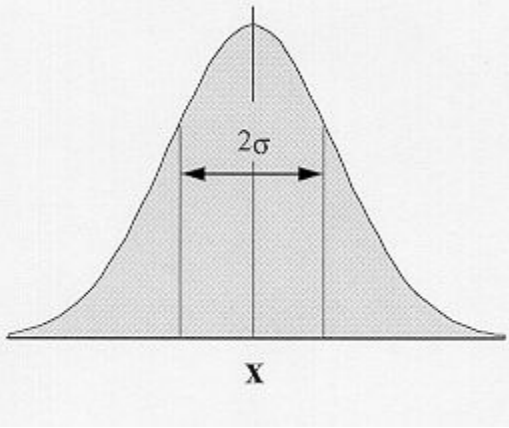
kde  $s(Y)$  je standardní nejistota proměnných a  $s(x_i, x_j)$  jsou kovariance. Pokud lze prokázat, že vstupní proměnné jsou vzájemně nekorelovány [5, 6] – viz Obr. 2, lze proto kovarianční členy zanedbat a pak dostáváme výsledný zjednodušený výraz:

$$s(Y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial Y}{\partial x_i}\right)_{x_j}^2 \times s^2(x_i)} \quad (9)$$

Pro výpočet kombinované nejistoty je vždy nutné znát funkční vztah mezi oběma veličinami (viz rovnice 7). Také lze uvést, že hodnoty parciálních derivací v předchozím vztahu jsou analogické směrnici (citlivosti) kalibračních funkcí a platí, že vyšší hodnota příspěvku k celkové nejistotě znamená, že je vysoký i součin parciální derivace a směrodatné odchylky.



**Tabulka 1:** Přehled distribučních funkcí používaných pro odhad kombinované nejistoty.

<b>Rovnoměrné rozdělení</b>		
Tvar	Použití:	Nejistota
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Certifikát resp. jiná specifikace uvádí meze bez uvedení intervalu spolehlivosti (např. 25,00 ± 0.05ml)</li> <li>• Odhad ve formě rozpětí (± a) bez udání distribuční funkce</li> </ul>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$
<b>Trojúhelníkové rozdělení</b>		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Informace je více určující než pro rovnoměrné rozdělení. Hodnoty kolem středu jsou pravděpodobnější než v blízkosti hranic</li> <li>• Odhad je učiněn ve formě max. rozpětí (± a) popsaného symetrickou distribuční funkcí</li> </ul>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$
<b>Normální rozdělení</b>		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Odhady parametrů jsou získány z opakovaných pozorování náhodného procesu</li> <li>• Nejistota je uvedena ve formě směrodatné odchylky <math>s/\bar{x}</math> nebo variačního koeficientu CV% bez specifikace rozdělení</li> <li>• Nejistota je uvedena ve formě 95% (nebo jiného) intervalu spolehlivosti <math>x \pm c</math> bez uvedení rozdělení</li> </ul>	$u(x) = s$ $u(x) = s$ $u(x) = x \left( \frac{s}{\bar{x}} \right)$ $u(x) = \frac{CV\%}{100} \cdot x$ $u(x) = c/2$ (pro c při 95%) $u(x) = c/3$ (pro c při 99.7%)

Výpočty kombinované nejistoty analytického stanovení lze provést několika způsoby :

- 1) Rozklad funkčního vztahu (rovnice (7)) na elementární funkce (*např.* sečítání, odečítání, násobení, dělení, log, antilog, *aj.*). Pro základní aditivní a multiplikativní operace pro výpočet nejistoty analytického stanovení vypočtené pro náhodné a systematické chyby platí vztahy uvedené v Tabulkách 2 a 3 a výpočet kombinované nejistoty lze pak realizovat podle výše uvedených vztahů. Tento přístup je jednoduchý v případě, že ve funkčním vztahu se nachází pouze operace násobení/dělení, *resp.* sečítání/odčítání, v opačném případě je vyhodnocení poměrně komplikované.

**Tabulka 2:** Šíření náhodných chyb

Případ	Vztah	Náhodná chyba
1	$Y = K + K_A \times A + K_B \times B + \dots$	$\sigma_Y^2 = (K_A \times \sigma_A)^2 + (K_B \times \sigma_B)^2 + \dots$
2*	$Y = K \times (A \times B) / (C \times D)$	$(\sigma_Y/Y)^2 = (\sigma_A/A)^2 + (\sigma_B/B)^2 + (\sigma_C/C)^2 + (\sigma_D/D)^2$
3**	$Y = f(x)$	$\sigma_Y = \sigma_X \times dy/dx$

\* jestliže  $Y = K \times A^r$ , pak  $\sigma_Y/Y = r \times \sigma_A/A$

\*\* jestliže  $Y = f(x, z, t, \dots)$ , pak  $\sigma_Y^2 = (df/dx)^2 \times \sigma_X^2 + (df/dz)^2 \times \sigma_Z^2 + (df/dt)^2 \times \sigma_t^2 + \dots$   
 $Y = K \times \ln(x) \Rightarrow \sigma_Y = K \times \sigma_X/x$

**Tabulka 3:** Šíření systematických chyb

Případ	Vztah	Systematická chyba
1	$Y = K + K_A \times A + K_B \times B + \dots$	$\Delta Y = K_A \times \Delta A + K_B \times \Delta B + \dots$
2	$Y = K \times (A \times B) / (C \times D)$	$\Delta Y/Y = (\Delta_A/A) + (\Delta_B/B) + (\Delta_C/C) + (\Delta_D/D)$
3*	$Y = f(x)$	$\Delta_Y = \Delta_X \times dy/dx$

\* jestliže  $Y = K \times \log(x)$ , pak  $\Delta_Y = (K/\ln(10)) \times (\Delta_X/x)$

- 2) Výpočet derivace v členech rovnice (9) analyticky pomocí dostupného matematického software (*např.* MATEMATICA™, MAPLE™, *aj.*). Toto řešení je obecné a lze ho využít i pro řešení dalšího problému s jinými hodnotami. Analogicky analytické derivace pak uvádí „citlivost“ jednotlivých členů.

- 3) Výpočet derivace v členech rovnice (9) numericky podle postupu navrženém Kragtenem [1, 2, 7], kdy *např.* EXCEL disponuje poměrně přesnou aritmetikou pro výpočet numerických derivací podle vzorců:

$$\left(\frac{\partial F}{\partial x_i}\right)_{x_j} \approx \left(\frac{\Delta F}{\Delta x_i}\right)_{x_j} = \left(\frac{F(x_i + s(x_i)) - F(x_i)}{x_i + s(x_i) - x_i}\right)_{x_j} = \left(\frac{F(x_i + s(x_i)) - F(x_i)}{s}\right)_{x_j} \quad (10)$$

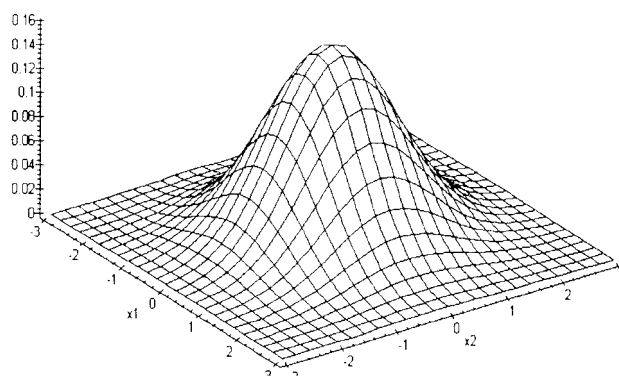
Ten pak dosadíme do vztahu (9) a po úpravě dostaneme vztah (11):

$$s(F) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial F}{\partial x_i}\right)_{x_j}^2 \times s^2(x_i)} \approx \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{F(x_i + s(x_i)) - F(x_i)}{s(x_i)}\right)_{x_j}^2 \times s^2(x_i)} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (F(x_i + s(x_i)) - F(x_i))_{x_j}^2}$$

Tento přístup je jednoduchý a univerzální pro všechny typy vztahů a lze ho proto využít v běžné laboratorní praxi bez použití dalších softwarových prostředků. Součet kvadrátů odchylek ve vztahu (11) pak uvádí jednotlivé příspěvky k celkové nejistotě.

- 4) Monte Carlo simulace - generování velkého počtu náhodných hodnot pro různé proměnné (minimálně 500) v intervalu daným normálním (gaussovským) rozdělením, které lze charakterizovat průměrnou hodnotou  $\underline{x}$  a směrodatnou odchylkou  $\underline{s}$ , které navíc nejsou

vzájemně korelovány (viz Obr. 2). Ze simulovaných hodnot jednotlivých proměnných pak vypočteme aktuální hodnoty výrazu (7). Pak je vypočtena průměrná hodnota a odhad směrodatné odchylky.



**Obr. 2:** Příklad 2D normálního (gaussovského) rozdělení pro dvě nekorelované proměnné

V dalším výkladu si jednotlivé přístupy vysvětlíme na několika případech, kdy je vhodné rozdělit analytický proces, zejména v případě instrumentálních metod (např. ICP), na sled vzájemně navazujících propojených kroků, aby bylo možné určit možné zdroje nejistoty:

#### 1. Vzorkování:

- homogenita,
- vliv specifické strategie vzorkování (např. náhodné, náhodné vrstevnaté, proporční, atd.),
- vliv pohybu vzorkovaného materiálu (např. v důsledku extrémních hodnot jeho fyzikálních vlastností),
- skupenství hmoty vzorku ( $s$ ,  $l$ ,  $g$ ),
- vliv teploty a tlaku,
- ovlivnění složení vzorkovacím procesem.

#### 2. Příprava vzorku:

- homogenizace,
- sušení,
- mletí,
- rozpouštění,
- extrakce,
- kontaminace,
- derivatizace (chemické efekty),
- chyby ředění,
- (pre)koncentrování,
- kontrola speciálních efektů.

#### 3. Zavedení certifikovaných referenčních materiálů (CRM) do měřicího systému:

- nejistota v hodnotě CRM,
- souhlas CRM a vzorku.

#### 4. Kalibrace přístroje:

- chyby kalibrace přístroje s použitím CRM,
- referenční materiál a jeho hodnota nejistoty
- souhlas vzorku a kalibrační látky,
- přístrojová přesnost.

### **5. Analýza:**

- paměťové efekty autoanalyzátorů,
- vliv personálu obsluhující přístroj (*např.* barvoslepost, paralaxa, jiné systematické chyby, *aj.*).
- rušící prvky pocházející z matrice, činidel a jiných doprovodných analytů,
- čistota použitých chemických činidel,
- nastavení operačních parametrů přístroje pro analýzu (*např.* pozadí, parametry pro derivaci, *resp.* integraci),
- přesnost měření mezi vzorky.

### **6. Zpracování dat:**

- průměrování,
- vliv zaokrouhlování a úpravy počtu významných číslic,
- statistika,
- algoritmus zpracování dat (vliv použité metody na přesnost získaných výsledků – *např.* metoda nejmenších čtverců pro proložení dat).

### **7. Uvádění výsledků:**

- konečný výsledek,
- odhad nejistoty,
- úroveň spolehlivosti,

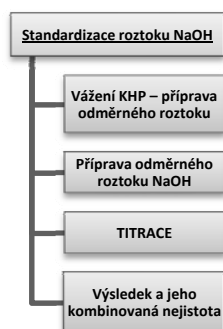
### **8. Interpretace výsledků:**

- srovnání s limity/mezemi,
- prokazování shody v regulované sféře,
- vhodnost použité metody pro vybraný účel.

## Vzorové příklady

### Příklad 1: Stanovení koncentrace odměrného roztoku NaOH

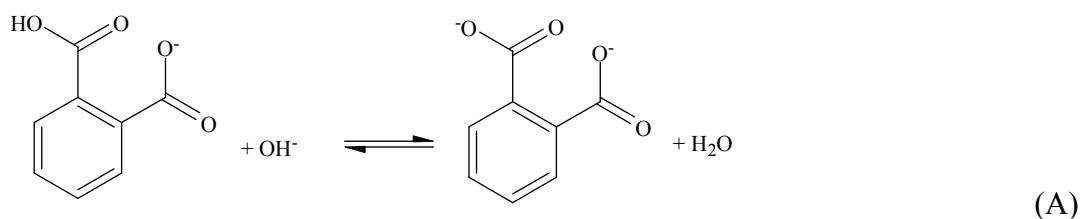
Tento příklad byl vybrán pouze pro ilustraci výpočtu kombinované nejistoty několika způsoby. Co se týče použitých nejistot, pak pro správný výpočet bylo nutné korigovat hodnoty pro normální rozdělení a zahrnout všechny faktory, které ovlivňují výslednou nejistotu analytického stanovení [1, 2]. Odměrný roztok hydroxidu sodného byl standardizován titrací na primární standard kyseliny kyselofthalát sodný (KHP,  $M_r(\text{KHP}) = 204,2212$ ) (viz Obr. 3). Odměrný roztok byl získán rozpuštěním 2,0121 g navážky ve 100 ml odměrné baňce. Ke standardizaci byl brán alikvot 10,00 ml a spotřeba roztoku NaOH činila 9,85 ml. Jaká je koncentrace a hodnota její kombinovaná neurčitost pro odměrný roztok NaOH? Předpokládejte neurčitost pro jednotlivé parametry podle standardních postupů (viz Tabulka 4).



Obr. 3: Standardizace odměrného roztoku NaOH

### Řešení :

Standardizace odměrného roztoku hydroxidu sodného se provádí titrací na připravený roztok kyselofthalátu draselného podle reakce:

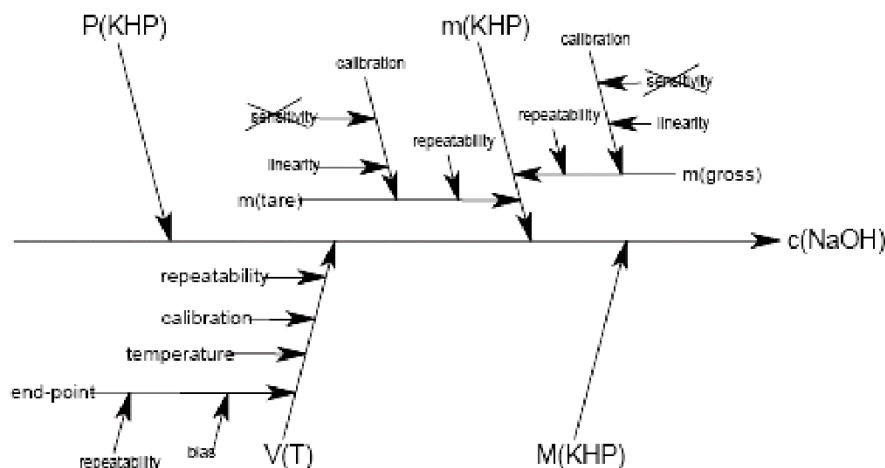


Pro výpočet přesné koncentrace platí následující vztah

$$c(\text{NaOH}) = \frac{m(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP})} \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP}) = \frac{m(\text{KHP}) \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} \quad (12)$$

kde  $m_{\text{KHP}}$  je navážka primárního standardu rozpuštěná v odměrné baňce o objemu  $V_{\text{KHP}}$ , z které byl odebrán alikvotní objemový podíl  $V_{\text{aliquot, KHP}}$  a spotřeba odměrného roztoku NaOH činila  $V_{\text{NaOH}}$ .

Postup analýzy jednotlivých příspěvků (čistota, hmotnost a molární hmotnost primárního standardu KHP, odměřování objemů odměrných roztoků), které přispívají k celkové kombinované nejistotě, si můžeme ilustrovat podle Obr. 4.



**Obr. 4:** „Diagram příčin a následků“ pro výpočet kombinované nejistoty standardizace odměrného roztoku NaOH

**Tabulka 4:** Hodnoty a nejistoty standardizace odměrného roztoku NaOH

Popis	Hodnota $x$	Tolerance- výrobce	Standardní nejistota $u(x)$	Rel. stand. nejistota $u(x)/x, \%$
Hmotnost KHP, $m_{\text{KHP}}$	2,0121 g	0,15 mg	0,13 mg	0,00646
Molární hmotnost KHP, $M_{\text{r,KHP}}$	204,2212 g.mol <sup>-1</sup>	----	0,0038 g.mol <sup>-1</sup>	0,0019
Objem baňky, $V_{\text{KHP}}$	100,00 ml	0,08 ml	0,0489 ml	0,0489
Objem pipety, $V_{\text{aliquot, KHP}}$	10,00 ml	0,02 ml	0,0089 ml	0,089
Objem byrety (25 ml), $V_{\text{NaOH}}$	9,85 ml	0,03 ml	0,013 ml	0,132
<b>Koncentrace NaOH, <math>c(\text{NaOH}), \text{mol.l}^{-1}</math></b>	<b>0,1000<sub>3</sub></b>	---	<b>0,0001<sub>6</sub></b>	<b>0,167</b>

Nejdříve budeme analyzovat jednotlivé příspěvky neurčitostí, které se objeví v kombinované nejistotě pro koncentraci roztoku.

**Navázka:** Při vážení předpokládáme trojúhelníkové rozdělení:  $0.15 \text{ mg}/\sqrt{3} = 0,09 \text{ mg}$ , při diferenčním vážení se neurčitost opakuje, takže platí, že kombinovaná nejistota je  $u(m_{\text{KHP}}) = \sqrt{2 \times 0,09} = 0,13 \text{ mg}$

**Příprava odměrného roztoku KHP (100 ml):**

Neurčitost při odměřování objemu vypočteme jako  $0,08/\sqrt{6} = 0,0327 \text{ ml}$ . Další příspěvek plyne z neurčitosti objemu pro teplotu  $\pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ , pak jeho hodnota je  $3 \times 100 \times 2,1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 0,0364 \text{ ml}$ . Celková neurčitost se pak vypočítá jako  $u(V_{\text{KHP}}) = \sqrt{0,0327^2 + 0,0364^2} = 0,0489 \text{ ml}$

### **Odměrování objemu odměrného roztoku KHP pipetou (objem 10 ml):**

Neurčitost při odměrování objemu vypočteme jako  $0,02/\sqrt{6} = 0,0082$  ml. Další příspěvek plyne z neurčitosti objemu pro teplotu  $\pm 3$  ° C, pak jeho hodnota je  $3 \times 10 \times 2,1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 0,0036$  ml. Celková neurčitost se pak vypočítá jako  $u(V_{\text{KHP}}) = \sqrt{0,0082^2 + 0,0036^2} = 0,0089$  ml

### **Odměrování objemu odměrného roztoku NaOH byretou (objem 25 ml):**

Při odměrování objemu vypočteme neurčitost  $0,03/\sqrt{6} = 0,0122$  ml. Další příspěvek plyne z neurčitosti objemu pro teplotu  $\pm 3$  ° C, pak jeho hodnota je  $3 \times 9,85 \times 2,1 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 0,0036$  ml. Systematická odchylka je uvažována jako nulová, protože titrace byla prováděna na automatickém titrátoru v argonové atmosféře, kde pH bylo měřeno pomocí skleněné elektrody a bod ekvivalence byl vyhodnocen numericky z hodnot druhé derivace titrační křivky. Celková neurčitost  $u(V_{\text{NaOH}}) = \sqrt{0,0122^2 + 0,0036^2} = 0,013$  ml

Všechny údaje jsou uvedeny v Tabulce 4. Výpočet kombinované nejistoty podle jednotlivých postupů lze ilustrovat na hodnotách jednotlivých příspěvků nejistot.

#### ***Varianta 1***

Ze zákona šíření chyb podle Tabulky 2 pro vztah (12)

$$s_r(c_{\text{NaOH}}) = \sqrt{\left(\frac{0,00013}{2,0121}\right)^2 + \left(\frac{0,0038}{204,2212}\right)^2 + \left(\frac{0,0489}{100}\right)^2 + \left(\frac{0,013}{9,85}\right)^2 + \left(\frac{0,0089}{10}\right)^2} \quad (13)$$

a výsledná hodnota je  $c(\text{NaOH}) = 0,1000_{26} \pm 0,0001_{67}$  M, která je uvedena v Tabulce 4.

#### ***Varianta 2 a 3***

Pro výpočet podle tohoto způsobu využijeme výše uvedené vztahy (9)-(11). Analogicky dostáváme ze vztahu (12)

$$c(\text{NaOH}) = \frac{m(\text{KHP}) \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} \quad (14)$$

po parciálním derivování dostaneme analytický tvar pro jednotlivé derivace:

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial m(\text{KHP})} = \frac{V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} = \frac{c(\text{NaOH})}{m(\text{KHP})} \quad (14a)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial M_r(\text{KHP})} = -\frac{m(\text{KHP}) \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r^2(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} = -\frac{c(\text{NaOH})}{M_r(\text{KHP})} \quad (14b)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{KHP})} = -\frac{m(\text{KHP}) \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V^2(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} = -\frac{c(\text{NaOH})}{V(\text{KHP})} \quad (14c)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})} = \frac{m(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V(\text{NaOH})} = \frac{c(\text{NaOH})}{V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})} \quad (14d)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{NaOH})} = -\frac{m(\text{KHP}) \times V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})}{M_r(\text{KHP}) \times V(\text{KHP}) \times V^2(\text{NaOH})} = -\frac{c(\text{NaOH})}{V(\text{NaOH})} \quad (14e)$$

Dosazením analytických derivací do vztahu (9) a jeho následné úpravě pak dostaneme vztah (13), který pak spolu s příslušnými hodnotami příspěvků nejistot (viz Tab. 4), event. parciálních derivací (viz Tab. 5) použijeme pro výpočet koncentrace odměrného roztoku:

$$c(\text{NaOH}) = 0,1000_{21} \pm 0,0001_{67} \text{ M}$$

Analogickým způsobem lze řešit tento problém tak, že hodnoty parciálních derivací se vypočítají numericky podle následujících vzorců:

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial m(\text{KHP})} \approx \frac{c(\text{NaOH} + u_{m,\text{KHP}}) - c(\text{NaOH})}{u_{m,\text{KHP}}} \quad (14a)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial M_r(\text{KHP})} \approx \frac{c(\text{NaOH} + u_{M_r,\text{KHP}}) - c(\text{NaOH})}{u_{M_r,\text{KHP}}} \quad (14b)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{KHP})} \approx \frac{c(\text{NaOH} + u_{V,\text{KHP}}) - c(\text{NaOH})}{u_{V,\text{KHP}}} \quad (14c)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})} \approx \frac{\partial c(\text{NaOH} + u_{V_{\text{aliquot}},\text{KHP}}) - c(\text{NaOH})}{u_{V_{\text{aliquot}},\text{KHP}}} \quad (14d)$$

$$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{NaOH})} \approx \frac{c(\text{NaOH} + u_{V,\text{NaOH}}) - c(\text{NaOH})}{u_{V,\text{NaOH}}} \quad (14e)$$

Pro výpočet podle tohoto způsobu pomocí EXCELu využijeme výše uvedené vztahy a dostaneme hodnotu  $c(\text{NaOH}) = 0,1000_{26} \pm 0,0001_{67} \text{ M}$ .

Porovnání obou způsobů výpočtu i s jednotlivými hodnotami parciálních derivací jsou uvedeny v Tabulce 5.

**Tabulka 5:** Přehled hodnot příspěvků pro výpočet kombinované nejistoty koncentrace NaOH

Popis	Hodnota $\underline{x}$	Příspěvek	Výpočet parciálních derivací	
			Analyticky	Numericky
Hmotnost KHP, $m_{\text{KHP}}$	2,0121 g	$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial m(\text{KHP})} \times u(m_{\text{KHP}})$	$6,463 \times 10^{-6}$	$6,463 \times 10^{-6}$
Molární hmotnost KHP, $M_{r,\text{KHP}}$	204,2212 g.mol <sup>-1</sup>	$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial M_r(\text{KHP})} \times u(M_{r,\text{KHP}})$	$-1,861 \times 10^{-6}$	$-1,861 \times 10^{-6}$
Objem baňky, $V_{\text{KHP}}$	100,00 ml	$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{KHP})} \times u(V_{\text{KHP}})$	$-4,891 \times 10^{-5}$	$-4,889 \times 10^{-5}$
Objem pipety, $V_{\text{aliquot, KHP}}$	10,00 ml	$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V_{\text{aliquot}}(\text{KHP})} \times u(V_{\text{aliquot, KHP}})$	$8,902 \times 10^{-5}$	$8,902 \times 10^{-5}$
Objem byrety (25 ml), $V_{\text{NaOH}}$	9,85 ml	$\frac{\partial c(\text{NaOH})}{\partial V(\text{NaOH})} \times u(V_{\text{NaOH}})$	$-1,320 \times 10^{-4}$	$-1,318 \times 10^{-4}$
<b>Koncentrace NaOH, <math>c(\text{NaOH})</math>, mol.l<sup>-1</sup></b>	<b>0,1000<sub>3</sub></b>			



#### Varianta 4

Pro výpočet kombinované nejistoty pomocí metody MONTE CARLO postupujeme následujícím způsobem. Nejdříve vygenerujeme pomocí generátoru náhodných čísel v EXCELU 1000 hodnot, jejíž rozdělení lze popsat dvěma charakteristikami normálního (gaussovského) rozdělení – odhad průměrné hodnoty a její směrodatné odchylky. Charakter normálního rozdělení těchto 1000 vygenerovaných hodnot byl ověřen výpočtem parametrů pro jednotlivé příspěvky. Odhad průměrné hodnoty a směrodatné odchylky průměru by měl být shodný s hodnotami původními. Taktéž výpočet dalších charakteristických parametrů – šikmost a špičatost, jejichž hodnoty by měly být pro normální rozdělení blízké hodnotám 0 a 3 [5, 8], vypovídá o normalnosti rozdělení. Jak je patrné, tak rozdělení jednotlivých hodnot ( $m_{\text{KHP}}$ ,  $V_{\text{KHP}}$ ,  $V_{\text{alíkvot}}$ ,  $V_{\text{NaOH}}$ ,  $M_{\text{KHP}}$ ) splňuje tuto podmínku. Tyto jednotlivé generované hodnoty byly použity pro výpočet 1000 hodnot koncentrace NaOH, pro které byly vypočteny taktéž jednotlivé charakteristiky. Obdržené hodnoty jsou  $c(\text{NaOH}) = 0,1000_{21} \pm 0,0001_{76} \text{ M}$ , šikmost  $7,90 \times 10^{-7}$  a špičatost 4,961, které ukazují také na normální rozdělení. Detaily jsou uvedeny v Tabulce 6 a výsledky jednotlivých postupů výpočtu pak jsou sumarizovány v Tabulce 7.

**Tabulka 6:** Přehled výpočtu kombinované nejistoty koncentrace odměrného roztoku NaOH pomocí metody MONTE CARLO

Experiment	$m_{\text{KHP}}$ , g	$V_{\text{KHP}}$ , ml	$V_{\text{alíkvot}}$ , ml	$V_{\text{NaOH}}$ , ml	$M_{\text{KHP}}$ , g.mol <sup>-1</sup>	$c_{\text{NaOH}}$ , mol.l <sup>-1</sup>
1	2,012267	99,99245	9,9908094	9,836485375	204,23019	0,10007424
2	2,012041	99,9549	9,999316794	9,838172549	204,232651	0,10017806
3	2,01228	100,016	10,0199366	9,850959058	204,237266	0,10019176
4	2,012344	100,108	10,00378001	9,853454792	204,235702	0,09991169
....	....	....	....	....	....	....
....	....	....	....	....	....	....
997	2,012166	100,1136	10,00512831	9,859096711	204,230635	0,099866602
998	2,012066	99,93118	10,00443446	9,838770815	204,233526	0,100247736
999	2,012208	99,95706	9,992251841	9,857629749	204,232509	0,099908794
1000	2,012154	100,0274	10,00089373	9,833990838	204,227425	0,100167413
<b>Vložená hodnota</b>	<b>2,0121</b>	<b>100,00</b>	<b>10,000</b>	<b>9,85</b>	<b>204,233</b>	
<b>Směrodatná odchylka-vložená</b>	<b>0,0001<sub>3</sub></b>	<b>0,04<sub>89</sub></b>	<b>0,008<sub>9</sub></b>	<b>0,01<sub>3</sub></b>	<b>0,003<sub>8</sub></b>	
<b>Průměr</b>	<b>2,0121</b>	<b>100,00</b>	<b>10,000</b>	<b>9,85</b>	<b>204,233</b>	<b>0,1002<sub>11</sub></b>
<b>Směrodatná odchylka</b>	<b>0,0001<sub>3</sub></b>	<b>0,05<sub>01</sub></b>	<b>0,009<sub>1</sub></b>	<b>0,01<sub>3</sub></b>	<b>0,003<sub>8</sub></b>	<b>0,0001<sub>76</sub></b>
<b>Šikmost</b>	<b><math>3,71 \times 10^{-8}</math></b>	<b><math>4,08 \times 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,91 \times 10^{-5}</math></b>	<b><math>-1,18 \times 10^{-3}</math></b>	<b><math>1,70 \times 10^{-5}</math></b>	<b><math>7,90 \times 10^{-7}</math></b>
<b>Špičatost</b>	<b>3,121</b>	<b>2,926</b>	<b>3,056</b>	<b>10,193</b>	<b>2,986</b>	<b>4,961</b>

**Tabulka 7:** Přehled výsledků výpočtu koncentrace odměrného roztoku NaOH získaného různými postupy.

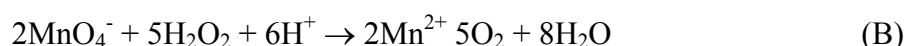
Metoda výpočtu	$c_{\text{NaOH}}$ , mol.l <sup>-1</sup>
1	$0,1000_{26} \pm 0,0001_{67}$
2	$0,1000_{21} \pm 0,0001_{67}$
3	$0,1000_{26} \pm 0,0001_{67}$
4	$0,1000_{21} \pm 0,0001_{76}$

## Příklad č.2 Optimalizace analytického postupu

Účelem tohoto příkladu převzatého z literatury [9] je ukázat na jednoduché klasické metodě, které faktory a jak přispívají k celkové neurčitosti stanovené koncentrace analytu. Znalost těchto příspěvků pak může být významně využita k optimalizaci metody tak, aby došlo k snížení celkové neurčitosti stanovení. Jako jednoduchá klasická metoda, která může být optimalizována, byla vybrána doporučená metoda stanovení koncentrace v 3% roztoku peroxidu vodíku (viz [ref. 10]):

1. odvážení 10 g 3%-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> roztoku na analytických vahách přesně;
2. doplnění destilovanou vodou v odměrné baňce na 100,0 ml;
3. pipetování 10,0 ml roztoku a přidání 20,0 ml zředěného roztoku H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;
4. titrace 30,0 ml vzorku 0,02 M-roztokem KMnO<sub>4</sub>;
5. výpočet koncentrace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Stechiometrie

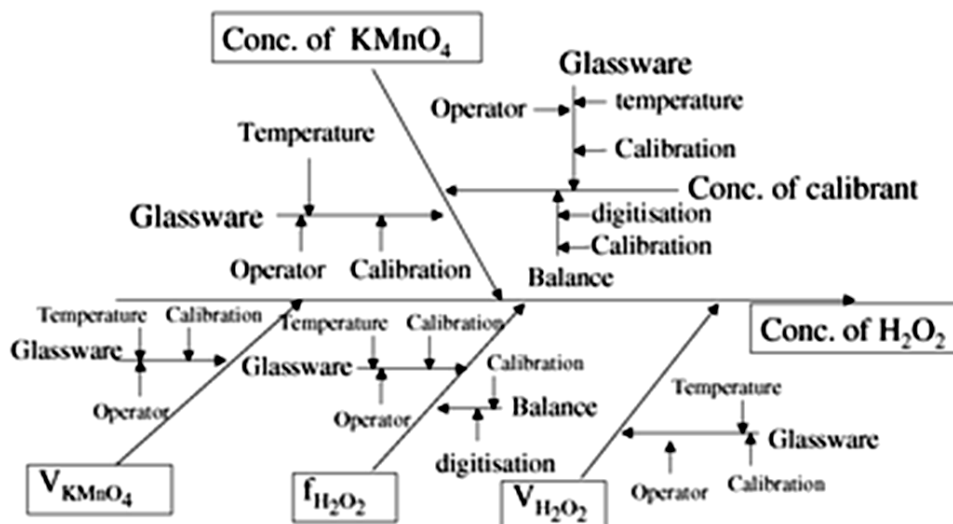


Vzorec pro výpočet koncentrace lékárenského peroxidu vodíku je definován jako

$$c(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{5}{2} \times \frac{c(\text{MnO}_4^-) \times v(\text{MnO}_4^-)}{v(\text{H}_2\text{O}_2)} \times f_{\text{dil}}(\text{H}_2\text{O}_2) \quad (15)$$

kde  $c(\text{H}_2\text{O}_2)$  je koncentrace peroxidu vodíku, poměr 2.5 vychází ze stechiometrie reakce,  $c(\text{KMnO}_4)$  a  $v(\text{KMnO}_4)$  jsou koncentrace a objem odměrného roztoku titračního činidla manganistanu draselného,  $v(\text{H}_2\text{O}_2)$  je objem peroxidu vodíku a  $f_{\text{dil}}(\text{H}_2\text{O}_2)$  korekční faktor odpovídající zředění.

Různé příspěvky ke kombinované nejistotě koncentrace lze přehledně vyjádřit pomocí Ishikawova diagramu příčin a následků, který pomáhá analytikovi uvědomit si a organizovat jednotlivé příspěvky v něm tak, aby se zamezilo jejich opakování. Ishikawův diagram pro titraci lékárenského peroxidu vodíku je uveden v Obr. 5. Pro jednotlivé příspěvky byly vypočteny jednotlivé neurčitosti, které jsou uvedeny v Tabulce 8 a Obr. 5, které pak byly použity pro výpočet celkové kombinované nejistoty. Jak je vidět, tak nejvyšší příspěvek k celkové neurčitosti pochází z koncentrace titračního činidla KMnO<sub>4</sub>. To je způsobeno tím, že koncentrace odměrného roztoku KMnO<sub>4</sub> je stanovena tak, že jód vyloučený z jodidu působením manganistanu v kyselém prostředí je titrován odměrným roztokem thiosíranu sodného, jehož přesná koncentrace se stanoví na jód vyloučený z primárního standardu KIO<sub>3</sub> [9, 10]. Tato několikanásobná standardizace vede k navýšení neurčitosti koncentrace KMnO<sub>4</sub>. Tento problém se dá vyřešit přímou standardizací tohoto roztoku na šťavelan sodný, kde neurčitost stanovené koncentrace odměrného roztoku poklesne velmi významně (srovnej Tabulky 7 a 8, Obr. 6). Příčina je ve větším počtu laboratorních operací a čistotě použitých primárních standardů (KIO<sub>3</sub> 99.5% vs. Na<sub>2</sub>Ox 99.9%), proto je doporučeno v uvedeném článku [9] použití primárního standardu šťavelanu sodného za účelem snížení celkové nejistoty koncentrace peroxidu vodíku. Tento přístup může být využit k optimalizaci analytického procesu tak, aby produkoval výsledné hodnoty koncentrací s co nejmenší nejistotou.



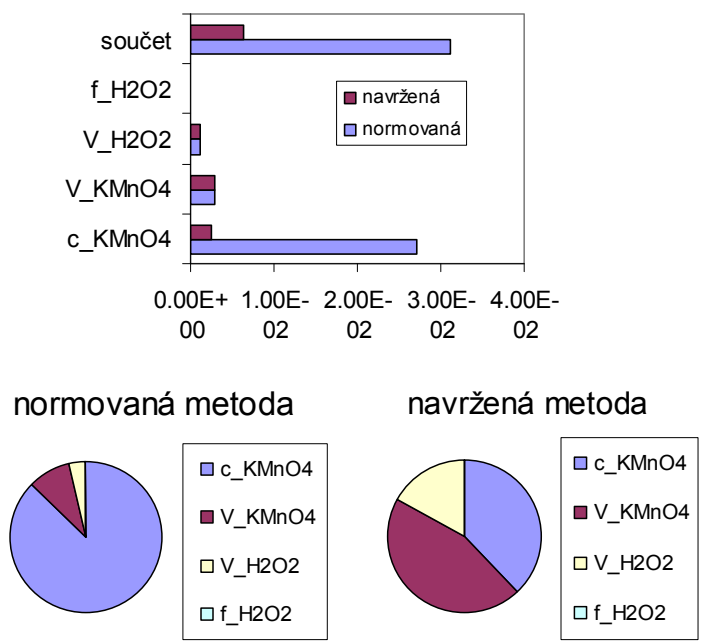
Obr. 5: Ishikawův „fish-bone“ diagram titrace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (adaptováno z ref. [9]).

Tabulka 8: Výpočet kombinované nejistoty pro titraci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> podle předepsaného předpisu

Složka neurčitosti	Hodnota	Standardní neurčitost $u(x_i)$	Citlivostní koeficient $\frac{\partial y}{\partial x_i}$	Příspěvek k celkové neurčitosti $\frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot u(x_i)$
$c_{\text{Titer}}$ $c(\text{KMnO}_4)$	0,02 M	$6,17 \times 10^{-4}$ M	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial c_{\text{Titer}}} = \frac{2,5 \times v_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= 44,125$	$u_1(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial c_{\text{Titer}}} \cdot u(c_{\text{Titer}})$ $= 2,72 \times 10^{-2}$ M
$v_{\text{Titer}}$ $v(\text{KMnO}_4)$	17,65 ml	0,058 ml	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{Titer}}} = \frac{2,5 \times c_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= 5 \times 10^{-2}$ M/ml	$u_2(v_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial v_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{Titer}}} \cdot u(v_{\text{Titer}})$ $= 2,9 \times 10^{-3}$ M
$v_{\text{H}_2\text{O}_2}$	30 ml	0,037 ml	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{H}_2\text{O}_2}} = -\frac{2,5 \times c_{\text{Titer}} \times v_{\text{Titer}}}{(v_{\text{H}_2\text{O}_2})^2} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= -2,94 \times 10^{-2}$ M/ml	$u_3(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{H}_2\text{O}_2}} \cdot u(v_{\text{H}_2\text{O}_2})$ $= -1,088 \times 10^{-3}$ M
$f_{\text{H}_2\text{O}_2}$	30	$5,85 \times 10^{-5}$	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}} = \frac{2,5 \times c_{\text{Titer}} \times v_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}}$ $= 2,94 \times 10^{-2}$ M	$u_4(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}} \cdot u(f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.})$ $1,7 \times 10^{-6}$ M
$u$	<b>0,88 M = 3%</b>	—	—	$2,74 \times 10^{-2}$ M
$U$	—	—	—	$5,48 \times 10^{-2}$
Rel. $U$	—	—	—	6,22%

**Tabulka 9:** Výpočet kombinované nejistoty pro titraci H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> podle nově navrženého předpisu

Složka neurčitosti	Hodnota	Standardní neurčitost $u(x_i)$	Citlivostní koeficient $\frac{\partial y}{\partial x_i}$	Příspěvek k celkové neurčitosti $\frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot u(x_i)$
$c_{\text{Titer}}$ $c(\text{KMnO}_4)$	0,02 M	$5,47 \times 10^{-5}$ M	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial c_{\text{Titer}}} = \frac{2,5 \times v_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= 44,125$	$u_1(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial c_{\text{Titer}}} u(c_{\text{Titer}})$ $= 2,413 \times 10^{-3}$ M
$v_{\text{Titer}}$ $v(\text{KMnO}_4)$	17,65 ml	0,058 ml	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{Titer}}} = \frac{2,5 \times c_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= 5 \times 10^{-2}$ M/ml	$u_2(v_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{Titer}}} u(v_{\text{Titer}})$ $= 2,9 \times 10^{-3}$ M
$v_{\text{H}_2\text{O}_2}$	30 ml	0,037 ml	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{H}_2\text{O}_2}} = -\frac{2,5 \times c_{\text{Titer}} \times v_{\text{Titer}}}{(v_{\text{H}_2\text{O}_2})^2} \times f_{\text{H}_2\text{O}_2} - \text{opl.}$ $= -2,94 \times 10^{-2}$ M/ml	$u_3(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial v_{\text{H}_2\text{O}_2}} u(v_{\text{H}_2\text{O}_2})$ $= -1,088 \times 10^{-3}$ M
$F_{\text{H}_2\text{O}_2-\text{opl}}$	30	$5,85 \times 10^{-5}$	$\frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial f_{\text{H}_2\text{O}_2-\text{opl}}} = \frac{2,5 \times c_{\text{Titer}} \times v_{\text{Titer}}}{v_{\text{H}_2\text{O}_2}}$ $= 2,94 \times 10^{-2}$ M	$u_4(c_{\text{H}_2\text{O}_2}) = \frac{\partial c_{\text{H}_2\text{O}_2}}{\partial f_{\text{H}_2\text{O}_2-\text{opl}}} u(f_{\text{H}_2\text{O}_2-\text{opl}})$ $1,7 \times 10^{-6}$ M
$u$	<b>0,88 M = 3%</b>	—	—	<b><math>3,93 \times 10^{-3}</math> M</b>
$U$	—	—	—	<b><math>7,86 \times 10^{-3}</math> M</b>
<b>Rel. <math>U</math></b>	—	—	—	<b>0,89%</b>



**Obr. 6:** Příspěvky jednotlivých neurčitostí pro stanovení koncentrace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> podle tradičního normovaného a nově navrženého předpisu

### **Příklad č. 3 Příprava standardního roztoku kovu pro ICP stanovení**

Pro většinu optických metod atomové spektroskopie je nutné připravit sadu roztoků o známé koncentraci pro kalibraci přístroje. Klasický postup je uveden na Obrázku 7. Většinou používáme pro přípravu kovů o nejvyšší dostupné čistotě tak, abychom eliminovali případné nejistoty na co nejnižší hodnotu. Tuto skutečnost můžeme ověřit stanovením přesné koncentrace připravených standardních roztoků pomocí klasických absolutních metod (gravimetrie, volumetrie). Tento postup byl zvolen a ověřen již dříve [11 a 12] – viz Tabulka 10.



**Obrázek 7:** Postup při přípravě standardního roztoku

**Tabulka 10:** Použití klasických metod pro standardizaci roztoku (ref. [12])

	<b>Cd, mg.l<sup>-1</sup></b>	<b>Cu, mg.l<sup>-1</sup></b>	<b>Pb, mg.l<sup>-1</sup></b>
Teoretická koncentrace*	1011	1029	1010
Titrační stanovení <sup>a</sup>	1009 ± 1	1029 ± 1	1014 ± 2
Gravimetrické stanovení <sup>b</sup>	1012 ± 1	1030 ± 1	1008 ± 2
Průměr	1011 ± 2	1030 ± 2	1011 ± 3

\* vypočtena z naváženého množství čistého kovu

a) chelatometrické stanovení na xylenolovou oranž (Cd, Pb), murexid (Cu)

b) sráženo a váženo jako komplex s kyselinou chinaldinovou (Cd), salicylaldoximem (Cu), oxinem (Pb)

V současnosti se používají pro kalibraci přístrojů velmi často standardní roztoky o známé koncentraci dodávané komerčně, kde koncentrace je deklarována i s příslušnou nejistotou. Koncentrace těchto roztoků by se měly také ověřovat. Příklad stanovení koncentrace roztoku Cu(II) soli je uveden v Tabulce 13. Velmi přesná a shodná (ve shodě s deklarovanou hodnotou) je hodnota získaná gravimetricky, kdežto hodnoty získané jinými instrumentálními metodami jsou méně přesné, jak je patrné z dalšího výkladu.

#### **Gravimetrické stanovení (ref. [12])**

50 ml Cu(II) standardu bylo neutralizováno zředěným roztokem amoniaku (1:10), pak přidáno 0,5 g octanu sodného a 0,5 ml roztoku koncentrované kyseliny octové. Cu(II) ionty byly sráženy po kapkách 25 ml 1% roztoku salicylaldoximu v 5% ethanolu. Sraženina byla oddělena filtrací přes skleněný filtrační kelímeček, pak sušena při 105 °C a zvážena. Gravimetrický faktor  $A_r(\text{Cu})/M_r(\text{Cu}(\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2\text{N})_2)$  je 0,18924. Taktéž byl stanoven obsah Cu(II) (volné i ve formě komplexu), který zůstal po srážení v roztoku, pomocí ICP–MS. Hmotnostní koncentrace Cu(II) ve vzorku lze popsat následující rovnicí:

$$\gamma(\text{Cu}) + \Delta\gamma(\text{Cu}) \quad (16)$$

Člen  $\gamma_g(\text{Cu})$  je koncentrace stanovená gravimetricky:

$$\gamma_g(\text{Cu}) = \frac{f_g m_s}{V_s} \quad (17)$$

kde  $f_g$  je hodnota gravimetrického faktoru,  $V_s$  pipetovaný objem vzorku,  $m_s$  hmotnost sraženiny. Jestliže pro druhý člen ( $\Delta\gamma(\text{Cu}) \approx 0.1 \text{ mg.l}^{-1}$ ) jako korekce na zbytkový obsah Cu(II) bylo zjištěno, že příspěvek ke kombinované nejistotě je zanedbatelný ( $0.02 \text{ mg.l}^{-1}$ ), pak pro vztah pro výpočet kombinované nejistoty lze psát

$$u(\gamma_g(\text{Cu})) = \gamma_g(\text{Cu}) \cdot \sqrt{\frac{s_r^2(\gamma_g(\text{Cu}))}{n} + u_r^2(f_g) + u_r^2(m_s) + u_r^2(V_s)} \quad (18)$$

Jednotlivé příspěvky nejistoty pro výpočet jsou uvedeny v Tabulce 11 a dosazením do vzorce dostaneme  $u(\gamma_g(\text{Cu})) = 0.18 \text{ mg.l}^{-1}$  a po zaokrouhlení pak  $u(\gamma(\text{Cu}))$  is  $0.2 \text{ mg.l}^{-1}$ .

**Tabulka 11:** Složky neurčitosti pro gravimetrické stanovení  $\gamma_g(\text{Cu})$

Parametr	Hodnota	Složka nejistoty	Standardní neurčitost	Vyhodnocovací metoda; poznámka
$m_s$	0,2641–0,2643 g	Kalibrace	$u_r(m_s) =$ $5 \times 10^{-6}$	Vážení etalonu o hmotnosti 200 g nalezeno: 200,0010 g $u_r(m_s) = \Delta m/m$
		Opakovatelnost		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
$V_s$	49,97 ml (gravimetrická kalibrace, $n = 5$ )	Kalibrace	$u_r(V_s) =$ $8 \times 10^{-6}$	Kalibrační data: $u(V_s) = s(V_s)/\sqrt{n}$
		Opakovatelnost		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
		Teplota roztoku	Zanedbatelný	Teplota roztoku $20.0 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$
$f_g$	0,18924		$u_r(f_g) =$ $3,2 \times 10^{-6}$	Neurčitost v molárních hmotnostech jednotlivých prvků
Opakovatelnost analýzy			$s(\gamma_g(\text{Cu})) = 0,36 \text{ mg.l}^{-1}$	Výsledky opakovaných analýz ( $n = 4$ )

### AAS stanovení (ref. [12])

Koncentrace Cu v SRM 3114 je příliš vysoká pro přímou analýzu, proto podle doporučení NIST byl tento roztok zředěn a byl připraven pracovní roztok s hmotnostním podílem  $w_w(\text{Cu}) = 1.082 \text{ mg.g}^{-1}$ . Před analýzou byl roztok dále zředěn semigravimetricky (1 ml podíl byl zvážen a zředěn do 100 mL odměrné baňky) a stejným způsobem byl připraven vzorek, takže koncentrace Cu v obou roztocích byl přibližně  $10 \text{ mg.l}^{-1}$ . Pak byla provedena AAS analýza obou roztoků. Koncentrace Cu ve vzorku,  $\gamma(\text{Cu})$ , se vypočítá podle vzorce:

$$\gamma(\text{Cu}) = \frac{m \cdot V_1}{V_2 \cdot V_3} \frac{A_1}{A_2} w_w(\text{Cu}) \quad (19)$$

kde  $m$  je hmotnost pracovního roztoku SRM 3114,  $V_1$  objem odměrné baňky se vzorkem,  $V_2$  pipetovaný objem vzorku,  $V_3$  objem odměrné baňky SRM 3114,  $A_1$  hodnota absorbance zředěného roztoku, a  $A_2$  absorbance zředěného SRM 3114. Analogicky byly vyčísleny jednotlivé příspěvky (viz Tabulka 12) a celková kombinovaná nejistota je pak  $2,65 \text{ mg.l}^{-1} \text{ Cu}$ .

**Tabulka 12:** Složky neurčitosti pro AAS stanovení  $\gamma(\text{Cu})$ 

Parametr	Hodnota	Složka neurčitosti	Standardní nejistota	Vyhodnocovací metoda; poznámka
$m$	přibližně 1 g	Kalibrace	$u_r(m) = 5 \times 10^{-6}$ ; zanedbatelný	Jako v předchozí Tabulce
		Opakovatelnost		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
$V_1, V_3$	100 ml	Kalibrace		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy (každá opakovatelná analýza byla provedena s jinou baňkou)
		Opakovatelnost		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
		Teplota roztoku	Zanedbatelný	Teplota obou roztoků byla stejná
$V_2$	1,000 ml (gravimetrická kalibrace, $n = 5$ )	Kalibrace	$u_r(V_2) = 0,00035$	Jako v předchozí tabulce
		Opakovatelnost		Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
		Teplota roztoku	Zanedbatelný	Teplota roztoku $20.0 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$
$w_w(\text{Cu})$	$1,082 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$		$u(w_w(\text{Cu})) = 0,0008 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ $u_r(w_w(\text{Cu})) = 0,00074$	Kombinace neurčitostí SRM 3114 a gravimetrických operací během přípravy vzorku
$A_1, A_2$	Přibližně 0.1			Zahrnut v opakovatelnosti analýzy
Opakovatelnost analýzy			$s(\gamma(\text{Cu})) = 5,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$	Z výsledků opakované analýzy ( $n = 4$ )

### Metoda izotopového zředění a ICP-MS (ref. [12])

Analogickým i když složitějším způsobem lze postupovat v případě analýzy pomocí izotopového zředění v ICP-MS analýze. Výsledky výpočtu kombinované rozšířené nejistoty jsou pak uvedeny v následující Tabulce 13.

**Tabulka 13:** Ověření koncentrace komerčního standardního roztoku Cu (ref. [12])

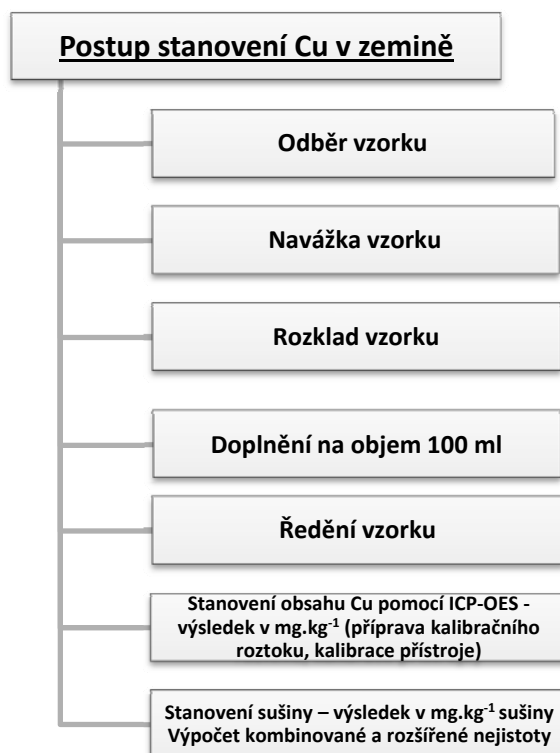
Postup, metoda	$c_{\text{Cu}}, \text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$
Deklarovaná koncentrace	$1000 \pm 2$
Gravimetrické stanovení	$1000,7 \pm 0,4$
AAS	$1001,4 \pm 5,3$
ICP-MS	$1000,6 \pm 8,4$ <sup>a</sup>
Izotopové zředování	$1002,4 \pm 1,8$ <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Merck isotope standard

<sup>b</sup> „In-laboratory prepared standard (ORNL)“

### **Příklad č. 4 Stanovení obsahu Cu ve vzorcích zemin metodou ICP-OES (adaptováno podle refs. [14] a [15])**

Tento příklad je uveden pro ilustraci jenom se závěrečnými výsledky. Postup stanovení je uveden v následujícím schématu na Obr. 8.



**Obr. 8:** Postup stanovení Cu v zemině

Obsah Cu ve vzorku zeminy se vypočítá podle vzorce:

$$w_{Cu} = \frac{\rho_{VZ} V_{VZ} d}{m_{VZ} W_{sušiny}} \times 10^5 \quad (20)$$

kde  $w_{Cu}$  je obsah Cu ve vzorku (v  $\text{mg.kg}^{-1}$  sušiny),  $\rho_{VZ}$  koncentrace Cu ve vzorku odečtená z kalibrační křivky (v  $\text{mg.l}^{-1}$ ),  $V$  je celkový objem vzorku (v l),  $m_{VZ}$  navážka vzorku (v g),  $w_{sušiny}$  obsah sušiny ve vzorku,  $d$  faktor ředění. Příklad stanovení pro konkrétní vzorek ukazují výsledek analýzy  $104 \text{ mg.kg}^{-1}$  sušiny.

**Tabulka 14:** Příspěvky nejistot pro stanovení obsahu Cu v zemině metodou ICP-OES.

Označení příspěvku nejistoty	Popis	Hodnota	Standardní nejistota	Rel. standardní nejistota
Odběr	Odběr vzorku – homogenita	1	0*	0*
Opakovatelnost	Opakovatelnost	1	0,092	0,092
$m_{VZ}$	Navážka vzorku	3058,1 mg	0,071*	0,000023*
$R$	Rozklad	1	0*	0*
$V_{VZ}$	Objem vzorku	100 ml	0,032* ml	0,00032*
$d$	Faktor ředění vzorku	5	0*	0*
$W_{suš}$	Obsah sušiny ve vzorku	87,99%	0,22%	0,0025
$\rho_{VZ}$	Koncentrace Cu z ICP-OES	0,562 $\text{mg.l}^{-1}$	0,020 $\text{mg.l}^{-1}$ *	0,036*

\* zjednodušení o příspěvek opakovatelnosti, který je zahrnut v opakovatelnosti celého analytického procesu



Po dosažení všech příspěvků nejistot vypočteme celkovou kombinovanou nejistotu jako  $10 \text{ mg.kg}^{-1}$  sušiny a rozšířená kombinovaná nejistota je pak  $20 \text{ mg.kg}^{-1}$  sušiny, výsledek lze psát ve tvaru  $104 \pm 20 \text{ mg.kg}^{-1}$  sušiny.

Analýza příspěvků k celkové nejistotě stanovení obsahu Cu (viz Tabulka 14) ukazuje, které příspěvky jsou největší. Největším příspěvkem je opakovatelnost celého procesu, který by mohl být snížen měřením paralelních vzorků a udáváním výsledku jako průměru celého stanovení (snížení z původních 0,095 na 0,065). Další možnost snížení kombinované nejistoty je v dokonalejší homogenizaci vzorků, dále pak ve snížení příspěvku hodnoty koncentrace  $\rho_{VZ}$ , která je ovlivněna především nejistotou směrnice kalibrační přímky, ale také příspěvku nespektrálních interferencí a dále slepým pokusem.

Analogicky Mestek a Komínková řešili stanovení Cu v krevním metodou ICP-MS [15], kde bylo ukázáno, že hlavní příspěvky o srovnatelné velikosti pochází z vypočtené koncentrace (přesnost, 2,8 rel.%), opravných faktorů na kalibraci (0.84 rel.%) a na nespektrální a spektrální interference (1,0 rel. %, resp. 0,4 rel. %). Podobné výsledky byly nalezeny v případě analýzy Pd ve vzorcích silničního prachu pomocí metody ICP-MS [16]: standardní roztoky 13%, kalibrace 15%, opakovatelnost 27%, spektrální interference 32%, nespektrální interference 13%.

### **Poděkování:**

Tato práce byla podporována grantem MŠMT KONTAKT ME0965.

### **Literatura:**

1. Ellison S.L.R., Rosslein M., Williams A. (Eds.): Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, EURACHEM 2000 (druhé vydání), přístupné v elektronické formě: <http://www.measurementuncertainty.org/mu/guide/index.html>
2. Suchánek M. (Ed.), Kvalimetrie. 11. Stanovení nejistoty analytického měření, EURACHEM-ČR, Praha 2001 (český překlad předchozí příručky).
3. Plzák Z., Suchánek M., Nejistoty analytických stanovení, *Chem. Listy* **89**, 687-693 (1995).
4. Horwitz W., Albert M., The concept of uncertainty as applied to chemical measurements, *Analyst* **122**, 615-617 (1997).
5. Kupka K, Statistické řízení jakosti, Trilobyte Pardubice 2001.
6. Meloun M., Militký J., Statistické zpracování experimentálních dat, ARS MAGMA, Praha 1998.
7. Kragten J., Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique, *Analyst* **119**, 2161-2166 (1994).
8. Mestek O., Suchánek M., Koplík R., Fingerová H., Čurdová E., Computer simulation of the uncertainty of analytical results, *Fresenius J. Anal. Chem.* **364**, 203-207 (1999).
9. Brix R., Hansen S.H., Barwick V., Tjørnelund J., Method optimisation with the use of uncertainty budgets. *Analyst* **127**, 140-143 (2002).
10. *European Pharmacopoeia*, EDQM Strasbourg 1997.
11. Mestek O., Hrubý V., Suchánek M., Příprava a ověření standardních roztoků niklu, selenu, thalia a zinku, *Chem. Listy* **94**, 136-141 (2000).

12. Mestek O., Hrubý V., Suchánek M., Preparation and testing of standard solutions of cadmium, copper and lead, *Accred. Qual. Assur.* **4**, 307-312 (1999).
13. Mestek O., Mališová K., Koplík R., Polák J., Suchánek M., Uncertainty of the concentration of a copper calibration solution. *Accred. Qual. Assur.* **13**, 305-310 (2008).
14. Šperková J, Stanovení obsahu mědi ve vzorcích vzácných zemin metodou optické emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem – hodnocení nejistot (str. 97-109) v Kučera J. (Ed.), *Nejistoty a návaznost výsledků spektroskopických metod. Základní kurs*, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Praha 2001.
15. Mestek O., Komínková J., Nejistoty měření metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (str. 83-96) v Kučera J. (Ed.), *Nejistoty a návaznost výsledků spektroskopických metod. Základní kurs*, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Praha 2001.
16. Polák J., Mestek O., Suchánek M., Uncertainty of determination of palladium in road dust sample by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Accred. Qual. Assur.* **10**, 627-632 (2006).

# Kalibrace a testování spektrometrů

Viktor Kanický

Laboratoř atomové spektrochemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně,  
Kotlářská 2, 61137 Brno.

## 1 Kalibrace ICP-OES

### 1.1. Úvod

Význačným rysem ICP-OES je lineární závislost intenzity emise na koncentraci analytu v rozsahu 4 až 6 řádů. Tato skutečnost vyplývá z fyzikálních vlastností a geometrie výboje ICP. V analytické praxi se obvykle nevyužívá celého lineárního rozsahu v rámci jedné metodiky nebo jednoho souboru vzorků. Kalibrační křivky proto bývají omezeny na užší intervaly koncentrací. Využití celého lineárního dynamického rozsahu ICP-OES v rámci jedné kalibrace však nebrání jen praktické důvody jako vysoké riziko kontaminace vzorků s nízkými obsahy analytu v přítomnosti vzorků s vysokými obsahy při jejich přípravě a měření, nýbrž i omezení vyplývající z použití lineární regrese.

Pro použití lineárního regresního modelu založeného na proložení dat metodou nejmenších čtverců je třeba, aby byly splněny následující podmínky: *i*) regresní parametry mohou nabývat libovolných hodnot; *ii*) regresní model je lineární v parametrech; *iii*) matice nenáhodných (nastavovaných) hodnot nezávislých (vysvětlujících) proměnných neobsahuje 2 sloupcové kolineární vektory; *iv*) náhodné chyby mají nulovou střední hodnotu; *v*) **náhodné chyby mají konstantní a konečný rozptyl (homoskedasticita)**; *vi*) náhodné chyby jsou vzájemně nekorelované ( $cov = 0$ ); *vii*) chyby mají normální rozdělení.

Obtíže při použití jediné kalibrační závislosti pro víceřádivý rozsah plynou ze skutečnosti, že z principu fungování ICP není splněna *homoskedasticita rozptylů* - bod *v*). Je proto vhodné vymezit užší kalibrační rozsahy pro konkrétní typy vzorků a posoudit kvality navrženého regresního modelu *regresní diagnostikou*, která odhalí případnou: *i*) *heteroskedasticitu* (nekonstantnost rozptylu v kalibrovaném rozsahu); *ii*) autokorelaci (časové řady, vzájemná korelace chyb); *iii*) odchylky od *normálního rozdělení* chyb.

Podrobnosti o testování vhodnosti lineární regrese a regresní diagnostice jsou obecného charakteru a lze je nalézt v relevantní literatuře. Tato kapitola se věnuje vztahu kalibrace a charakteristických vlastností signálu v ICP-OE

### 1. 2 Regresní modely pro kalibraci ICP-OES

Jednou z možností, jak kalibrovat víceřádivý lineární rozsah ICP-OES, je použití *vážené lineární regrese*. Tento model zohledňuje heteroskedasticitu rozptylů pomocí vah

$$w_j = \frac{1}{\sigma_j^2} \quad (1)$$

kde  $\sigma_j$  je směrodatná odchylka na příslušné koncentrační úrovni  $j$ . Místo obvyklého těžiště regresní přímky získané obyčejnou lineární regresí, jehož souřadnice  $\bar{x}$  a  $\bar{y}$  jsou vypočteny jako průměrné hodnoty souřadnic experimentálních bodů, tak získáme těžiště o souřadnicích

$$\tilde{x} = \sum_j w_j x_j / \sum_j w_j \quad \tilde{y} = \sum_j w_j y_j / \sum_j w_j \quad (2)$$

kde  $x_j$  a  $y_j$  jsou souřadnice jednotlivých experimentálních (kalibračních) bodů. Rovnice kalibrační přímky má potom tvar

$$\hat{y}_j = \tilde{y} + b(x_j - \tilde{x}) \quad (3)$$

kde  $b$  regresní parametr (směrnice) a  $\hat{y}_j$  je regresní hodnota signálu pro koncentraci  $x_j$ .

Kalibrovaný rozsah lze také rozdělit na 2 oblasti, z nichž oblast nižších koncentrací je charakterizována konstantní směrodatnou odchylkou (SD), kdežto v oblasti vyšších koncentrací SD roste lineárně s koncentrací (signálem). Faktorem proporcionality je relativní směrodatná odchylka (RSD), která je v této oblasti prakticky konstantní. Mezi oběma oblastmi je plynulý přechod, nicméně toto rozdělení umožňuje aplikovat obyčejnou lineární regresi. V oblasti konstantní RSD se uplatní obyčejná lineární regrese po logaritmické transformaci dat ( $\lg x$ ;  $\lg y$ ). Uvedené oblasti lze normalizovat k hodnotě koncentrace ekvivalentní pozadí *BEC* pro daný prvek a tak rozdělení na 2 rozsahy zobecnit.

Oblast konstantní SD (SD čisté, „net line“ intenzity emise analytu, tedy emise po korekci pozadí) je charakteristická pro rozsah koncentrací od meze detekce po hodnotu *BEC*, tj. pro rozsah  $10^{-2} \times BEC$  až  $10^0 \times BEC$ , což představuje 2 až 2,5 řádu. Oblast konstantní RSD čisté („net line“) intenzity emise analytu představuje rozsah  $10^1 \times BEC$  až  $10^3 \times BEC$ , tedy opět 2 až 2,5 řádu. Uvedené možnosti lze kombinovat do čtyř případů:

1. lineární regrese v lineárních souřadnicích v rozsahu 4 řádů, tedy pro obě odlišné oblasti současně;
2. lineární regrese po logaritmické transformaci dat v souřadnicích ( $\lg x$ ;  $\lg y$ ) v rozsahu 4 řádů;
3. lineární regrese pro 2 spodní řády;
4. lineární regrese ( $\lg x$ ;  $\lg y$ ) pro 2 horní řády.

Ze srovnání experimentálních a regresních hodnot jednotlivých kalibračních bodů pro uvedené 4 modely vyplývá, že:

1. vzhledem k převažujícímu vlivu čtverců odchylek signálů odpovídajících vysokým koncentracím nastává při minimalizaci obyčejnou (neváženou) lineární regresi ke zkreslení v oblasti 2 nižších řádů, což se projeví proložením regresní přímky mimo oblast bodů odpovídajících nízkým koncentracím a drastickými odchylkami regresních hodnot od správných koncentrací;
2. jediná lineární regrese v souřadnicích ( $\lg x$ ;  $\lg y$ ) aplikovaná současně na obě oblasti má za následek mírné zkreslení v celém rozsahu 4 řádů;
3. regresní hodnoty koncentrací v oblasti 2 nižších řádů jsou při použití lineární regrese zúžené na tuto oblast ve velmi dobré shodě s výchozími koncentracemi;
4. po logaritmické transformaci souřadnic bodů ležících v oblasti 2 vyšších řádů poskytuje regrese zúžená na tuto oblast velmi dobrou shodu regresních a zadaných hodnot koncentrací.

Z uvedených výsledků vyplývá, že nejvhodnějším řešením je rozdělení koncentračního intervalu přesahujícího 2 až 2,5 řádu na dvě samostatné oblasti s odlišným vyhodnocením.

V ICP-OES jsou pozorovány v případě některých prvků (například Ca, Mg) a jejich čar (rezonančních) při vysokých koncentracích nelineární průběhy závislosti signálu na

koncentraci (samoabsorpce). Pro případ, že kalibrační, resp. analytická funkce má nelineární průběh, bývají vyhodnocovací programy vybaveny algoritmy, které vycházejí buď z aproximace křivky polygonem nebo spojitou funkcí. Jako příklady lze uvést tyto funkce:

1. polynom druhého stupně 
$$y = A_0 + A_1 x + A_2 x^2 \quad (4)$$

2. bikvadratický polynom 
$$y = A_0 + A_1 x^n + A_2 x^{2n} \quad (5)$$

3. logaritmicko-exponenciální funkce 
$$\lg y = A_0 + A_1 \left[ \frac{1}{1 + \exp[-(\lg x - A_2) / B]} \right] \quad (6)$$

Počet a rozmístění kalibračních bodů jsou dány obecnými pravidly statistiky a závisejí na požadavcích na přesnost měření. Na rozdíl od kalibrace, kterou provádíme s plným počtem kalibračních bodů (5-6) z důvodu určení regresních parametrů, jejich intervalů spolehlivosti a pásu spolehlivosti, k rekalibraci postačují jeden až dva rekalibrační body (vysoká koncentrace – „high point“, nízká koncentrace – „„ případně jako spodní bod slouží nulový roztok). Na základě měření jednoho z rekalibračních bodů případně obou se nastavuje aktuální hodnota směrnice (rotace kalibrační přímky kolem spodního bodu), úseku (paralelní posun kalibrační přímky) nebo obou parametrů kalibrační přímky (rotace i posun na základě měření obou bodů).

## 2 Testování spektrometrů

### 2.1 Úvod

Analytická metoda je charakterizována obecně několika *analytickými vlastnostmi*, které určují spolehlivost výsledků. Tyto vlastnosti jsou:

- opakovatelnost,
- reprodukovatelnost,
- správnost (pravdivost),
- stabilita,
- interference osnovy vzorku („matrix efekty“)
- selektivita signálu (míra příspěvků nedokonale rozlišených signálů pocházejících od složek vzorku k signálu sledovaného analytu)
- meze detekce.

Uvedené vlastnosti charakterizují i metody vyvinuté pro ICP-OES/MS. Uživatel ICP spektrometru proto plánuje systematické aktivity (testy), které zajišťují splnění požadavků na analytickou výkonnost (analytical performance) dané metody. K tomuto účelu slouží standardní operační postupy. Při této pravidelné a dlouhodobé kontrole je třeba, aby uživatel při nastavení spektrometru nejen dosáhl očekávaných hodnot uvedených vlastností, ale aby tyto hodnoty dlouhodobě udržoval na dohodnuté úrovni. Z tohoto požadavku vyplývá nutnost vedení záznamů o provedených testech.

## 2.2 Kritické procesy v optickém emisním spektrometru s ICP zdrojem

Přístroj pro ICP-OES lze rozdělit z hlediska příspěvků ke kvalitě *analytických vlastností* na čtyři komponenty, v nichž se uskutečňují jednotlivé *kritické procesy*:

1. Část zahrnující generátor s plazmovým výbojem. Tato komponenta je zodpovědná za kritický proces *přenos energie*.
2. Část obsahující systém generování aerosolu a jeho transportní trasu do plazmatu. Tato komponenta je zodpovědná za kritický proces *zavádění vzorku*.
3. Část mezi zdrojem ICP a vstupní štěrbinou spektrometru. Tato komponenta určuje kritický proces *přenos záření*.
4. Část mezi vstupní štěrbinou spektrometru a detektorem. Tato komponenta určuje kritický proces *izolace a detekce signálu*.

Vztah mezi analytickými vlastnostmi a kritickými procesy je zřejmý z Tabulky 1.

Tabulka 1. Vztah mezi analytickými vlastnostmi a kritickými procesy

Analytické vlastnosti	Kritické procesy			
	Přenos energie	Zavádění vzorku	Přenos záření	Izolace signálu
Opakovatelnost	★	★		
Reprodukovatelnost	★	★	★	★
Správnost	★	★		
Stabilita	★	★	★	
Matrix efekt	★	★		
Selektivita				★
Meze detekce	★	★	★	★

## 2.3 Specifikace experimentu pro testování ICP-OES

Pro testování správné funkce jednotlivých komponent spektrometru na základě sledování analytických vlastností je třeba vytvořit vhodnou diagnostiku. Měření a sběr dat se uskutečňují standardním programovým vybavením spektrometru. V takovém případě lze uložit výsledky experimentů jako analytickou metodu. Experimenty jsou časově nenáročné a naměřené hodnoty se zpracují do podoby těchto poměrů:

- poměr intenzit emise čar,
- poměr intenzit emise pozadí,
- poměr signálu k pozadí (SBR),
- relativní standardní odchylka (RSD).

Na základě poměrů lze opakované diagnostické testy porovnávat. Z praktických důvodů se provádí diagnostika s jediným roztokem obsahujícím pokud možno omezený počet testovacích prvků. V Tabulce 2 jsou uvedeny obecně testovací parametry pro diagnostiku jednotlivých kritických procesů.

Tabulka 2. Kritické procesy ICP-OES a údaje k testování jejich stavu

Kritický proces	Testovací parametry
Přenos energie	Poměr emise iontové a atomové čáry
Přenos záření	Poměr pozadí ve viditelné a UV oblasti spektra
Zavádění vzorku	SBR a RSD vhodných čar
Izolace signálu	Pološířka čáry = šířka v polovině výšky při $\lambda_{\max}$ (FWHM)
ICP spektrometr jako celek	Meze detekce (LOD) testovacích prvků

## 2.4 Výběr testovacích prvků a spektrálních čar

Výběr prvků a spektrálních čar pro diagnostiku je proveden tak, aby bylo možno měřit emisi atomových i iontových čar s minimálním počtem prvků a současně pokrýt velký rozsah celkové energie potřebné pro excitaci  $E_{sum} = E_{ion} + E_{exc}$ . Spektrální čáry by měly pokrývat UV i Vis oblast spektra a jejich pološířky by měly dostatečně malé k posouzení rozlišení v UV i Vis oblasti spektra. Tyto požadavky splňuje výběr prvků a jejich spektrálních čar uvedený v Tabulce 3.

Koncentrace Mg a Ba na úrovni  $1 \text{ mg l}^{-1}$  je z hlediska citlivosti čar dostačující, v případě Zn je optimální koncentrace přibližně  $10 \text{ mg l}^{-1}$ . Roztok je stabilizován kyselinou dusičnou.

Tabulka 3 Vybrané spektrální čáry pro monitorování změn v komponentách ICP-OES

Spektrální čára (nm)	$E_{exc}$ (eV)	$E_{ion}$ (eV)	$E_{sum}$ (eV)	FVHM (pm)
Ar I 404	14,69			
Ba II 455	2,72	5,21	7,93	3,6
Ba II 233	6,01	5,21	11,22	1,5
Mg I 285	4,35			
Mg II 280	4,42	7,65	12,07	
Zn II 206	6,01	9,39	15,40	

Čára argonu má vysokou excitační energii a reaguje na přenos energie do plazmatu i na zatížení analytického kanálu vzorkem, neboť je emitována z kanálu ICP i z indukční oblasti. V diagnostice může být použita, avšak stejnou úlohu plní poměr čar Mg II/Mg I (viz dále). Vybrané čáry Ba se nacházejí v UV a Vis části spektra a umožňují proto monitorovat změny v kvalitě přenosu záření v obou spektrálních oblastech. Tyto čáry jsou současně dostatečně úzké pro posouzení rozlišení spektrometru v UV/Vis. Čára Ba II 455 nm navíc představuje iontovou čáru s nejnižší celkovou energií excitace. Opačný extrém z hlediska energetických nároků na buzení přechodu představuje čára Zn II 206 s nejvyšší celkovou energií excitace ze všech používaných prominentních analytických spektrálních čar v ICP. Čára Mg I 285 nm je vhodná pro posouzení účinnosti zmlžování. Ze všech čar uvedených v Tabulce 3 má nejnižší nároky na excitaci. Změny přenosu energie do plazmatu mají tedy minimální vliv na velikost signálu. Variabilita intenzity emise této čáry proto vypovídá pouze o změně množství analytu a tedy aerosolu vneseného do plazmatu. Pro dlouhodobé sledování trendu a porovnání stavu

slouží poměr signálu k pozadí (SBR), neboť normalizace emise čáry k emisi pozadí kompenzuje změny propustnosti optického systému.

Významnou úlohu má v diagnostice ICP poměr spektrálních čar hořčíku (Mg II/Mg I). O jeho významu a použití pojednává následující kapitola.

### **2.5 Použití poměru intenzit spektrálních čar Mg II/Mg I pro testování v ICP-OES**

Poměr intenzit emise iontové a atomové čáry vybraného prvku byl využíván již v minulosti pro studium odchylek od lokální termodynamické rovnováhy (LTE) v ICP. Z celé řady prvků se pro tento účel nejlépe osvědčil právě hořčík s využitím atomové čáry Mg I 285 nm a iontové čáry Mg II 280 nm, poněvadž:

- i)* Vlnové délky obou čar jsou velmi blízké a tudíž lze při použití skenujícího monochromátoru využít skutečnosti, že spektrální citlivost fotonásobiče je prakticky stejná pro obě čáry. Uvedená skutečnost zjednodušuje formulaci kritéria pro poměr intenzit obou čar. (V případě plošného polovodičového detektoru nebo polychromátoru s fotonásobiči je třeba zohlednit rozdílnou charakteristiku detektorů pomocí koeficientu poměru citlivostí).
- ii)* Intenzita emise obou čar je blízká, následkem čehož je poměr intenzit obou čar vyjádřen malým číslem (větším než jedna).
- iii)* V případě obou čar jsou známy hodnoty pravděpodobností spektrálních přechodů s přijatelnou správností pro výpočet teoretických absolutních hodnot poměrů intenzit.

Poměr Mg II/Mg I byl úspěšně využíván při studiu vlivů různých parametrů ICP na LTE, jako jsou frekvence oscilátoru, doba pobytu vzorku v plazmatu, rychlost transportu aerosolu, průtok nosného plynu, typ konstrukce plazmové hlavičky či použité zmlžovače. Poměr čar Mg II/Mg I se uplatnil také při studiu nespektrálních interferencí či zavádění organických rozpouštědel.

Jelikož lze pomocí poměru Mg II/Mg I zjistit, zda je v ICP ustavena lokální termodynamická rovnováha (LTE), je možno jej také použít jako optimalizační kritérium při nastavování pracovních podmínek ICP a kontrolovat jejich stabilitu. Za podmínek LTE probíhají atomizační, excitační a ionizační procesy v ICP s maximální účinností. Takové podmínky se označují z analytického hlediska jako robustní („robust conditions“). Použití poměru Mg II/Mg I bylo proto rozšířeno z oblasti studia procesů v plazmatu do aplikační, metodické oblasti ICP spektrometrie. Absolutní hodnota poměru intenzit Mg II/Mg I může být také použita pro srovnání různých ICP-OES systémů a jejich pracovních podmínek.

Dlouhodobým používáním poměru Mg II/Mg I při radiálním měření v ICP bylo prokázáno, že může sloužit jako jednoduchý a účinný způsob kontroly podmínek v plazmatu. Významnou vlastností kritéria Mg II/Mg I je skutečnost, že může lokalizovat původ matričních interferencí, tj. určit, zda jejich příčinou je změna podmínek plazmatu nebo změna tvorby, transportu a filtrace aerosolu. Identifikace příčiny interferencí vyplývá z Tabulky 4. Jestliže se záměnou čistého roztoku obsahujícího pouze analyt za roztok s obsahem analytu i matrice nezmění poměr Mg II/Mg I ani signál analytu, pak jsou podmínky v ICP robustní a není ovlivněna ani tvorba a transport aerosolu. Jestliže se změní pouze signál analytu, pak jsou sice podmínky v ICP robustní, ale do plazmatu přichází aerosol, jehož množství, rozdělení velikostí částic a obsah analytu v částicích různé velikosti jsou odlišné od aerosolu generovaného z roztoku bez matrice. Prakticky to znamená, že robustní podmínky v ICP sice



nepotlačily matrix efekt, ale jeho původ není v plazmatu. Nejméně příznivý je stav, při němž nastává změna poměru i signálu analytu. Nelze rozhodnout, zda je hlavní příčinou matrix efektu plazma nebo zmlžování aerosolu, poněvadž obě komponenty se na efektu podílejí.

Tabulka 4 Souvislost změn poměru Mg II/Mg I a signálu analytu se změnou koncentrace matrice vzorku.

Mg II/Mg I	Signál analytu	Plazma	MLžná komora
žádná změna	žádná změna	robustní	bez vlivu
žádná změna	změna	robustní	vliv
změna	změna	nerobustní	?

Teoretický výpočet poměru intenzit Mg II 280 nm / Mg I 285 nm vychází z kombinace Sahovy a Boltzmannovy rovnice a byl v literatuře mnohokrát popsán.

$$\frac{I_i}{I_a} = \left( \frac{4,83 \times 10^{21}}{n_e} \right) \left( \frac{g_i \cdot A_i \cdot \lambda_a}{g_a \cdot A_a \cdot \lambda_i} \right) T_e^{3/2} \times \exp\left( \frac{-E_{ion}}{k \cdot T_e} \right) \exp\left[ \frac{-(E_{exc,i} - E_{exc,a})}{k \cdot T_{exc}} \right] \quad (7)$$

kde  $E_{exc}$  je excitační energie,  $E_i$  je ionizační energie,  $T_{exc}$  je excitační teplota,  $T_e$  je ionizační teplota,  $g_a$  a  $g_i$  jsou statistické váhy daného stavu (excitovaného stavu atomu, iontu),  $A_a$  a  $A_i$  jsou přechodové pravděpodobnosti emise excitovaného atomu a excitovaného iontu,  $\lambda_a$  a  $\lambda_i$  jsou vlnové délky emise atomové a iontové čáry. Za předpokladu LTE platí, že  $T_{exc} = T_e = T$ . S použitím hodnot součinnů  $g_a \cdot A_a$  a  $g_i \cdot A_i$  z tabulek, tj.  $5,32 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$  pro Mg II 280,270 nm a  $14,85 \times 10^8 \text{ s}^{-1}$  pro Mg I 285,213 nm se získá vztah mezi teplotou  $T$ , elektronovou hustotou  $n_e$  a poměrem intenzit  $I_i/I_a$ , viz Tabulka 5. Elektronová hustota se vypočte ze Sahovy rovnice pro danou teplotu pro argon.

Tabulka 5 Teploty  $T$  (K), elektronové hustoty  $n_e$  ( $\text{m}^{-3}$ ) a poměry intenzit Mg II 280,2720 nm / Mg I 285,213 nm vypočtené za předpokladu LTE.

T (K)	$n_e$ ( $\text{m}^{-3}$ )	$I_i/I_a$
6500	$1,01 \times 10^{20}$	10,8
7000	$2,83 \times 10^{20}$	11,4
7500	$6,90 \times 10^{20}$	12,1
8000	$1,51 \times 10^{21}$	12,7
8500	$3,01 \times 10^{21}$	13,4
9000	$5,57 \times 10^{21}$	14,1
9500	$9,70 \times 10^{21}$	14,8
10000	$1,60 \times 10^{22}$	15,4

Z Tabulky 5 je zřejmé, že teoretický poměr intenzit emise Mg II/Mg I za LTE by měl být roven alespoň hodnotě 10 pro radiální měření v ICP. O axiálním ICP bude pojednáno samostatně.

Poměr čar Mg II/Mg I v případě monochromátoru je přímo roven teoretickému poměru vypočtenému podle vztahu (7). Při malém rozdílu vlnových délek (5 nm) se nemění transmitance pomocné optiky, reflexivita zrcadel či mřížky ani *spektrální charakteristika* běžného fotonásobiče. Podmínkou je ovšem stejné zesílení na fotonásobiči při měření obou zmíněných čar. Přesto je však třeba pro zachování teoretického poměru uplatnit v některých případech přepočtení pomocí korekčního faktoru. Tato situace nastává v například v případě, kdy při použití mřížky s hustotou čar (vrypů)  $2400 \text{ mm}^{-1}$  se měří ve spektrální oblasti nad 300

nm v 1. řádu spektra a pod 300 nm ve 2. řádu spektra s použitím fotonásobiče typu „solar blind“, jehož spektrální charakteristika vykazuje v blízkosti 300 nm hranu. Dalším případem je dispersní systém založený na použití mřížky typu echelle. Čáry Mg se mohou nacházet v různých řádech spektra. Účinnost difrakce je v různých řádech odlišná a mění se i v rámci jednoho řádu. Tehdy se použije korekční faktor vypočítaný jako poměr pozadí Bkgd 285/Bkgd 280, neboť pozadí se v tomto malém rozsahu vlnových délek prakticky nemění a poměr naměřených intenzit zachovává poměr difrakčních účinností. Bylo například zjištěno, že Bkgd 285/Bkgd 280 je roven 1,85 v případě spektrometru Perkin-Elmer Optima 3000 a 1,80 pro ICP Varian Vista.

## 2.6 Testování

Měřené hodnoty potřebné pro provedení testu uvádí Tabulka 6. Měření nevyžaduje mimořádný postup, poněvadž se jedná o intenzitu emise čáry, intenzitu emise pozadí a relativní standardní odchylku intenzity emise čáry a pozadí a dále pološířku čáry (FWHM).

Tabulka 6 Experimentální hodnoty pro testování

Spektrální čára (nm)	FWHM	Emise čáry	Emise pozadí	RSD <sub>L</sub> (čáry)	RSD <sub>B</sub> (pozadí)
Ar I 404		★			
Ba II 455	★	★	★	★	★
Ba II 233	★	★	★	★	★
Mg I 285		★	★	★	
Mg II 280		★		★	
Zn II 206		★	★	★	★

Naměřené hodnoty se zpracují podle Tabulky 7, v níž je uveden také vztah takto získaných parametrů k testovaným vlastnostem (kritickým procesům) a komponentám spektrometru.

Tabulka 7 Testovací parametry, vlastnosti spektrometru a jeho komponenty (Bkgd = pozadí)

Testovací parametr	Vlastnost (kritický proces)	Komponenta
Ba II 233 nm – profil čáry	Rozlišení UV	Dispersní systém
Ba II 455 nm – profil čáry	Rozlišení Vis	Dispersní systém
Mg II 280 nm/Mg I 285 nm	Atomizace/ionizace	Generátor ICP
Bkgd 455 nm/bkgd 233 nm	Čočky/zrcadla - absorpce	Kolimátor
SBR Mg I 285 nm	Účinnost zmlžování	Zmlžování
RSD <sub>L</sub> všech čar (krátkodobě)	Opakovatelnost	Celý systém ICP-OES
RSD <sub>L</sub> Mg I 285 nm (dlouhodobě)	Reprodukovatelnost	Celý systém ICP
Ba II 233 nm, 3c×RSD <sub>B</sub> /SBR *	Mez detekce	Celý systém ICP
Zn II 206 nm, 3c×RSD <sub>B</sub> /SBR *	Mez detekce	Celý systém ICP

\* c = koncentrace prvku, při níž je naměřen signál S

Pro testování polychromátoru s detekčním systémem tvořeným fotonásobiči se použijí osazené spektrální čáry, které mají podobné energie přechodů jako čáry používané u sekvenčních systémů. Polychromátor s fotonásobiči obvykle není osazen atomovou čarou

hořčíku a nemusí být vybaven kanály pro Zn II 206 nm a Ba II 455 nm. Příklady alternativních testovacích čar uvádí Tabulka 8.

Tabulka 8 Alternativní čáry pro testování spektrometru ICP-OES

<b>Původní test</b>	<b>Alternativní čára</b>	
<b>Sekvenční spektrometr</b>	<b>Polychromátor s fotonásobiči</b>	<b>E<sub>sum</sub> (eV)</b>
Ba II 455	Sr II 404	8,72
Ba II 233	Ba II 233	11,22
Mg II 280	Mg II 279	12,06
Mg I 285	Cu I 324	3,82
Zn II 206	Cd II 226	14,45

Místo poměru Mg II 280/Mg I 285 se použije poměr Mg II 279/Cu I 324. Poněvadž pro tuto dvojici není odvozen teoretický (absolutní) poměr, je možno srovnávat pouze odchylky od poměru Mg II/Cu I zjištěného při optimálních podmínkách.

Odlišný optimální poměr MgII/Mg I je pozorován u *axiálního* ICP. Je to způsobeno skutečností, že při tomto uspořádání leží na optické ose kolimátoru všechny zóny analytického kanálu. Současně je tak měřena emise nejen oblasti, kde vykazují maximální intenzitu iontové čáry (NAZ), ale i z oblasti maximální emise čar atomových (IRZ). Jelikož při *radiálním* pozorování plazmatu je signál snímán pouze z NAZ, kde vykazují maximální emisi jen iontové čáry (kdežto atomové čáry zde mají menší citlivost), je poměr MgII /Mg I při *axiálním* pozorování menší. Bylo zjištěno, že při optimálním příkonu je v rozsahu optimálních průtoků nosného plynu poměr Mg II /Mg I **nižší o 4**, tedy optimální hodnotě poměru **10** (a vyšší) pro *radiální* ICP odpovídá optimální hodnota **6** (a vyšší) pro *axiální* ICP. Shodný rozdíl byl naměřen také pro optimální průtok nosného plynu v širokém rozsahu příkonů do plazmatu.

Pořadí testů má svou logickou posloupnost. Test zmlžování pomocí SBR Mg I následuje po testu poměru Mg II/MgI. Opakovatelnost se zjišťuje z 10 po sobě následujících měření, kdežto reprodukovatelnost se stanovuje z měření v různých dnech.

Testováním poměru Mg II/Mg I lze kromě vlivu matrice a vlivu neoptimálního nastavení příkonu, výšky pozorování a průtoku nosného plynu určit závažné poruchy generátoru ICP. K těm patří například deformace indukční cívky plazmové hlavice nebo kontaminace chladicí vody v uzavřeném cirkulačním okruhu. Přítomnost iontů (například mědi v důsledku koroze potrubí chladicího systému) zvyšuje vodivost chladicí vody, což ovlivňuje impedanci cívky ICP a přenos energie do plazmatu s následným drastickým poklesem poměru Mg II/Mg I.

Usazování nečistot na čočkách kolimátoru způsobuje snížení propustnosti pro záření z UV oblasti podstatně více než pro záření z Vis oblasti spektra. Indikátorem znečištění je pokles poměru Bkgd 233 / Bkgd 455.

Diagnostika ICP-OES při pravidelném opakování a vedení záznamů je vhodnou preventivní metodou. Současně umožňuje nalézt příčinu zhoršení kvality analytických výsledků.

## **Literatura**

M. Meloun, J. Militký: Kompendium statistického zpracování dat, Academia, Praha, 2006.

K. Eckschlager, I. Horsák, Z. Kodejš: Vyhodnocování analytických výsledků a metod, SNTL, Praha, 1980.

V. Otruba a kol.: Kurs ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2008, ISBN 80-903732-4-0.

J. M. Mermet: Optimization in ICP-AES: criteria of optimization, operating parameters and diagnostics, přednáška, Masarykova univerzita, Brno 2000.

J. M. Mermet a kol.: soubor publikací, 1989 – 2008.

# Prvková a izotopická frakcionace během laserové ablace geologických vzorků metodou ICP-MS

*Jitka Miková 1, Jan Košler 2*

*1 Česká geologická služba, Geologická 6, Praha 5, 152 00 (jitka.mikova@geology.cz)*

*2 Department of Earth Science, University of Bergen, Norway*

Frakcionace obecně je proces, při kterém dochází k oddělení jednotlivých složek původně homogenní směsi na základě jejich odlišných chemických či fyzikálních vlastností (např. typ vazby, reaktivita, relativní atomová hmotnost, bod varu, velikost částic). Prvková a izotopická frakcionace jsou hlavními faktory, které nepříznivě ovlivňují přesnost a správnost analýz pevných vzorků prováděných metodou hmotové spektrometrie s plazmovým zdrojem (ICP-MS). Frakcionací během laserové ablace se rozumí změna poměru dvou prvků, respektive jejich izotopů, či poměru dvou izotopů téhož chemického prvku během jediné analýzy, tj. po dobu několika desítek sekund až několika minut laserové ablace pevného vzorku (řádově první stovky až tisíce laserových pulsů). Naopak nelze za frakcionaci považovat na čase měření nezávislé odchylky měřených prvkových nebo izotopických poměrů od jejich skutečných (doporučených) hodnot. Tyto odchylky jsou důsledkem závislosti molární sensitivity na měřené izotopické hmotě a nazývají se hmotovou diskriminací. Frakcionace rovněž nezahrnuje změny molární sensitivity v závislosti na složení matrice vzorku.

Přestože byla problematika prvkové frakcionace rozpoznána již během prvních aplikací laserové ablace v materiálových a geologických vědách v polovině 80. let, její příčiny a mechanismus jsou stále nejasné. Je zřejmé, že vliv na prvkovou frakcionaci mají především vlnová délka laseru [1-7], fluence [8], poměr průměru a hloubky laserového kráteru, který je mimo jiné závislý na počtu laserových pulsů [4,9], složení nosného plynu [9,10] a chemismus vzorku, včetně fázového a chemického složení matrice [8,11-13]. Přes značné úsilí řady autorů se dosud prvkovou frakcionaci nepodařilo odstranit, existuje pouze řada technik, které ji omezují. Mezi ně patří především úprava designu ablační cely [14,15], použití krátké vlnové (např. 213 nm Nd:YAG, 193 a 157 nm Excimer) délky UV laseru [1-7], rastrování laserového paprsku na povrchu vzorku [4,9] a použití nosného plynu o malé specifické hmotnosti (např. He; [9,10]). Problematika izotopické frakcionace během laserové ablace byla poprvé ilustrována na příkladu analýzy izotopického složení Cu [16].

Z dosavadních studií o prvkové a izotopické frakcionaci není jednoznačně zřejmé, zda k frakcionaci dochází v místě ablace, během transportu ablační aerosolu či v plazmovém zdroji hmotového spektrometru. V tomto příspěvku se zabýváme studiem mechanismů a příčin prvkové (Pb-U, alkalické prvky) a izotopické (Fe) frakcionace během analýzy geologických vzorků, zejména silikátů, silikátových skel, sulfidů a přírodních slitin Fe, jakými jsou například železné meteority.

Stanovení poměru Pb/U v silikátech má v geologii řadu aplikací, zejména v oblasti datování akcesorických minerálů (zirkon, monazit, apatit, allanit, titanit a další) metodami založenými na přírodním rozpadu radioaktivních izotopů  $^{238}\text{U}$  a  $^{235}\text{U}$  na stabilní produkty  $^{206}\text{Pb}$  a  $^{207}\text{Pb}$ . Vzhledem k velikosti akcesorických minerálů (obvykle v rozpětí od desítek  $\mu\text{m}$  do jednotek mm), jejich vztahu k ostatním minerálům a často komplikované vnitřní struktúře je obvykle výhodné toto datování provádět formou bodové analýzy s prostorovým rozlišením v řádu jednotek až desítek mikrometrů. Tradičně byl tento typ analýz prováděn po chemickém rozkladu a chromatografické separaci pomocí hmotového spektrometru s termálním zdrojem iontů (TIMS). Alternativním postupem byla analýza vzorků v pevném stavu pomocí iontové mikrosondy (SIMS). Laserová ablace ve spojení s ICP-MS je další možnou technikou pro datování akcesorických minerálů.

Přesnost stanovení izotopických poměrů Pb/U pomocí LA ICP-MS se pohybuje obvykle v řádu 1 – 5 % (1 sigma). Od počátku rozvoje této metody v polovině devadesátých let byla hlavní překážkou zvýšení přesnosti a reprodukovatelnosti měření poměrů Pb/U prvková frakcionace, jejíž rozsah je často v řádu desítek až stovek procent [17,18,19]. Jednou z možných příčin prvkové frakcionace během měření jsou variace v prvkovém a fázovém složení ablatovaných částic a přednostní transport určitého typu částic do ICP. Během tohoto studia jsme provedli řadu velikostních, chemických a fázových analýz aerosolu vzniklého ablací silikátového skla (NIST 610 a 612) a zirkonu ( $\text{ZrSiO}_4$ ) [20]. Použité metody studia částic zahrnují transmisní (TEM) a skenovací (SEM) elektronovou mikroskopii, elektronovou difrakci, vzorkování pomocí energetického svazku iontů Ga (focused ion beam, FIB) a bodové analýzy pomocí hmotové spektrometrie sekundárních iontů (SIMS). Velikostní distribuce částic byla studována pomocí laserového fotometru spojeného s difúzní baterií. Výsledkem bylo zjištění, že během bodové analýzy se výrazně mění jak velikost částic, tak i jejich fázové a chemické složení. Během prvních 250 laserových pulsů typické analýzy silikátového skla je cca 50% částic obsaženo ve velikostní frakci 1 – 2.5  $\mu\text{m}$ , 50% částic je menších než 1  $\mu\text{m}$ . Poté se velikostní distribuce aerosolu výrazně mění a vznikají částice o rozměrech jednotek až prvních desítek nm. Zatímco složení (obsahy hlavních prvků) částic mikrometrových rozměrů v aerosolu je odlišné od složení původního vzorku, částice nanometrových rozměrů mají složení původního silikátového skla. Všechny typy částic, stejně jako ablatované sklo, jsou amorfní. Během laserové ablace zirkonu vzniká rovněž široké velikostní spektrum částic od nm do  $\mu\text{m}$  rozměrů, avšak tyto částice mají odlišné nejen chemické, ale i fázové složení. Zatímco některé částice jsou tvořené tetragonálním  $\text{ZrSiO}_4$ , jiné obsahují amorfní  $\text{SiO}_2$  či monoklinický  $\text{ZrO}_2$  (baddeleyit). Podobné fázové změny byly pozorovány také v zirkonu v bezprostředním okolí laserového kráteru a lze je s největší pravděpodobností vysvětlit termálním rozpadem zirkonu podle reakce  $\text{ZrSiO}_4 = \text{SiO}_2 + \text{ZrO}_2$ . Během této reakce lze očekávat, že alespoň část uranu obsažená v zirkonu přejde do krystalové mřížky baddeleyitu, zatímco radiogenní olovo zůstane buď v zirkonu, bude vázané do amorfního  $\text{SiO}_2$  či bude tvořit samostatné částice. Pomocí tohoto mechanismu lze tedy uspokojivě vysvětlit prvkovou frakcionaci Pb/U (nárůst tohoto poměru s počtem laserových pulsů) během analýzy silikátů pomocí LA ICP-MS). Přestože na základě provedených experimentů nelze vyloučit prvkovou frakcionaci Pb/U během transportu ablatovaného

materiálu a jeho další frakcionaci v ICP, je zřejmé, že k frakcionaci olova a uranu dochází již během ablace v ablační cele. Vzhledem k závislosti mechanismu frakcionace na fázovém složení analyzovaných vzorků lze očekávat, že míra prvkové frakcionace bude závislá také na složení matrice analyzovaného vzorku. Pokud je při stanovení prvkového poměru Pb/U využíváno externí kalibrace, použité standardy by tedy měly mít stejné fázové a chemické složení, jako analyzované vzorky. Pouze v takovém případě je totiž možné použít externí kalibraci ke korekci prvkové frakcionace.

### *Prvková frakcionace alkalických prvků (Li, Na, K, Rb) během laserové ablace silikátů*

Alkalické prvky (Li, Na, K a Rb) hrají z hlediska geologie důležitou úlohu, protože jsou zastoupeny v mnoha minerálech, ať už jako hlavní, či vedlejší prvky. V geologii se jich využívá při studiu rozmanitých horninotvorných procesů k datování (Rb-Sr, K-Ar), v termobarometrii a někdy také jako interního standardu při analýzách jiných litofilních prvků. Problémy s analýzou alkalických prvků, jsou již dlouhou dobu známy především z analýz albitu ( $\text{NaAlSi}_3\text{O}_8$ ) a jiných sodíkem bohatých silikátových materiálů pomocí elektronové mikrosondy, kdy během měření dochází k dramatickému poklesu signálu Na. Toto chování je typické nejen pro sodík, ale i pro ostatní alkálie [21]. Také při analýze alkalických prvků metodou laserové ablace ICP-MS dochází k systematickým změnám signálu – frakcionaci v průběhu analýzy, pravděpodobně v důsledku redistribuce prvků ve vzorku. Mechanismus a dosah těchto změn není dosud plně znám, ale zahrnuje různé difusní mechanismy a fázové změny u krystalických materiálů. Pro albit byla publikována data o preferenční difuzi sodíku ve směru krystalografické plochy (010) [22, 23].

S využitím laserové ablace ICP-MS, energiově disperzního spektrometru (EDS), systému difrakce zpět odražených elektronů (EBSD) a hmotové spektrometrie sekundárních iontů (SIMS) jsme analyzovali dva mezinárodní referenční materiály (BCR-2G a NIST 610), přírodní albit ve dvou krystalografických orientacích (010 a 001) a sadu syntetických skel andezitového složení obohacenou alkalickými prvky v různých koncentracích [24]. Kromě alkalických prvků byl také analyzován křemík a vápník, které byly v souladu s běžnou praxí použity jako interní standardy k normalizaci měřených hodnot. Cílem této studie bylo lepší porozumění procesům způsobujícím prvkovou frakcionaci, proto jsme se zaměřili na složení částic a změny složení vzorku bezprostředně pode dnem laserového kráteru. Homogenita vzorků byla testována pomocí EDS a krystalografická orientace albitu byla určena na základě výsledků EBSD. Analýza složení depositu částic v okolí ablačního kráteru metodou SIMS ukázala systematickou změnu složení částic s rostoucí vzdáleností od ablačního kráteru. Vzhledem ke struktuře depositu v okolí kráteru, kdy největší  $\mu\text{m}$  částice jsou usazené v těsném okolí ablačního kráteru a s rostoucí vzdáleností od hrany kráteru se velikost částic postupně zmenšuje až do řádu nm, jsou tyto výsledky indikací rozdílného složení jednotlivých velikostních frakcí částic. Stejně jako v předchozím případě je složení (obsahy alkalických prvků)  $\mu\text{m}$  částic v aerosolu odlišné od složení původního vzorku, zatímco částice nm rozměrů mají složení původního materiálu, ať už jde o silikátové sklo, nebo o krystalický albit. Hloubkové SIMS profilování pode dnem laserově ablačního kráteru ukázalo systematickou změnu složení analyzovaného materiálu, která je největší těsně pod kráterem a do hloubky postupně vyznívá. Hloubkový dosah těchto změn způsobených interakcí

laserového paprsku se vzorkem je cca 70 nm pro parametry laseru použité v této studii. V silikátových sklech jsou ochuzeny všechny měřené prvky s výjimkou Ca, naopak v albitu je Na obohacené v obou krystalických orientacích a Si lehce obohacené v albitu (001) a ochuzené v albitu (010). Výsledky analýz LA ICP-MS ukazují, že měřené intenzity signálu jednotlivých alkalických prvků během laserové ablace normalizované Si a Ca vykazují frakcionační trendy, které se liší v závislosti na použitém normalizačním prvku, protože poměr Ca/Si se také mění v průběhu analýzy. Studie andezitových skel prokázala vliv koncentrace na frakcionaci, kdy míra frakcionace vzrůstá s rostoucí koncentrací alkalického prvku.

Výsledky všech analýz potvrzují, že k významné frakcionaci alkalických prvků dochází přímo v místě ablace, během interakce laseru s analyzovaným materiálem. Koncentrace jednotlivých alkalických prvků v synteticky připravených andezitových sklech má nezanedbatelný vliv na míru prvkové frakcionace. Nicméně při srovnání rozdílných materiálů se ve větší míře uplatňují efekty rozdílné matrice vzorku. Tepelná alterace materiálu během laserové ablace vede ke změnám chemismu v závislosti na velikosti částic aerosolu (rozdílný proces vzniku). Distribuce tepla ve vzorku během ablace může způsobit nejen difuzi prvků, ale také teplotní gradienty v rozdílných krystalografických směrech. Z toho vyplývá, že prvková frakcionace může být ovlivněna orientací vnitřní struktury krystalického vzorku. Do budoucna bude nutné zjistit a posoudit významnost tohoto jevu pro jiné prvky a geologické materiály.

Důležitým zjištěním je také skutečnost, že distribuce hlavních prvků, které jsou rutinně využívány v kvantitativní analýze geologických materiálů pro normalizaci výsledků měření (Si, Ca) je také významně ovlivněna tepelnými efekty v okolí ablačního kráteru. Nezanedbatelné rozdíly mezi chováním Si a Ca během laserové ablace ukazují na nutnost pečlivého výběru interního standardu, který je důležitým faktorem ovlivňujícím přesnost a správnost analýzy pomocí LA ICP-MS.

#### *Izotopická frakcionace Fe během laserové ablace sulfidů a železných meteoritů*

Mezi nejvýznamnější faktory omezující přesnost a správnost analýz izotopického složení Fe v přírodních vzorcích pomocí LA ICP-MS s multikolektorem patří vliv molekulárních interferencí, hmotová diskriminace (typicky cca 5%  $\text{amu}^{-1}$ ), respektive krátkodobé variace míry hmotové diskriminace a izotopická frakcionace Fe během ablace (~ 4 ‰ během cca 1200 laserových pulsů) [25,26,27]. Izotopické složení ablatovaných částic bylo studováno stejnými metodami, jaké byly použity pro studium prvkové frakcionace během ablace silikátů. Bylo zjištěno, že během ablace kovů i sulfidů vznikají minimálně dvě velikostní frakce částic, které se liší svým izotopickým a často i fázovým složením. Větší částice o rozměrech desetin až jednotek  $\mu\text{m}$  jsou tvořeny jak amorfni, tak i krystalickou hmotou a obsahují izotopicky těžší Fe ve srovnání s amorfni částicemi o velikosti jednotek nm. Příčinou této izotopické frakcionace jsou s největší pravděpodobností termální efekty během laserové ablace, popřípadě opakované odpařování a kondenzace ablatovaného materiálu na stěnách laserového kráteru. Zatímco přesnost jednotlivých měření izotopického složení Fe se pohybuje v řádu setin ‰, dlouhodobá reprodukovatelnost izotopických měření Fe je cca 0.2 ‰ pro  $\delta^{56}\text{Fe}$  a  $\delta^{57}\text{Fe}$  (2 standardní směrodatné odchylky). I přesto, že



reprodukovatelnost i přesnost měření pomocí laserové ablace jsou o řád nižší ve srovnání s analýzou izotopů Fe v roztoku, existuje řada geologických aplikací kde, v rámci přírodní variace složení izotopů Fe (cca 4 ‰), lze v řadě případů pomocí laserové ablace odlišit jednotlivé geochemické procesy probíhající v měřítku několika desítek  $\mu\text{m}$ . Příkladem je analýza izotopického složení Fe v sulfidech z aktivních hydrotermálních systémů či analýza izotopického složení Fe-Ni slitin v železných meteoritech [28]. Během studia hydrotermálních pyritů ( $\text{FeS}_2$ ) z oblasti Mohns Ridge v severním Atlantiku byly zjištěny rozdíly několika ‰ v izotopickém složení Fe sulfidů z různých hloubkových úrovní hydrotermálního pole. Tyto variace lze vysvětlit nejspíše pomocí mísení Fe bohatých hydrotermálních roztoků různého původu. Během analýzy železných meteoritů bylo zjištěno, že izotopické složení železa Ni-bohatých lamel (taenitu) je o 1 - 3 ‰ těžší ve srovnání se sousedními lamelami kamacitu (Ni-chudší fáze v železných meteoritech). Tyto rozdíly lze nejspíše vysvětlit jako důsledek termálního vývoje železných meteoritů během odmišení obou fází. Podobně jako v případě analýzy hydrotermálního pyritu, izotopické studium lamel meteoritů je nezbytné provádět in-situ s použitím metody, jejíž prostorové rozlišení dosahuje řádu desítek  $\mu\text{m}$ , jakou je právě laserová ablace ve spojení s ICP-MS.

### *Závěr*

Poznání příčin a mechanismů prvkové a izotopické frakcionace a její omezení, popřípadě korekce, jsou nezbytnou podmínkou pro dosažení požadované přesnosti a správnosti při analýze geologických vzorků. Ve výše uvedených příkladech bylo prokázáno, že k frakcionaci dochází již v místě ablace. Pro další snížení míry frakcionace tedy bude důležité se věnovat především parametrům laseru a podmínkám, za kterých laserová ablace probíhá, stejně jako výběru vhodného vnitřního standardu.

### *Literatura*

1. Jeffries TE, Pearce NJG, Perkins WT, Raith A (1996) *Anal Com* 33: 35.
2. Figg D, Kahr MS (1997) *Appl Spectr* 51: 1185.
3. Jeffries TE, Jackson SE, Longerich HP (1998) *J Anal Atom Spectr* 13: 935.
4. Mank AJG, Mason PRD (1999) *J Anal Atom Spectr* 14: 1143.
5. Günther D, Heinrich CA (1999) *J Anal Atom Spectr* 14: 1369.
6. Liu H, Borisov OV, Mao X, Shuttleworth S, Russo RE (2000) *Appl Spectr* 54: 1435.
7. Russo RE, Mao XL, Borisov OV, Liu H (2000) *J Anal Atom Spectr* 15: 1115.
8. Cromwell EF, Arrowsmith P (1995) *Appl Spectr* 49: 1652.
9. Eggins SM, Kinsley LPJ, Shelley JMG (1998) *Appl Surf Sci* 127: 278.
10. Günther D, Heinrich CA (1999) *J Anal Atom Spectr* 14: 1363.
11. Fryer BJ, Jackson SE, Longerich HP (1995) *Canadian Mineralogist* 33: 303.
12. Longerich HP, Günther D, Jackson SE (1996) *Fresenius J Anal Chem* 355: 538.
13. Outridge PM, Doherty W, Grégoire DC (1997) *Spectrochim Acta B* 52: 2093.
14. Jackson SE, Longerich HP, Horn I, Dunning GR (1996) *J Conf Abstr* 1: 283.
15. Bleiner D, Günther D (2001) *J Anal Atom Spectr* 16: 449.
16. Jackson SE, Günther D (2003) *J Anal Atom Spectr* 18: 205.
17. Jackson SE, Longerich HP, Dunning GR, Fryer BJ (1992) *Canadian Mineralogist* 30: 1049.

18. Sylvester P ed (2001) MAC Short Course 29.
19. Košler J, Sylvester P (2003) *Rev Mineral Geochem* 53: 243.
20. Košler J, Wiedenbeck M, Wirth R, Hovorka J, Sylvester P, Míková J (2005) *J Anal Atom Spectr* 20: 402.
21. Humphreys MCS, Kearns SL, Blundy JD (2006) *Am Mineral* 91: 667.
22. Jones A, Islam MS, Mortimer M, Palmer D (2004) *Phys Chem Minerals* 31: 313.
23. Lin TH, Yund RA (1972) *Contr. Mineral Petrol* 34: 177.
24. Míková J., Košler J, Longerich HP, Wiedenbeck M, Hanchar JM (2009) *J Anal Atom Spectr*, DOI: 10.1039/B900276F.
25. Anbar AD (2004) *Earth Planet Sci Lett* 217: 223.
26. Beard BL, Johnson CM, Skulan JL, Nealson KH, Cox L, Sun H (2003) *Chem Geol* 195: 87.
27. Hirata T, Ohno T (2001) *J Anal Atom Spectr* 16: 487.
28. Košler J, Pedersen R, Kruber C, Sylvester P (2005) *J Anal Atom Spectr* 20: 192.

## Validace analytických postupů

*Pavel Janoš a Václav Synek*

*Fakulta životního prostředí, Univerzita J. E. Purkyně, Ústí nad Labem,  
e-mail: [pavel.janos@ujep.cz](mailto:pavel.janos@ujep.cz), [vaclav.synek@ujep.cz](mailto:vaclav.synek@ujep.cz)*

Podle obecné definice je validace „potvrzení přezkoušením a poskytnutím objektivního důkazu, že jsou jednotlivé požadavky pro specifické zamýšlené použití splněny“. Objektivní důkaz pak je „informace, jejíž pravdivost může být prokázána na základě skutečností získaných pozorováním, měřením, zkoušením nebo jinými prostředky“. Pojem „objektivní důkaz“ umožňuje různé výklady. Je možné např. uvažovat a diskutovat o tom, zda a do jaké míry lze v rámci validace využít informace získané z literatury, z jiných laboratoří, v rámci jiných studií apod. I když v různých oborech a systémech managementu kvality může být pojem validace vykládán poněkud odlišně, v oblasti chemických analýz došlo v poslední době k určitému sjednocení přístupů a požadavků na validaci metod jak v samotných laboratořích, tak ze strany akreditačních orgánů, zejména v souvislosti se zavedením normy ČSN EN ISO/IEC 17025.

Norma ČSN EN ISO/IEC 17025 vyžaduje validaci u metod nenormalizovaných, případně u normalizovaných metod používaných mimo zamýšlenou oblast použití apod. (čl. 5.4.5.2). Z toho vyplývá, že u normalizovaných metod se validace nevyžaduje. Předpokládá se, že validace byla provedena v rámci procesu standardizace. Součástí norem bývají též základní údaje o výkonnostních charakteristikách metody získané během validace, obvykle přinejmenším údaje o opakovatelnosti a reprodukovatelnosti. Je třeba ovšem zdůraznit, že i v případě normalizovaných metod leží zodpovědnost výhradně na uživateli (tedy laboratoři), který musí zajistit, aby validace byla úplná pro posouzení, zda metoda vyhovuje pro požadovaný účel [1].

Nutno poznamenat, že novější vydání normy používá pro překlad termínu „standard methods“ volnější formulaci „metody uvedené v normách a normativních dokumentech“, čímž je míněna široká škála dokumentů počínaje technickými normami a konče např. firemními materiály a odbornými publikacemi. I postupy uvedené v těchto materiálech je tedy možno považovat za normalizované a nemusela by se u nich požadovat „plná“ validace. Je zřejmé, že kvalita těchto materiálů a případně kvalita validace analytického postupu v nich uvedeného se může výrazně měnit. K tomu je třeba přihlídnout při rozhodování o tom, zda je validace nezbytná, případně jaký rozsah validace je nutný.

Stěží si lze představit analytickou laboratoř, která by začala používat sebelépe normovanou a dokumentovanou metodu aniž by si sama vyzkoušela, jak tato metoda „chodí“. Určitá míra validace (ověření, verifikace, ...) je tedy nutná i u normalizovaných metod. Laboratoř by měla přinejmenším demonstrovat, že je schopna dosáhnout základních charakteristik (zvl. opakovatelnosti) srovnatelných s údaji publikovanými v normě. Dále pak je třeba zvážit, které z charakteristik nelze z normy jednoduše převzít, a přesto je nutno je znát při úvahách o aplikaci normy; může to být např. mez detekce, která často závisí na konkrétním zařízení používaném v laboratoři, případně selektivita, rozlišení apod.

U nenormalizovaných metod je pochopitelně potřebný rozsah validace větší a zahrnuje větší počet charakteristik, které je nutno stanovit. Ani zde však není rozsah validace dán nějak dogmaticky. Dnes je již vcelku obecně akceptováno, že ani v případě „úplné“ validace není vždy nutné vyšetřovat všechny možné výkonnostní charakteristiky metody, ale je třeba přihlížet k uvažovanému použití metody. Nemá např. většinou smysl stanovovat mez detekce u metod určených ke stanovení hlavních složek ve vzorku. Proces validace by tedy měl začínat přesným vymezením oblasti použití metody (což u chemických analýz nemusí být vždy zcela triviální). Požadavky na metodu a její výkonnostní charakteristiky by sice měly vycházet z požadavků zákazníků, ti ovšem své požadavky specifikují v jiných termínech, než se kterými se pracuje v laboratoři (např. cena, doba analýzy apod.). Snad jedinou charakteristikou, která by měla (poučenější) zákazníky zajímat, je nejistota spojená s výsledkem zkoušky. Údaje jako citlivost či selektivita zákazníka nemusí zajímat – ty slouží laboratoři k posouzení, zda je schopna požadavkům zákazníka vyhovět. Laboratoř tedy validuje metodu především pro sebe, přičemž má potvrdit, že uvažovaná metoda má výkonnostní charakteristiky srovnatelné s parametry, které její využití vyžaduje. Současně je třeba tyto charakteristiky vyhodnotit [2].

Častým způsobem validace jsou mezilaboratorní studie; v některých oblastech zkoušení se ani jiný způsob neuznává, nebo donedávna neuznával. To je ovšem záležitostí organizací zabývajících se přípravou norem. Pro jednotlivé laboratoře není tento způsob většinou přímo použitelný. Nenormalizované metody včetně metod v laboratoři vyvinutých lze validovat technicky platným způsobem přímo v laboratoři. Řada parametrů může být stanovena už během vývoje metody. Při vhodném plánování pokusů pak nemusí být proces validace neúměrně pracný a nákladný.

Při přípravě validační studie je třeba vzít v úvahu tři „zlatá pravidla validace“:

- validovat celou metodu
- validovat celý rozsah koncentrací
- validovat v rozsahu všech uvažovaných matic.

Mezi výkonnostní charakteristiky a parametry, které se stanovují v procesu validace chemických analytických metod, patří:

*Potvrzení identity, selektivita/specifičnost.* Je třeba prokázat, že signál získaný v měřicím procesu, nebo jiná měřená vlastnost, odpovídají analytu, který chceme stanovit (nebo vlastnosti, kterou chceme měřit). Je třeba vyšetřit, nakolik toto měření může být ovlivněno přítomností ostatních složek ve vzorku, charakterem vzorku apod. K tomu se využívá:

- Analýzy (certifikovaných) referenčních materiálů.
- Metody přídatku analytu k dané matici – studie výtěžnosti (nemusí být vždy spolehlivé).
- Porovnání s jinými metodami.
- Studie interferencí – přídatků potenciálních interferujících složek ke vzorku se známým obsahem analytu.

*Stanovení meze detekce a stanovitelnosti.* Tyto meze se vyjadřují (zjednodušeně řečeno) jako určitý násobek „šumu“, přičemž šum se vyjádří pomocí směrodatné odchylky. Mez detekce se obvykle vyjadřuje jako množství (koncentrace) analytu poskytující signál odpovídající trojnásobku směrodatné odchylky, při odhadu meze stanovitelnosti se pak uvažuje desetinásobek směrodatné odchylky. Doporučený postup pro stanovení meze detekce je „slepý pokus + 3s“ [2]. Ne vždy je snadné realizovat skutečně reálný slepý pokus. V praxi lze pro odhady meze detekce a stanovitelnosti použít těchto postupů:

- Opakovaně měřit slepý vzorek.
- Opakovaně měřit slepý vzorek s malým přídatkem analytu.
- Odhadnout směrodatnou odchylku z parametrů kalibrační závislosti.
- U některých metod lze odečíst „šum“ přímo ze záznamu (např. z chromatogramu).

První dva z výše uvedených postupů lze současně využít k odhadu opakovatelnosti měření.

*Určení pracovního rozsahu, lineárního rozsahu.* Určí se obvykle z parametrů kalibrační závislosti. Dolní hranice pracovního rozsahu by neměla být nižší, než mez stanovitelnosti. Horní hranice je dána rozsahem kalibrace. Často existují omezení vyplývající z fyzikálních principů měření. Pracovní rozsah může být širší, než lineární rozsah.

*Preciznost – pravdivost – přesnost* (poznámka spíše terminologická). Základními pojmy, se kterými byli analytici zvyklí pracovat, byly *přesnost* a *správnost*, přičemž přesnost byla definována jako těsnost shody mezi nezávislými výsledky měření a vyjadřována pomocí směrodatné odchylky, zatímco *správnost* byla definována jako těsnost shody mezi výsledkem měření a přijatou referenční hodnotou (mírou nesprávnosti je pak *vychýlení – bias*). V posledních letech sílí snaha uplatnit v analytické chemii obecné metrologické principy a postupy hodnocení výsledků používané v jiných oblastech měření. Při snaze o sjednocení české terminologie se ukázalo, že v různých oblastech měření se některé základní pojmy po dlouhá desetiletí vyvíjely odlišným způsobem. Jde zejména o překlad anglických termínů *precision-accuracy-trueness*. V některých oblastech fyzikálních a technických měření byl pro překlad těchto pojmů zaveden naprosto odlišný způsob, než bylo zvykem v analytické chemii. Oba názvoslovné systémy byly (alespoň v těchto bodech) naprosto neslučitelné, a proto byl v několika posledních letech usilovně hledán kompromis. Příležitostí ke sjednocení terminologie by mohlo být zavedení nového metrologického slovníku, tzv. VIM 3 [3]. Tento klíčový dokument byl vydán v češtině jako TNI 01 0115 [4]. Pro překlad anglického výrazu *precision* je zde zaveden zcela nový termín *preciznost* (těsnost shody mezi indikacemi nebo naměřenými hodnotami veličiny získanými opakovaným měřením na stejném objektu nebo na podobných objektech). *Measurement trueness* se překládá jako *pravdivost měření* (těsnost shody mezi aritmetickým průměrem nekonečného počtu opakovaných naměřených hodnot veličiny a referenční hodnotou veličiny), zatímco *accuracy* (těsnost shody mezi naměřenou hodnotou veličiny a pravou hodnotou měřené veličiny) se překládá jako *přesnost* (tedy zásadně odlišným způsobem, než bylo v analytické chemii zvykem). Pro podrobnější diskusi nové terminologie viz [5].

*Opakovatelnost/reprodukovatelnost.* Jde o míry preciznosti za specifikovaných podmínek. Vyjadřují se ve formě směrodatné odchylky. Opakovatelnost lze získat v laboratoři opakovaným měřením, reprodukovatelnost se určuje pomocí mezilaboratorní studie. V laboratoři lze získat různým způsobem definované hodnoty tzv. mezilehlé preciznosti, které mohou zahrnovat vliv různých operátorů, času, případně vliv různých zařízení apod. Tyto charakteristiky lépe vyjadřují výkonnost laboratoře při aplikaci dané metody, než údaje o opakovatelnosti. Často je lze celkem pohodlně (ovšem nikoliv okamžitě) získat z operativního řízení jakosti (regulačních diagramů).

*Robustnost.* Je definována jako „odolnost“ proti malým změnám postupu. Při vyhodnocení je třeba zvážit, jak detailně je postup definován, které z parametrů mohou mít vliv na výsledek zkoušky, které z nich má laboratoř „bezpečně pod kontrolou“, které se mohou měnit a v jakém rozmezí. Zde je velice těžké podat obecný návod postupu. Studie robustnosti vyžaduje velké zkušenosti a vysoce kvalifikovaný přístup při plánování. Z hlediska provedení se používají metody plánování pokusů – faktorové pokusy.

Pomocí výše uvedených postupů lze určit i některé další charakteristiky (např. vychýlení jako míru nepřesnosti).

Úplný postup validace se vyžaduje při zavádění nové metody. Za určitých podmínek může být zapotřebí metodu re-validovat, případně znovu stanovit (ověřit) vybrané charakteristiky. Může jít zejména o případy:

- Rozšíření oblasti použití metody.
- Změna (částečná) pracovního postupu.
- Změna zařízení, činidel aj.
- Pokud údaje z operativního řízení jakosti signalizují nevyhovující výsledky.

Údaje z validace se využívají v rozhodovacím procesu (přezkoumání zakázek) a jsou cenným zdrojem informací při odhadu nejistoty měření [6]. Problematice odhadu nejistoty při chemických analýzách byla v poslední době věnována značná pozornost [6,7]. I když ještě zdaleka nejsou vyřešeny všechny problémy a sporné otázky je zřejmé, že tento koncept je užitečný a je nyní všeobecně přijímán odbornou veřejností. Postup odhadu nejistoty nebudeme v tomto příspěvku podrobněji rozebírat. Poznamenejme jen, že validační studie obvykle neposkytuje úplné a spolehlivé odhady všech příspěvků k celkové nejistotě měření. Účelné je spojit výsledky validační studie s údaji z operativního řízení jakosti, případně z jiných zdrojů [7]. V dodatku k tomuto příspěvku jsou shrnuty možné přístupy k odhadu nejistot a uvedeny některé příklady.

Výsledky zkoušek bývají podkladem pro různá rozhodnutí, často velice závažná. Tato rozhodnutí už obvykle nejsou v kompetenci laboratoře. Povinností laboratoře je ovšem poskytnout co nejúplnější podklady pro rozhodování. Typickým požadavkem je vyjádření o tom, zda výsledky zkoušek jsou v souladu s určitými specifikacemi. Pravidla pro hodnocení shody s limity (specifikacemi) mohou být v různých oborech odlišná a vždy je třeba nejprve zjistit, zda pro daný specifický případ neexistuje specifické pravidlo dané zvláštním

předpisem, např. vyhláškou, výrobkovou normou apod. Často ovšem specifické pravidlo neexistuje. Pak lze použít obecných pravidel uvedených např. v normě ČSN ISO 10576-1 [8].

### **Literatura:**

1. Průvodce jakostí v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci. Příručka CITAC/Eurachem 2002. České vydání jako Kvalimetrie 12, Eurachem-ČR, Praha 2003.
2. Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti. České vydání jako Kvalimetrie 9, Eurachem-ČR, Praha 1999.
3. ISO/IEC Guide 99: 2007 *International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms, VIM*.
4. TNI 01 0115:2009 *Mezinárodní metrologický slovník - Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM)*.
5. Z. Plzák: Jak překládat precision, accuracy a trueness? Metodický list 2, EURACHEM-ČR, 2009. <http://www.eurachem.cz/metodicke-listy.php>
6. Stanovení nejistoty analytického měření. Příručka CITAC/Eurachem, druhé vydání z r. 2000. České vydání jako Kvalimetrie 11, Eurachem-ČR, Praha 2001.
7. Š. Doškářová, P. Janoš, Z. Plzák, M. Suchánek, P. Šubrt: Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. Kvalimetrie 13, Eurachem-ČR, Praha 2003.
8. ČSN ISO 10576-1: 2004 *Směrnice pro hodnocení shody se specifikovanými požadavky – Část 1: Obecné principy*.

## Dodatek: Nejistoty měření. Literární přehled a vybrané příklady

### *Teoretické základy*

Pokud vyjádříme výsledek měření jen pomocí naměřené hodnoty, tedy jedním číslem (bodovým odhadem), můžeme si být jisti tím, že se „netrefíme“ do skutečné (pravé, správné) hodnoty měřené veličiny. Můžeme jenom doufat (a spolu s námi naši zákazníci), že jsme se „nesekli“ příliš, a že náš odhad se od skutečnosti příliš neliší. Toho si samozřejmě analytici byli vždy dobře vědomi a spolehlivost odhadu různými způsoby naznačovali, například pomocí počtu platných číslic výsledku. Ne vždy však jsou zákazníci a uživatelé výsledků chemických analýz schopni a ochotni takové výsledky dešifrovat, zvláště pokud se jedná o výsledky méně běžných analýz vyjádřené v nezvyklých jednotkách – viz např. stanovení velmi nízkých koncentrací škodlivin v různých materiálech. Pro výsledky uváděné např. v ng/ml (jejich spolehlivost, přesnost) nemá většina lidí vypěstovaný takový cit, jako pro výsledky uváděné v procentech. Proto se v současné době vyžaduje, aby byl bodový odhad výsledku měření doplněn další kvantitativní veličinou vyjadřující spolehlivost měření. Vyžaduje se, aby výsledek měření nebyl vyjádřen jedním číslem, ale jako interval, o kterém můžeme s danou pravděpodobností předpokládat, že obsahuje pravou hodnotu. Touto veličinou, která určitým způsobem vyjadřuje spolehlivost výsledku, je **nejistota**. Bez této veličiny nemohou být výsledky srovnávány vzájemně či s hodnotami určenými specifikací (normami), nemůže být rozhodnuto, zda jsou vhodné pro daný účel. Nejistota je neoddelitelný atribut každého výsledku měření [GUM 1993]. Nejde o nic jiného než o požadavek, aby analytik nebyl pouhým producentem čísel, ale aby spolu s těmito čísly dodal další informace potřebné pro jejich využití. Výsledek bez uvedené nejistoty není úplným výsledkem.

Nejistota výsledku je důsledkem toho, že každý výsledek je měřen s určitými chybami. Chyby nebo spíše jejich složky se při určitém měření mohou chovat buď jako náhodné, nebo jako systematické. Toto chování lze rozeznat při opakovaném měření výsledku. Chyby, které ovlivňují výsledek náhodně, způsobují, že opakované výsledky daného vzorku se od sebe liší a určitá naměřená hodnota je vlastně jedna „náhodně vytažená“ z celého rozdělení hodnot možných. Chyby systematické způsobují, že všechny výsledky naměřené za určitých podmínek jsou vůči hledané „skutečné hodnotě“ vychýleny o konstantní nebo konstantní relativní rozdíl (nejjednodušší modely systematických chyb). Hodnotu tohoto vychýlení se snažíme určit měřením, abychom buď zjistili, že jeho hodnota není významná a můžeme ji zanedbat, a nebo zjistili, že je významná a mohli případně výsledky měření vzorků korigovat na toto vychýlení. Určená hodnota vychýlení je v důsledku působení náhodných chyb opět pouze jedna určitá z celého rozdělení možných naměřených hodnot, jež jsou rozloženy kolem skutečné hodnoty systematické chyby. I toto rozptýlení musíme uvážit, ať již korekci na vychýlení provedeme, když je významné, nebo neprovedeme, protože není významné. Výsledek měření je tedy v důsledku působení chyb obojího charakteru určitá hodnota náhodně „vybraná“ z rozmezí hodnot, jež mohly být naměřeny a které bychom mohli považovat za rozumný odhad hodnoty měřené veličiny (skutečné měřené hodnoty). V GUM (1993) odstavec 0.3 se píše: „Je zřejmé, že i kdyby byly všechny známé nebo předpokládané složky chyb vyhodnoceny a naměřený výsledek jimi korigován, stejně zůstávají určité pochybnosti o tom, jak dobře tento výsledek reprezentuje hodnotu měřené veličiny, tj. stále existuje určitá



nejistota takto stanoveného výsledku“. Je vhodné si současně uvědomit, že vlastní měřená veličina často není nebo nemůže být definována tak, aby mohla být charakterizována v podstatě jedinečnou hodnotou, a že tedy přímo z její definice vyplývá existence celého rozdělení možných „skutečných hodnot“ [GUM 1993 – odst. 1.2].

Podle definice ISO je **nejistota měření** parametr spojený s výsledkem měření, který charakterizuje míru rozptýlení hodnot, jež by mohly být důvodně (reasonably) přisouzeny měřené veličině [GUM 1993 – odst. 2.2.3]. Dokument Analytical Methods Committee (1995) k vysvětlení tohoto pojmu připojuje, že se vlastně jedná o odhad rozmezí hodnot, v němž leží skutečná (pravá - true) hodnota měřené veličiny.

Nejistota měření může být vyjadřována jako **standardní nejistota**,  $u$ , tj. kvantifikována jako směrodatná odchylka (SD) vyjadřující míru rozptýlení hodnot;

**rozšířená nejistota**,  $U$ , tj. veličina určující interval kolem výsledku měření (*vlastně jeho pološířka*), o němž lze očekávat, že bude zahrnovat velký podíl rozdělení hodnot, které by mohly být oprávněně přisuzovány měřené veličině (ČSN P ISO/TS 21748:2005); vymezuje tyto hranice.

Koncepce nejistot je presentována v dokumentu Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM 1993), na jehož tvorbě se podílelo více mezinárodních organizací a který představuje jakousi „bibli nejistot“. Tento dokument uvádí definice a teorie, obecné i praktické návody pro vyhodnocení nejistot a jejich uvádění. Základní dokument zaměřený na aplikaci nejistot v analytických měřeních je publikace Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (český překlad Kvalimetrie 6, 1996), který vyšel v roce 2000 v přepracovaném vydání (český překlad Kvalimetrie 11, 2001). Pro možnost dalšího rozvoje vyhodnocování a uplatňování nejistot oblasti analytických měření byly vytvořeny dva návody, jeden pro odhad nejistot měření pocházejících ze vzorkování [EURACHEM/CITAC Guide 2007 A] druhý pro využití nejistoty při ohodnocení shody výsledku se specifikací [EURACHEM/CITAC Guide 2007 B].

Dokument GUM byl vytvořen především na základě zkušeností z metrologie fyzikálních měření, kde veličiny ovlivňující výsledek měření jsou většinou zřetelně viditelné a mechanismus jejich působení na výslednou hodnotu lze více či méně snadno popsat matematickými vztahy známými z teorie, systematické chyby dominují nad náhodnými. Ukázalo se, že aplikace na analytická měření nebo dokonce biologická měření je obtížnější, neboť v těchto měřeních převládají naopak náhodné chyby, takže systematické chyby se v nich ztrácejí a jsou obtížně korigovatelné [Hund et al. 2001; Valcárel a Ríos 1999].

### ***Různé přístupy k odhadu nejistot***

Při uplatňování koncepce „ISO nejistot“ na analytická měření vykristalizovaly v podstatě dva, respektive tři přístupy:

První přístup, nazývaný „error budget“ nebo také „bottom-up“ („účet chyb“ nebo „bilance chyb“, „zdola nahoru“), nejvíce odpovídá všeobecným metrologickým postupům uváděným v (GUM 1993). Vychází z kompletního rozboru všech zdrojů nejistot daného analytického měření v laboratoři. Vyhodnocuje jejich individuální nejistotní příspěvky, které pak slučuje v celkovou kombinovanou nejistotu na základě zákona šíření nejistot. Pro

přehledné znázornění všech efektů působících na veličiny vstupující do výpočtu při určování měřené veličiny a na případné další veličiny, jež je ovlivňují, se používá diagram příčin a následků (Ishikawův diagram neboli také „fish bone“ diagram). Ten má zajistit úplnost všech započítávaných složek nejistot a na druhé straně zabránit jejich opakovanému započítávání. Jednotlivé příspěvky zdrojů nejistot nebo případně společné příspěvky kombinací některých z nich je třeba kvantifikovat v konečné podobě jako SD – standardní nejistoty veličin vstupních a ovlivňujících. Tyto dílčí nejistoty jsou pak slučovány v jedinou konečnou kombinovanou nejistotu. Kombinace jednotlivých příspěvků je většinou prováděna na základě matematických výpočtů opírajících se o rovnici vyjadřující závislost výsledku měření na vstupních a případně i ovlivňujících veličinách (často je toto kombinování nejistot prováděno postupně v několika krocích). Vychází se z jednoduchých pravidel vytvořených na základě aproximace prvního řádu z Taylorova rozvoje, tzv. zákona šíření nejistot, viz GUM (1993 - kap. 5) a Kvalimetrie 11 (2001) - EURACHEM (2000), kde je detailně popsán celý tento postup určování nejistot. Při složitějším výchozím výpočetním vztahu lze slučovat dílčí nejistoty ve výslednou nejistotu případně za pomoci tabulkového editoru (spreadsheet calculation), což je uvedeno např. v publikacích Kragten (1994) a Kvalimetrie 11 (2001) - EURACHEM (2000). Lze použít i metodu Monte Carlo [Gonzales et al. 2005; JCGM 2006], která umožňuje překonat matematická problémy pokud jsou uvažovány i např. nelineární závislosti.

Od postupu „účet chyb“ je odlišován postup vycházející z dat, jež byla získána v laboratořích v rámci validačních studií a řízení jakosti, i když i tento druhý postup dodržuje principy výpočtu „ISO nejistot“ z dílčích nejistot dle GUM (1993). Je obvykle nazýván postup „top-down“ („shora dolů“). Je velmi vhodný pro vyhodnocování nejistot právě analytických měření. Lze rozlišit v podstatě dvě varianty podle toho, zda se vychází z dat mezilaboratorních nebo vnitrolaboratorních. Původní „top-down“ přístup vychází z mezilaboratorní studie testující danou analytickou metodu z hlediska opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a pravdivosti – trueness. Tyto charakteristiky lze zpracovat v nejistotu dané zkušební metody, která může být platná pro jednotlivé laboratoře používající tuto metodu, pokud si daná laboratoř provede kontrolu svých vlastních hodnot přesnosti – precision (dříve přesnost) a vychýlení. Tento postup odhadu nejistoty byl navržen v publikaci Analytical Methods Committee of the Royal Society of Chemistry [Analytical Methods Committee 1995] a byl dokonce rozpracován v rámci ISO normy [ČSN P ISO/TS 21748 2005]. Hlavní problém jeho používání je nutnost zorganizovat mezilaboratorní studii, což se hodí jen pro široce používané metody.

K „top-down“ postupu jsou zařazovány i přístupy vycházející z vnitrolaboratorních validačních dat a dat získaných při kontrole kvality uvnitř laboratoře. Data lze zpracovávat v celkovou nejistotu více méně rutinním postupem a především bez potřeby sledovat pro danou metodu individuálně vytvořený úplný „účet chyb“. Standardní nejistota určená tímto postupem může odrážet jen ty zdroje, které byly podchyceny validační studií či které se plně prosadily jako náhodné efekty ve výsledcích získávaných při řízení jakosti. Pokud existují i významné faktory takto nepodchycené (např. vliv vzorkování nebo zpracování vzorku, vyšší heterogenita či variabilita matričních efektů reálných vzorků proti vzorkům použitým při validaci, náhodné efekty s dlouhou periodou působení), je třeba jejich nejistotní složky

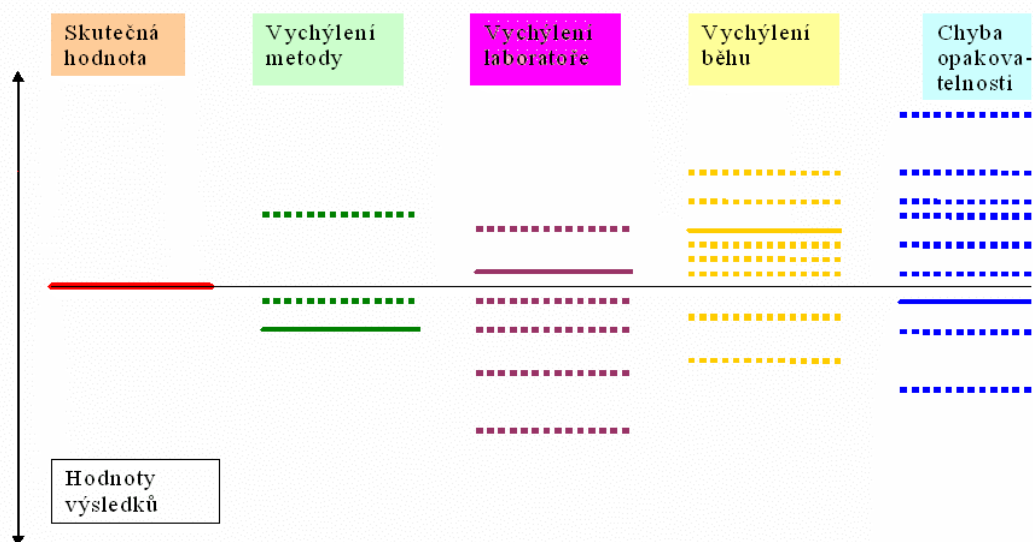
kvantifikovat a započíst do celkové standardní nejistoty. Tím se postup přibližuje metodě účtu chyb i s nežádoucí možností dvojitého započítávání určitého faktoru.

Postup „shora dolů“ vychází z rovnice uvedené v publikaci Analytical Methods Committee (1995), kterou lze přiblížit schématem nazývaným žebřík chyb (ladder of errors) na obr. 1 [Thompson 2000]. Z tohoto schématu můžeme nahlédnout relativnost pojmů „náhodná chyba“ a „systematická chyba“ ve smyslu GUM (1993).

Dle této rovnice platí:

$$\text{Výsledek} = \text{skutečná hodnota} + \text{vychýlení metody} + \text{vychýlení laboratoře} + \text{vychýlení běhu} + \text{chyba opakovatelnosti}$$

Uváděné typy chyb mohou být považovány za systematické či náhodné dle úhlu pohledu. Vychýlení analytické metody je systematická chyba pro metodu, např. při jejím mezilaboratorním vyhodnocování, ale při aplikaci více různých analytických metod na proměřování stejného vzorku se různá vychýlení metod chovají jako chyby náhodné. Obdobně vychýlení laboratoře při aplikaci dané metody je chyba systematická z hlediska dané laboratoře, ale náhodná z hlediska více laboratoří při mezilaboratorním testu. Vychýlení série (běhu) systematicky zatěžuje všechny výsledky naměřené v této sérii, stejně jako vychýlení laboratoře, ale při měření v různých sériích je to chyba náhodná. Chyby opakovatelnosti se jeví pouze jako náhodná. Při sledování těchto dílčích chyb jako chyb náhodných jim přisuzujeme určité rozdělení s odhadnutelnou SD a nulovou střední hodnotou. Této nulové střední hodnoty je dosaženo uvažováním existence předchozích (na vyšší úrovni) systematických chyb – různých vychýlení.



Obr. 1 Žebřík chyb - plná čára představuje konkrétní hodnotu daného typu chyby při daném měření (hodnota je neznámá), přerušované čáry naznačují další možné hodnoty z celého rozdělení chyb v případě opakování za podmínek, kdy se příslušný typ chyby může měnit.

Hodnoty SD náhodných chyb a hodnoty vychýlení a nejistot jejich určení (opět SD) lze odhadnout z výsledků vhodně volených měření prováděných v rámci validace nebo řízení jakosti. Celkovou nejistotu je možné pak určit sloučením standardní nejistoty (odhadů SD) všech náhodných efektů (určená jako komplexní nebo zkombinovaná z dílčích příspěvků) a

standardní nejistoty spojené s korekcí naměřených výsledků na poznané systematické chyby (korekce musí být provedena, pokud je statisticky významná). Podle vyhodnocované úrovně na žebříku chyb lze tedy určit obecnou nejistotu metody na základě několik schémat:

(i) Na základě výsledků mezilaboratorní studie měření CRM danou analytickou metodou je možné stanovit celkovou standardní nejistotu,  $u$ , z reprodukovatelnosti této analytické metody,  $u_{Rp}$ , a z nejistoty určení jejího celkového vychýlení:

$$u_{biasM} \quad u = \sqrt{u_{Rp}^2 + u_{biasM}^2} \quad (1)$$

Z žebříku chyb je patrné, že tento vzorec lze dále různě rozepsat, protože SD reprodukovatelnosti  $u_{Rp}$  lze zkombinovat různým způsobem z dílčích složek:

(ii) Standardní nejistotu  $u_{Rp}$  lze zkombinovat z opakovatelnosti,  $u_{op}$ , a SD vystihující mezilaboratorní proměnlivost celkového vychýlení vnášeného laboratořemi,  $u_L$  (představuje součet vychýlení laboratoře a dané série měření; odpovídající rozptyl je v ISO 5725-2:1994 nazýván mezilaboratorní rozptyl). Vzorec pro celkovou standardní nejistotu,  $u$ , má pak tvar:

$$u = \sqrt{u_{op}^2 + u_L^2 + u_{biasM}^2} \quad (2)$$

Vzorce 1 a 2 jsou uvedeny v ČSN P ISO/TS 21748 – 2005 pod čísly 3 a 2; obsahují navíc další možné přidružené složky nejistot.

Nejistotu  $u_{Rp}$  by bylo možno zkombinovat i jinak: z SD vystihující proměnlivost vychýlení laboratoří (bez vychýlení série) a z mezilehlé přesnosti nebo z SD vystihující proměnlivost vychýlení laboratoří, ze SD proměnlivosti vychýlení sérií měření v každé z laboratoří a z opakovatelnosti. Obě tyto varianty jsou zřejmě pouze teoretické.

Z výsledků validace metody v dané laboratoři lze určit celkovou standardní nejistotu  $u$  podle následujících vztahů:

(iv) Z mezilehlé přesnosti této analytické metody,  $u_{mp}$ , a z nejistoty určení jejího celkového vychýlení v dané laboratoři,  $u_{biasML}$ :

$$u = \sqrt{u_{mp}^2 + u_{biasML}^2} \quad (3)$$

(v) Je však možné nahradit mezilehlou přesnost kombinací opakovatelnosti  $u_{op}$  a nejistotou odrážející proměnlivost vychýlení sérií měření v dané laboratoři,  $u_{run}$ :

$$u = \sqrt{u_{op}^2 + u_{run}^2 + u_{biasML}^2} \quad (4)$$

(vi) Schéma žebříku chyb naznačuje ještě možnost, která je navržena v práci O'Donnell a Hibbert (2005), kdy je celková standardní nejistota určována pouze z opakovatelnosti a z nejistoty určení celkového vychýlení výsledků měřených v dané sérii měření,  $u_{biasMLR}$ . To odpovídá postupu, kdy naměřené výsledky jsou korigovány na výtěžnost určenou pro danou sérii, např. podle výtěžnosti dosažené u CRM současně měřeného s každou sérii vzorků:

$$u = \sqrt{u_{op}^2 + u_{biasMLR}^2} \quad (5)$$

Tento postup byl odmítnut v práci Kadis R. (2007), ten totiž chápe sledování vychýlení v dané sérii celkem oprávněně za vnitrolaboratorní kontrolu jakosti (IQC) a korekce měření na základě IQC je nepřípustná.

Poznámka: V uváděných vztazích není zdůrazněno případné zmenšení rozptylu opakováním měření, pokud je např. počítána opakovatelnost z výsledků individuálních měření, ale vzorek je rutinně měřen dvakrát.

V dokumentu Kvalimetrie 11 (2001) - EURACHEM (2000) jsou uvedeny praktické příklady pro oba základní přístupy k ISO nejistotám (bottom-up i top-down). V některých studiích jsou srovnávány nejistoty odhadnuté oběma přístupy [Hund et al. 2002; Pupulaire a Giménez 2006; Meyer 2007] a je ukázáno, že pokud jsou správně vedeny, dávají srovnatelné výsledky.

Ze srovnání základních přístupů k vyhodnocování nejistot vyplývá, že metoda „zdola nahoru“ je pracnější a časově náročnější. Je třeba myšlenkově rozebrat celý postup měření, uměle vyhodnotit variability jednotlivých efektů ať již vlastním měřením nebo z dat získaných z jiných zdrojů či odborným odhadem, provést řadu někde i složitějších výpočtů dílčích nejistot a celkové nejistoty, a výsledek nakonec platí pro jediný analyt a jedinou metodu. Nejistotu metody většinou určuje jeden nebo dva dominantní faktory, takže spolehlivost odhadu výsledné kombinované nejistoty závisí prakticky jen na spolehlivosti odhadu dílčích nejistot těchto dominantních faktorů a není určována nejistotami faktorů ostatních, i když byly pečlivě identifikovány, kvantifikovány a složitým postupem zkombinovány. Jako klad této metody se uvádí, že jasně identifikuje, které zdroje nejistot jsou dominantní, což umožňuje v případě snahy snížit nejistotu daného analytického stanovení zaměřit se správným směrem.

Výhodou metody „top-down“ je, že se nechá užívat rutinním způsobem a vychází vlastně jen z dat získaných při validaci metody a získávaných i v rámci řízení jakosti při jejím dalším používání v laboratoři a shromažďovaných v regulačních diagramech. Je-li třeba určit nejistoty měření pro všechny měřicí metody standardně používané v dané laboratoři, na širokou škálu analytů a matric vzorků, je zřejmě nezbytné přistupovat k tomuto úkolu rutinně. Metoda může vést k chybným, většinou podhodnocujícím odhadům nejistot, pokud sledovaný ukazatel variability (opakovatelnost, reprodukovatelnost, mezilehlá přesnost aj.) nepodchycuje všechny faktory, které se při analytickém postupu vyskytují. Rutinní přístup tedy neznamená, že se při jejím použití obejdeme bez znalostí a praktických zkušeností, jež se týkají jak dané analytické metody, tak vyhodnocování nejistot a statistiky. Lze se domnívat, že postupy určování nejistoty vycházející z pohledu „žebříku chyb“ se budou praktikovi z laboratoře jevit jako jednodušší a přijatelnější než postupy vycházející přísně z účtu chyb.

### *Příklady odhadu nejistot měření*

#### *Př. 1 Výpočet nejistoty z reprodukovatelnosti*

V této části je uveden příklad odhadu nejistoty měření z výsledků mezilaboratorní studie zabývající se určením reprodukovatelnosti a opakovatelnosti a pravdivosti normalizované metody měření realizované v souladu s normami ČSN ISO 5725-2:1994 a ČSN ISO 5725-4:1997. Výpočet je založen na rovnici 1 a je proveden v souladu s normou ČSN P ISO/TS 21748:2005

Jsou použita data uvedená ČSN ISO 5725-4:1997 str.17-19 (tab. B.1-B.5) ze studie zabývající se stanovením manganu v železné rudě metodou atomové absorpční spektrometrie (pouze pro referenční materiál s nejvyšší úrovní analytu) viz tab. 1.

Tab. 1 Data pro odhad nejistoty stanovení Mn v Fe rudě metodou AAS (ČSN ISO 5725-4:1997)

Přijatá referenční hodnota $\mu$ [%]	2,53
Nejistota referenční hodnoty	zanedbatelná
Počet laboratoří $p$	16
Počet opakování v laboratoři $n$	4
průměr všech výsledků $\bar{x}$ [%]	2,5249
SD reprodukovatelnosti $u_{Rp}$ [%]	0,03246
SD opakovatelnosti $u_{op}$ [%]	0,01815

Odhadneme vychýlení metody ( $b_M$ )

$$b_M = \bar{x} - \mu = 2,5249 - 2,53 = -0,005 \% \quad (6)$$

Dále určíme nejistotu odhadu tohoto vychýlení  $u_{biasM}$ . K tomu nejprve určíme z reprodukovatelnosti a opakovatelnosti SD vychýlení laboratoří  $u_L$  (používám název a symboliku z uvedené ČSN, i když dle žebříku chyb jde o SD vystihující proměnlivost vychýlení, která představují součet vychýlení laboratoře a dané série měření)

$$u_L = \sqrt{u_{Rp}^2 - u_{op}^2} = \sqrt{0,0325^2 - 0,0182^2} = 0,0269 \% \quad (7)$$

Ve výpočtu  $u_{biasM}$  je uvažováno, že vychýlení byla vypočtena jako průměr z  $n$  opakovaných výsledků naměřených v  $p$  laboratořích (rozptyl opakovatelnosti a rozptyl vystihující variabilitu vychýlení laboratoří se úměrně zmenšují); nejistoty hodnoty  $\mu$  je zanedbatelná

$$u_{biasM} = \sqrt{\frac{u_L^2}{p} + \frac{u_{op}^2}{p \cdot n}} = \sqrt{\frac{0,0269^2}{16} + \frac{0,182^2}{16 \cdot 4}} = 0,0071 \% \quad (8)$$

Dále otestujeme významnost vychýlení vzhledem k nejistotě tohoto odhadu

$$t = b_M / u_{biasM} = -0,005 / 0,0071 = -0,70 \quad (9)$$

Protože absolutní hodnota  $t$  je menší než obvykle uvažovaná kritická hodnota 2 (při větším počtu výchozích výsledků používáme pro zjednodušení výpočtů tuto hodnotu – odpovídá i postupu v ČSN P ISO/TS 21748:2005), vychýlení není významné a výsledky měřené touto metodou není třeba korigovat. (Kritická hodnota  $t = 2$  je každopádně dostačující v prvním přiblížení, a až teprve pokud by hodnota  $t$  vyšla jen o něco vyšší než dva, má smysl hledat kritickou hodnotu přesně jako kvantil rozdělení  $t$ , k čemuž je třeba odhadnout efektivní počet stupňů volnosti [GUM 1993].

Nyní můžeme vypočítat odhad standardní nejistoty dané metody dle vzorce 1.

$$u = \sqrt{u_{Rp}^2 + u_{biasM}^2} = \sqrt{0,0325^2 + 0,0071^2} = 0,0333 \% \quad (10)$$

Nakonec vypočteme rozšířenou nejistotu pro sledovanou úroveň manganu

$$U = k \cdot u = 2 \cdot 0,033 = 0,066 \% \quad (11)$$

Pro většinu praktických účelů, kdy požadujeme přibližně úroveň spolehlivosti 95 % a pokud počet stupňů volnosti dominantní nejistoty je větší než 10, volíme koeficient rozšíření  $k = 2$ .

Nejistota byla určena z výsledků mezilaboratorní studie pro sledovanou normalizovanou metodu stanovení. Laboratoř, která tuto metodu používá a chce přejmout tuto hodnotu nejistoty, musí svou samostatnou studií správnosti prokázat, že její výsledky nejsou vychýlené. Testuje se významnost odhadu vychýlení vzhledem k SD kombinované z SD mezilaboratorních vychýlení sL a individuální opakovatelnosti dané laboratoře. Dále musí porovnat svoji opakovatelnost s opakovatelností, která byla započtena do odhadu nejistoty. V případě, že laboratoř má signifikantně větší opakovatelnost, musí buď vylepšit svoje postupy, aby opakovatelnost snížila, a nebo musí přepočítat nejistotu se svojí opakovatelností. To ovšem může udělat i v případě naopak významně nižší vlastní opakovatelnosti. Vychýlení i opakovatelnost pak musí být sledovány v rámci řízení jakosti.

Je třeba zdůraznit, že nejistota byla určena z reprodukovatelnosti stanovené na referenčním materiálu. Ten, kdo její hodnotu přejímá, musí uvážit, zda při měření reálného vzorku se nevyskytují další zdroje nejistot nepozorované při studii, jejichž efekt není zanedbatelný, a případně doplnit potřebné složky nejistoty do kombinované standardní nejistoty. Vztahy uvedené v ČSN P ISO/TS 21748:2005 s tím počítají.

## ***Př. 2 Výpočet nejistoty z mezilehlé přesnosti***

Postup dle vzorce 3, kdy nejistota je kombinována z mezilehlé přesnosti a z nejistoty vychýlení použité metody v dané laboratoři. Vychýlení bylo rovněž určeno za podmínek mezilehlé přesnosti. Tímto způsobem lze odhadnout nejistotu z dat získaných např. dlouhodobým sledováním výsledků měření CRM v rámci vnitrolaboratorního řízení jakosti. V příkladu bude určena nejistota stanovení Cd ve vodách metodou atomové absorpční spektrometrie na grafitové kyvetě z dat naměřených v KHS v Ústí nad Labem, která byla získána při měření kadmia v CRM 1643d Trace Elements in Water.

*Tab. 2 Výsledky měření Cd v CRM 1643d Trace Elements in Water metodou GF AAS; výsledky byly naměřeny za podmínek mezilehlé přesnosti (KHS Ústí nad Labem)*

Certifikovaná referenční hodnota $\mu$ [ng/ml]	6,47
Nejistota referenční hodnoty $U_{ref}$ [ng/ml]	0,37
Počet naměřených hodnot $n$	18
průměr výsledků $\bar{x}$ [ng/ml]	6,105
SD výsledků (mezilehlá přesnost) $u_{mp}$ [ng/ml]	0,139

Určíme vychýlení metody v laboratoři  $b_{ML}$

$$b_{ML} = \bar{x} - \mu = 6,105 - 6,47 = -0,365 \text{ ng/ml} \quad (12)$$

Dále odhadneme nejistotu tohoto vychýlení. K tomu je třeba vypočítat standardní nejistotu certifikované hodnoty,  $u_{ref}$ , kterou určíme z rozšířené nejistoty (byla stanovena se statistickou jistotou 95 %)

$$u_{ref} = U_{ref}/2 = 0,37/2 = 0,185 \text{ ng/ml} \quad (13)$$

a dále ještě SD průměru  $\bar{x}$ , označeno  $u_{\bar{x}}$ ,

$$u_{\bar{x}} = u_{mp} / \sqrt{n} = 0,139 / \sqrt{18} = 0,0328 \text{ ng/ml} \quad (14)$$

Z těchto hodnot zkombinujeme nejistotu vychýlení,  $u_{biasML}$ ,

$$u_{biasML} = \sqrt{u_{\bar{x}}^2 + u_{ref}^2} = \sqrt{0,0328^2 + 0,185^2} = 0,188 \text{ ng/ml} \quad (15)$$

Dalším krokem je prověření statistické významnosti vychýlení

$$t = \frac{|b_{ML}|}{u_{biasML}} = \frac{0,365}{0,188} = 1,94 \quad (16)$$

Hodnota  $t$ -testu je nižší než kritická hodnota, tj. 2, takže vychýlení není považováno za statisticky významné a není třeba jím korigovat naměřené výsledky (znovu připomínáme, že nejistotu vychýlení je třeba započítat, pokud jeho hodnota sama není zanedbatelná vedle další kombinované nejistoty, a to bez ohledu na to, zda vychýlení je určeno jako statisticky významné a výsledky pak mají být korigovány na toto vychýlení, a nebo jako nevýznamné a výsledky měření pak není třeba korigovat).

Nyní můžeme dle rovnice 3 odhadnout standardní kombinovanou nejistotu

$$u = \sqrt{u_{mp}^2 + u_{biasML}^2} = \sqrt{0,139^2 + 0,188^2} = 0,233 \text{ ng/ml} \quad (17)$$

rozšířená nejistota pro pokrytí 95 %

$$U = 2 \cdot 0,233 = 0,47 \text{ ng/ml} \quad (18)$$

Tato nejistota platí pro měřenou koncentrační úroveň (6,1 ng/ml). tzn. že relativní rozšířená nejistota v určitém koncentračním rozmezí kolem této hodnoty je 7,6 %.

### **Př. 3 Výpočet nejistoty z nejistoty vychýlení sérií měření a opakovatelnosti**

Výpočet dle vzorce 4 odpovídá tomu, že nejistota je kombinována z opakovatelnosti, z nejistoty mezi sériemi měření a z nejistoty vychýlení metody v dané laboratoři. Jako příklad bude uveden výpočet nejistoty opět pro měření Cd ve vodách metodou GF AAS z dat naměřených v KHS v Ústí nad Labem.

**SD opakovatelnosti** bude určena z dvojic paralelních výsledků, které byly sledovány v rámci řízení jakosti při měření vzorků vod. Tyto výsledky se snadno v laboratoři nashromáždí ve vyšším počtu. Z rozdílu dvojic paralelních výsledků lze odhadnout pouze opakovatelnost, přestože různé dvojice byly získány v různých sériích měření, protože rozdíly dvojic výsledků byly získány za podmínek opakovatelnosti. (Je to ovšem opakovatelnost „průměrovaná“ přes různé varianty vzorků téže matrice a případně přes proměnlivosti dalších vlivů; zůstává však stále opakovatelností obdobně jako je tomu u průměrné opakovatelnosti určene pro všechny laboratoře z mezilaboratorní studie.)

SD opakovatelnosti lze z duplicitních výsledků vypočítat dle vzorce (např. Eckschlager 1994 ; IUPAC 1998)



$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}} \quad (19)$$

kde  $s$  je SD opakovatelnosti,  $n$  je počet dvojic duplicitních výsledků,  $x_{i1}$  a  $x_{i2}$  jsou první a druhý výsledek  $i$ -té dvojice. Je důležité upozornit, že počet stupňů volnosti, s nimiž je SD určena, je  $n$ .

Protože SD je závislá na koncentrační úrovni, lze tento vztah snadno a smysluplně využít v případě, kdy duplicitní data byla naměřena jen v úzkém koncentračním rozmezí určité koncentrační úrovně, v němž lze předpokládat konstantní hodnotu SD. Při měření mnohých typů vzorků (např. environmentálních) se však koncentrace sledovaných analytů naopak mění obvykle v rozmezích širokých. V takovém případě se často předpokládá, že SD je přímo úměrná koncentraci a že poměr SD ku měřené koncentraci, tj. RSD, je konstantní (např. Kvalimetrie 11 2001 - EURACHEM 2000), a vzorec je aplikován na součet relativních rozdílů duplicitních koncentrací (tj. rozdíl koncentrací dělený průměrem koncentrací)

$$\frac{2(x_{i1} - x_{i2})}{x_{i1} + x_{i2}} \quad (20)$$

Za předpokladu konstantní hodnoty RSD ovšem vychází, že při velmi nízkých koncentracích blížících se nule by měla být SD nulová, což není reálné. Výpočet s konstantní RSD bývá tedy použitelný pro velká koncentrační rozmezí dostatečně vzdálená od mezí detekce.

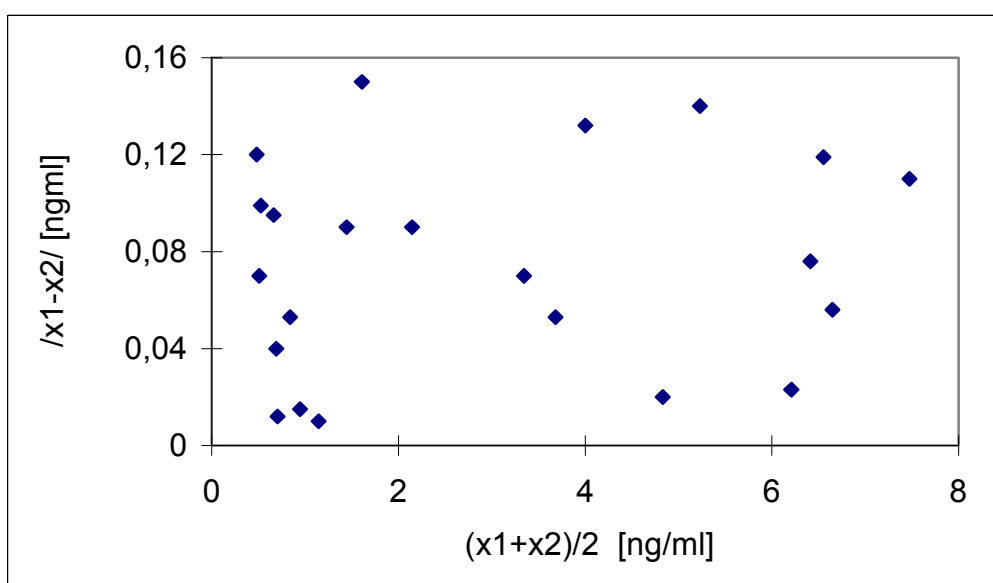
Tab. 3 Výsledky paralelních dvojic výsledků měření Cd ve vodách metodou GF AAS (KHS Ústí nad Labem)

č. měření	[ng/ml]				č. měření	[ng/ml]			
	$x_1$	$x_2$	$\bar{x}$	$/x_1 - x_2/$		$x_1$	$x_2$	$\bar{x}$	$/x_1 - x_2/$
1	0,54	0,42	0,48	0,12	12	2,19	2,1	2,145	0,09
2	0,543	0,473	0,508	0,07	13	3,38	3,31	3,345	0,07
3	0,572	0,473	0,5225	0,099	14	3,706	3,653	3,6795	0,053
4	0,708	0,613	0,6605	0,095	15	4,069	3,937	4,003	0,132
5	0,71	0,67	0,69	0,04	16	4,84	4,82	4,83	0,02
6	0,698	0,71	0,704	0,012	17	5,3	5,16	5,23	0,14
7	0,81	0,863	0,8365	0,053	18	6,197	6,22	6,2085	0,023
8	0,937	0,952	0,9445	0,015	19	6,374	6,45	6,412	0,076
9	1,15	1,14	1,145	0,01	20	6,493	6,612	6,5525	0,119
10	1,49	1,4	1,445	0,09	21	6,622	6,678	6,65	0,056
11	1,68	1,53	1,605	0,15	22	7,53	7,42	7,475	0,11

Výsledky vybrané pro rozmezí koncentrací 0,5 až 8 ng/ml jsou uvedeny v tabulce 3 (pro statistický výpočet není dobré výsledky příliš zaokrouhlovat; více neplatných míst výsledek nezkruslí, kdežto přílišné zaokrouhlení ano). Hodnoty  $|x_1 - x_2|$  jsou vyneseny v závislosti na  $\bar{x}$  v grafu na obr. 2. Na grafu je vidět, že na uvedeném rozmezí koncentrací je oprávněný předpoklad konstantní SD.

Výpočet opakovatelnosti  $u_{op}$  za předpokladu konstantní SD v rozmezí koncentrací 0,5 až 8 ng/ml

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}} = \sqrt{\frac{0,1625}{22}} = 0,0608 \text{ ng/ml} \quad (21)$$



Obr. 2 Absolutní hodnoty rozdílů paralelních dvojic vs. jejich průměr; v daném koncentračním rozmezí se rozptyl nemění (např. není prokázána korelace; hodnota P testu významnosti  $r$  je 0,515)

**Nejistota vychýlení sérií měření** (SD proměnlivosti vychýlení sérií – běhů) bude odhadnuta z měření kontrolního standardu, který byl měřen na počátku každé série po kalibraci. Výsledky sice byly získány vlastně za podmínek mezilehlé přesnosti, ale standardní roztok je bez reálné matrice, takže jako mezilehlá přesnost je zřejmě podhodnocená a předpokládáme, že odráží především proměnlivosti v kalibrační křivce u každé série. Jako kontrolní standard byl měřen standard s koncentrací 4 ng/ml připravený z roztoku Astasol Mix M 006. Výsledky byly vyhodnocovány relativně jako % dosažené výtěžnosti viz tab. 4.

Tab. 4 Výsledky kontrol kalibrační křivky při měření Cd ve vodách metodou GF AAS (KHS Ústí nad Labem)

Koncentrace kontrolního standardu [ng/ml]	4
Počet naměřených hodnot	41
Průměrná výtěžnost [%]	99,04
SD výtěžnosti [%]	2,36
RSD výtěžnosti (2,36 / 99,04) [%]	2,39

RSD výtěžnosti bude použita jako odhad relativní standardní nejistoty sérií měření

$$u_{r\ run} = 2,39 \%$$

Tuto hodnotu relativně vyjádřené nejistoty předpokládáme za konstantní v širším rozmezí koncentrací např. od 1 do 8 ng/ml.

**Pravdivost metody** bude hodnocena na základě výtěžnosti dosažené při měření CRM s matricí 1643d Trace Elements in Water, jež byla použita v příklad 2 (nebudou použita data naměřená při kontrole kalibrační křivky z tab. 4, protože zkoušený roztok neměl reálnou matici). Na CRM s certifikovanou koncentrací 6,47 ng/ml nalezena průměrná koncentrace 6,105 ng/ml; vychýlení -0,365 ng/ml nebylo nalezeno významné s nejistotou 0,188 ng/ml

Relativní nejistota vychýlení  $u_{r\ biasML} = u_{biasML} / \bar{x} = 0,188/6,105 = 0,0308 \%$

Budeme předpokládat, že tato hodnota je použitelná opět v koncentračním rozmezí 1 až 8 ng/ml.

**Relativní kombinovanou standardní nejistotu** můžeme nyní odhadnout dle rovnice 4 jako funkci koncentrace, např. pro koncentrační úroveň 4 ng/ml

$$u_r = \sqrt{u_{r\ op}^2 + u_{r\ run}^2 + u_{r\ biasML}^2} = \sqrt{\frac{0,0608^2}{4^2} + 0,0239^2 + 0,0308^2} = 0,0418, \text{ tj. } 4,18 \% \text{ rel. (22)}$$

**Rozšířenou nejistotu** pak dostaneme vynásobením koeficientem rozšíření  $k=2$ . Její hodnoty jsou uvedeny v závislosti na koncentraci v tab. 5. Nejistota pro úroveň 6 ng/ml se celkem shoduje s výsledkem v př. 2.

Tab. 5 Relativní rozšířená nejistota měření Cd ve vodách metodou GF AAS (KHS Ústí nad Labem)

$c$ [ng/ml]	$U_{rel}$ [%]	$c$ [ng/ml]	$U_{rel}$ [%]
1	14,4	5	8,2
2	9,9	6	8,0
3	8,8	7	8,0
4	8,4	8	7,9

**Př. 4 Výpočet nejistoty z nejistoty vychýlení sérií měření, opakovatelnosti měření vzorku a nejistoty slepého pokusu**

Jako příklad bude uveden výpočet nejistoty pro měření Pb v krvi metodou GF AAS z dat naměřených v KHS v Ústí nad Labem v roce 1999. Výpočet opět povedeme podle vzorce 4, ale při tomto stanovení, zvláště při obsazích blízkých mezi stanovitelnosti, hraje významnou roli i nejistota určení slepého pokusu.

**Opakovatelnost měření** vzorků bude určena z dvojic paralelních výsledků (paralelní rozklady a měření na AAS ve stejné sérii měření), které byly sledovány v rámci řízení jakosti při měření vzorků. V tomto případě byla předpokládána konstantní opakovatelnost vyjádřená jako RSD ( $u_{r\ op}$ ) počítaná dle kombinace rovnic 19 a 20

$$u_{r\ op} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left[ \frac{2(x_{i1} - x_{i2})}{x_{i1} + x_{i2}} \right]^2}{2n}} \quad (23)$$

V tab. 6 jsou shrnuty výsledky zpracování. Byly sledovány 4 skupiny vzorků. Pro každou byly zvláště určeny opakovatelnosti jako RSD a z nich společná  $u_{r\ op}$  (vážený kvadratický průměr); dále jsou uvedeny charakteristiky měřených souborů: počet paralelních dvojic, z nich určený celkový průměr koncentrací Pb, SD těchto koncentrací, nalezená minimální a maximální hodnota. Data ukazují, že rozdělení výsledků ve skupinách jsou obdobná.

Tab. 6 Opakovatelnost stanovení Pb v krvi metodou GF AAS (KHS Ústí nad Labem)

Počet	Opakovatelnost jako RSD	Průměrná hodnota ng/ml	SD výsledků ng/ml	Min. výsledek ng/ml	Max. výsledek ng/ml
17	0,04239	39,98	10,10	25,95	68,05
19	0,05882	34,10	10,91	19,50	57,10
13	0,04653	33,57	9,30	19,50	55,75
20	0,04296	38,36	12,80	20,25	48,65

Vážený kvadratický průměr (vahou je počet stupňů volnosti)

$$u_{r\ op} = \sqrt{(16 \cdot 0,04239^2 + 18 \cdot 0,05882^2 + 12 \cdot 0,04653^2 + 19 \cdot 0,04296^2) / (16 + 18 + 12 + 19)}$$

$$= 0,04837 = 4,84\% \quad (24)$$

**Nejistota slepých pokusů** byla určena z celkem 50 slepých pokusů nalezených v průběhu měření všech vzorků (rozklady v různých sériích a měření několika slepých pokusů v jedné sérii na AAS). Podmínky měření lze považovat za podmínky mezilehlé přesnosti (vlastní měření na AAS míchá podmínky opakovatelnosti a mezilehlé přesnosti, ale to v této části měření zřejmě nebude způsobovat velký rozdíl). Nalezený průměr byl 1,14 ng/ml (vyjádřeno pro vzorek krve) a výsledná SD slepých pokusů

$$u_{bl} = 1,071 \text{ ng/ml}$$

**RSD výsledků měření kontrolního standardu prováděných** v každé sérii na AAS na koncentrační úrovni 40 ng/ml v krvi. Celkem bylo naměřeno 20 kontrolních výsledků v průběhu měření všech vzorků, průměrná výtěžnost byla 101,1 %. Obdobně jako u př. 3 tuto RSD považujeme za **relativní nejistota vychýlení sérií měření** (bohužel týká se pouze vlastního měření na AAS, nezahrnuje efekty při rozkladu)

$$u_{r \text{ run}} = 1,59 \%$$

**Pravdivost metody** bude hodnocena na základě výtěžnosti na přidavky ke krvím před rozkladem. Výsledky naměřené za podmínek mezilehlé přesnosti jsou uvedeny v tab. 7; jsou vyjádřeny pro vzorek krve. Nejistota vlastní přípravy přidavků se odráží v naměřených výsledcích, ale navíc byla uvažována i nejistota standardu, ze kterého byl přidavek do krve přímo připravován (nehraje významnou roli).

Tab. 7 Výtěžnost na přidavky při měření Pb v krvi metodou GF AAS; výsledky byly naměřeny za podmínek mezilehlé přesnosti (KHS Ústí nad Labem)

Přídavek $\mu$ [ng/ml]	25,0
Relativní nejistota standardního roztoku $u_{sr}$	0,65 %
Počet naměřených hodnot $n$	17
průměrná výtěžnost $\bar{r}$	96,2 %
SD výtěžností (mezilehlá přesnost) $s_r$	5,33 %

Určíme relativní vychýlení (odchylka výtěžnosti od 100 %) metody v laboratoři  $b_{r \text{ ML}}$

$$b_{r \text{ ML}} = 96,2 - 100 = -3,8 \% \quad (25)$$

Dále odhadneme relativní nejistotu tohoto vychýlení,  $u_{r \text{ biasML}}$ , kombinací SD průměrné výtěžnosti

$$u_{\bar{r}} = s_r / \sqrt{n} = 5,33 / \sqrt{17} = 1,29 \% \quad (26)$$

a relativní nejistoty standardního roztoku na přípravu

$$u_{r \text{ biasML}} = \sqrt{u_{\bar{r}}^2 + u_{sr}^2} = \sqrt{1,29^2 + 0,65^2} = 1,49 \% \quad (27)$$

Detailní připočtení  $u_{sr}$  bylo zbytečné, protože je relativně malá - 3x menší než relativní opakovatelnost.

Dalším krokem je prověření statistické významnosti vychýlení

$$t = \frac{|b_{r \text{ ML}}|}{u_{r \text{ biasML}}} = \frac{3,8}{1,49} = 2,57 \quad (28)$$

Hodnota  $t$  je větší než 2, metoda je identifikována jako vychýlená, dává výsledky nižší o 3,8 % relativních.

**Relativní kombinovanou standardní nejistotu** můžeme nyní odhadnout dle rovnice 4 opět jako funkci koncentrace,  $x$ . Do vzorce upraveného pro sčítání relativně vyjádřených rozptylů (kvadráty relativních nejistot, viz rov. 22) je však třeba vložit i nejistotu stanovení slepých pokusů. Uvažujeme, že nalezené koncentrace jsou korigovány odečtením hodnoty slepého pokusu, tzn. že rozptyly obou veličin se sčítají jako absolutní, první však známe jako absolutní za podmínek mezilehlé přesnosti a druhou jako relativní za podmínek opakovatelnosti. Zanedbáme-li změnu hodnoty koncentrace korekcí na slepý pokus (předpokládejme koncentraci v krvi o řád vyšší než je hodnota slepého pokusu – cca 10 ng/ml), dostaneme tento přibližný vzorec

$$u_r = \sqrt{\frac{u_{bl}^2}{x^2} + u_{r\ op}^2 + u_{r\ run}^2 + u_{r\ biasML}^2} = \sqrt{\frac{1,071^2}{x^2} + 0,0484^2 + 0,0159^2 + 0,0149^2} \quad (29)$$

**Relativní rozšířenou nejistotu** pak dostaneme vynásobením  $u_r$  koeficientem rozšíření  $k=2$ . Její hodnoty jsou uvedeny v závislosti na koncentraci v tab. 8.

Tab. 8 Relativní rozšířená nejistota měření Pb v krvi metodou GF AAS (KHS Ústí nad Labem)

$c$ [ng/ml]	$U_{rel}$ [%]	$c$ [ng/ml]	$U_{rel}$ [%]
10	23,9%	40	11,9%
15	17,8%	50	11,4%
20	15,1%	60	11,2%
30	12,8%	70	11,0%

Nejistota pro koncentraci Pb kolem 10 ng/ml je určována nejistotou slepého pokusu (relativní standardní nejistota této složky je 10,7 %, tzn. že jsme na úrovni meze stanovitelnosti).

Celkem velmi podobné výsledky jako v tab. 8 bychom dostali, pokud bychom použili SD výtěžnosti  $s_r$  (5,33 %) jako relativní mezilehlou přesnost, viz rov. 3 (dosadili její čtverec do rov. 29 místo čtverců  $u_{r\ op}$  a  $u_{r\ run}$ , jimž odpovídá relativní kombinovaná nejistota 5,09 %)

$$u = \sqrt{\frac{u_{bl}^2}{x^2} + u_{r\ mp}^2 + u_{r\ biasML}^2} = \sqrt{\frac{1,071^2}{x^2} + 0,0533^2 + 0,0149^2} \quad (30)$$

Určitým problémem celého tohoto případu je, jak se máme vypořádat s významným vychýlením metody 3,8 % (pře počítávání každého výsledku není příliš praktické a asi ani rozumné). Existují pokusy, jak tuto položku zahrnout do nejistoty, což ovšem není v souladu s GUM (1993).

#### Poznámka k terminologii

V této práci používáme tyto české ekvivalenty anglických termínů: mezilehlá přesnost - intermediate precision, opakovatelnost - repeatability, přesnost - precision (dříve přesnost), reprodukovatelnost - reproducibility, pravdivost - trueness (dříve správnost).

## Literatura

Analytical Methods Committee (1995) Uncertainty of measurement. Implications of its use in analytical science. *Analyst*. 120, 2303-2308.

ČSN ISO 5725-2 (1996) *Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření - Část 2: Základní metoda pro stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti normalizované metody měření*. (01 0251). Praha: Český normalizační institut. 50 s.

ČSN ISO 5725-4 (1997) *Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření - Část 4: Základní metody pro stanovení správnosti normalizované metody měření* (01 0251). Praha: Český normalizační institut. 29 s.

ČSN P ISO/TS 21748 (2005) *Návod pro použití odhadů opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a správnosti při odhadování nejistoty měření* (01 0290). Praha: Český normalizační institut. 33 s.

Eckeschlager. K. (1994) *Chemometrie I*. Praha: Univerzita Karlova. 82 s. ISBN 80-7066-487-8.

*EURACHEM/CITAC Guide (2007 A) Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches*. Ramsey M.H. a Ellison S.L.R. (eds.), EURACHEM /EUROLAB/CITAC/Nordtest/UK RSC Analytical Method Committee. 102 s. ISBN 978-0-948926-26-6.

*EURACHEM/CITAC Guide (2007 B) Use of uncertainty information in compliance assessment*. Ellison S.L.R. a Williams A.(eds.), EURACHEM/CITAC. 15 s. Dostupné <[http://www.eurachem.org/guides/Interpretation\\_with\\_expanded%20uncertainty\\_2007\\_v1.pdf](http://www.eurachem.org/guides/Interpretation_with_expanded%20uncertainty_2007_v1.pdf)>

Gonzales A.G., Herrador M.A., Asuero A.G. (2005) Uncertainty evaluation from Monte-Carlo simulations by using Crystal-Ball software. *Accred. Qual. Assur.* 10,149-154.

GUM (1993) *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*. Geneva: ISO. 101 s.

Hund E., Luc Massart D., Smeyers-Verbeke J. (2001) Operational definitions of uncertainty. *Trends in analytical Chemistry*. 8, 394-406.

Hund E., Luc Massart D., Smeyers-Verbeke J. (2002) Comparison of different approaches to estimate the uncertainty of a liquid chromatographic assay. *Analytica Chimica acta*. 480, 39-52.

IUPAC (1998) Compendium of analytical nomenclature - Definitive Rules 1997. "The Orange Book", 3<sup>rd</sup> edn. ch. 2.3. dostupné z <[http://www.iupac.org/publications/analytical\\_compendium/](http://www.iupac.org/publications/analytical_compendium/)>

JCGM (2006) *Evaluation of measurement data. Supplement 1 to "Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement"*. Propagation of distributions using a Monte Carlo method. Joint committee for Guides in Metrology. konečný návrh, september 2006. 60 s.

Kadis R. (2007) Do we really need to account for run bias when producing analytical results with stated uncertainty? Comment on 'Treatment of bias in estimating measurement uncertainty' by G.E.O'Donnell and D.B.Hibbert. *Analyst*. 132, 1272-1274.

Kragten J. (1994) Calculating standard deviation and confidence interval with a universally applicable spreadsheet technique. *Analyst*. 119, 2164-2165.

Kvalimetrie 6 (1996) - EURACHEM (1995) *Kvalimetrie 6. Stanovení nejistoty analytického měření*. Praha: EURACHEM-ČR, 1996, 95 s. ISBN 80-901868-1-5 (Překlad EURACHEM. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. 1. vyd. Teddington: Laboratory of the government chemist, 1995. ISBN 0-948926-08-2.

Kvalimetrie 11 (2001) - EURACHEM (2000) *Kvalimetrie 11. Stanovení nejistoty analytického měření*. Praha: EURACHEM-ČR, 2001, 129 s. ISBN 80-901868-9-0 (Překlad *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement: EURACHEM/CITAC Guide 4*. 2. vyd. 2000.)

Meyer V.R. (2007) Measurement uncertainty. *Journal of chromatography A*. 1158, 15-24.

O'Donnell G.E., Hibbert D.B. (2005) Treatment of bias in estimating measurement uncertainty. *Analyst*. 130, 721-729.

Pupulaire S. a Giménez E.C. (2006) A simplified approach to the estimation of analytical measurement uncertainty. *Accred. Qual. Assur.* 10, 485-493.

Thompson M. (2000) Towards a unified model of errors in analytical measurement. *Analyst*. 125, 2020-2025.

Valcárel M. a Ríos A. (1999) Reliability of analytical information in the XXIst century. *Anal. Chim. Acta*. 400, 425-432.



Vydal: **Spektroskopická společnost Jana Marka Marci**  
se sídlem: Thákurova 7, 166 29 Praha 6

Brno 2009

**ISBN 978-80-903732-8-0**